

審査の結果の要旨

氏名 江頭 由里子

本論文は、カイコバキュロウイルス発現系を用いて抗体を産生するための基礎検討および、抗体の安定性および機能に大きな影響を与えることが知られる抗体の糖鎖構造に着目して、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の医薬品適用の可能性評価を目指したものであり、全4章から構成されている。

第1章は序論であり、抗体の糖鎖修飾、カイコバキュロウイルス発現系および抗体医薬品の品質評価に関する知見をまとめ、本研究の背景と目的を述べている。

第2章では、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の糖鎖構造を動物型に改変するための基礎検討として、まず、カイコバキュロウイルス発現系を用いた抗体発現の至適化検討を行い、高発現の抗体発現ウイルスの取得を目指した。そして、得られた抗体発現ウイルスと糖転移酵素発現ウイルスをカイコに共感染させることにより糖鎖改変抗体の作製を行い、糖鎖修飾パターン、熱安定性および凝集性の評価を行った。可変部の異なる2種類の抗サイトカイン抗体の糖鎖修飾パターンを解析した結果、2種類の抗体とも、糖鎖改変抗体では動物型として知られるNアセチルグルコサミン結合型の糖鎖が検出され、糖転移酵素の共感染により、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の糖鎖改変が可能であることが示された。しかしながら、糖鎖改変効率は2種類の抗体間で20%以上も異なっており、糖鎖改変効率を向上するための検討が必要であると考えられた。抗体の熱安定性を示差走査蛍光測定により評価した結果、2種類の抗体とも、糖鎖改変抗体の変性温度 (T_m 値) が糖鎖改変を行っていないカイコバキュロウイルス発現系由来抗体よりも上昇しており、糖鎖改変によって増加したNアセチルグルコサミン結合型糖鎖の割合とCH2ドメインの T_m 値に相関が見られた。また、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の凝集性を評価した結果、対照であるCHO細胞発現系由来抗体と同様の凝集プロファイルが得られたことから、昆虫特有の少マンノース型糖鎖を持つ抗体はNアセチルグルコサミン結合型糖鎖を持つ抗体と酸による凝集性が同等であることが示唆された。

第3章では、前章において2種類の抗体クローンの糖鎖改変効率に大きな差

が見られたことから、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の糖鎖改変効率を向上させるための検討を行うとともに、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を評価するために、抗原および抗原発現細胞が入手可能である抗 HER2 抗体（トラスツズマブ）をモデル抗体に用い、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の安定性や機能について詳細な評価を行った。2 種類の抗サイトカイン抗体の重鎖の発現プロモーターが異なっていたことに着目し、抗 HER2 抗体では重鎖が E-vp39 プロモーターあるいはポリヘドリンプロモーターである 2 種類の糖鎖改変抗体を作製し、その糖鎖改変効率の比較を行った。前章での結果と同様に、重鎖のプロモーターに発現時期の遅いポリヘドリンプロモーターを用いることで、発現時期の早い E-vp39 プロモーターを用いるよりも糖鎖改変効率が 20%以上高いという結果となり、抗体の発現時期が糖鎖改変効率に大きな影響を与えることが示唆された。また、N アセチルグルコサミン結合型糖鎖の割合が増加するとフコースの付加している糖鎖の割合が減少する傾向が見られ、カイコバキュロウイルス発現系由来糖鎖改変抗体の ADCC 活性は CHO 細胞由来抗体よりも高いことが明らかになった。

第 4 章では、以上を総括し、今後の課題について述べている。カイコバキュロウイルス発現系を用いた糖鎖改変技術は進展しているが、今まで糖鎖改変体の物性についてはほとんど解析がなされていなかった。今回、カイコバキュロウイルス発現系由来抗体の物性解析を行い、カイコバキュロウイルス発現系を用いて産生した抗体の糖鎖構造を動物型に近づけることにより、その安定性を CHO 細胞由来抗体とほぼ同等にできる可能性が示せた一方で、抗体クローンによっては、CHO 細胞由来抗体との物性の違いが糖鎖構造以外の影響を受けること可能性が高く、糖鎖修飾以外に安定性に影響を与える因子を明らかにあることが必要であることが示唆された。これらの成果は、カイコバキュロウイルス発現系の医薬品用抗体の産生系としての実用化に大きく貢献することが期待される。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。