

【目的】抗体は特異的な抗原と結合し、さまざまな免疫応答反応を発現するが、このような抗体の機能を利用し、近年、抗体治療が盛んに行われている。一方、IgGはFc領域にN型糖鎖結合部位を一箇所持ち、多様な糖鎖構造が形成される。その中でも末端シアル酸が抗体機能を調節することがわかってきた。我々は、関節リウマチ(RA)において、シアル酸が欠損した抗原特異的抗体は細胞傷害能や炎症誘導能の亢進により癌細胞などへのより効果的な抑制作用が誘導され、逆にシアル酸が付加した抗体では、自己免疫疾患における抗炎症反応を誘導されることを示唆する結果を報告した。しかし、現在、抗体治療に用いられている抗体は糖鎖構造を厳密に制御できていない。そこで、本研究では抗原特異的IgG上の糖鎖(主にシアル酸)構造を正確にリモデリングする技術を開発し、さらに、この技術を使って、RAの自己抗体あるいは癌抗原に対する抗体の抗体薬としての効果を検討する。

【方法】マウス、ラットまたはヒト *ST6GalI* 遺伝子、*B4GalT1* 遺伝子の発現ベクター、さらには、*sialidase* 遺伝子発現ベクターを作製し、マウスハイブリドーマ、ラットハイブリドーマまたはヒトミエローマ細胞にレトロウイルスを用いて遺伝子導入した。それぞれの遺伝子の発現を、*GFP* 遺伝子と *Ds-Red* 遺伝子の蛍光強度で確認し、高発現細胞をセルソーターにて sorting し、蛍光遺伝子発現細胞数が95%以上の細胞を得た。これらの細胞から精製したIgGの糖鎖構造を lectin blot にて検討した。

【結果】ラットハイブリドーマ細胞へ遺伝子導入して得られたIgGでは、部分的にはシアル酸まで伸長できるが、GlcNAc または Gal までしか伸長していない糖鎖構造のIgGが多く生成された。また、ヒトミエローマ細胞へ遺伝子導入して得られたIgGでは、GlcNAc または Gal までしか伸長していない糖鎖構造のIgGが、より顕著に生成された。それぞれの species に合わせて、rat または human *ST6GalI* 遺伝子と rat または human *B4GalT1* 遺伝子を導入し、導入細胞から産生されるIgGの糖鎖構造を検討した。その結果、ラット由来IgGにおいて、mouse 遺伝子を導入したIgGと比べ、rat 遺伝子を導入した方がシアル酸までの伸長が見られた。また、ヒト由来IgGにおいても mouse 遺伝子を導入したIgGと比べ、human 遺伝子を導入した方がシアル酸までの伸長が見られた。しかし、ヒト由来IgGにおいては、未だ Gal や GlcNAc が末端にあるIgGが多く存在し、完全なシアル酸の伸長が認められなかった。また、*sialidase* 遺伝子を導入すると、*B4GalT1* 遺伝子のみ導入した細胞が産生したIgGに比べ、シアル酸の除去が認められたが、遺伝子を全く導入していないコントロール細胞から産生されたIgGと同程度のシアル酸が付加していることがわかった。

ラットハイブリドーマ細胞が産生するIgG上の糖鎖構造

