

Title	Characterization of an Apparently Conserved Epitope in E-and P-selectin Identified by Dual- Specific Monoclonal Antibodies
Author(s)	合田, 潔
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41706
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、〈a href="https://www.library.osaka- u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

# The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

[48]

氏 名 **合** 田 **潔** 

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学位記番号第 14477 号

学位授与年月日 平成11年3月25日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学系研究科病理系専攻

学 位 論 文 名 Characterization of an Apparently Conserved Epitope in E-and P-

selectin Identified by Dual-Specific Monoclonal Antibodies.

(抗E-/P-セレクチン抗体によって認識されるE-/P-セレクチン間に保存されたエピトープの機能的重要性)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 宮坂 昌之

(副査)

教 授 濱岡 利之 教 授 白倉 良太

### 論文内容の要旨

## 【目的】

E-およびP-セレクチンは互いに高い相同性を示すC型レクチンドメインを介してシアリルルイスX(sLeX)を含む種々の糖鎖リガンドに結合し、炎症時の白血球と血管内皮細胞の相互作用に重要な役割を果たしている。今回、抗E-セレクチン抗体として樹立された1.2B6がE-セレクチンのみならずP-セレクチンに対しても反応性を有することを見い出し、1.2B6 ェピトープの構造およびセレクチン機能への関与を解析した。

## 【方法】

セレクチントランスフェクタントおよびセレクチンーIg キメラ分子を用いて1.2B 6 の結合特異性を検討した。更にL-/E-およびL-/P-セレクチンキメラ分子を作製して1.2B 6 ェピトープのマッピングを試みた。また競合的結合実験によって1.2B 6 および他の二つの異なる抗E-/P-セレクチン抗体(EP-5 C 7 および BBIG-E 6)のエピトープを比較した。次いで変異E-セレクチンを用いてE-/P-セレクチン抗体が認識するエピトープを解析した。また細胞接着実験および糖鎖結合実験によってE-/P-セレクチン抗体の阻害効果を解析した。

#### 【成績】

1.2B6ェピトープはEーおよびPーセレクチンのC型レクチンドメイン内に存在し、EPー5 C 7 および BBIG - E 6ェピトープと同一あるいは重複していた。更にこれら三つの抗Eー/Pーセレクチン抗体は既知の糖鎖(sLeX)結合部位とは空間的に離れた位置にある同一のエピトープを認識することが示唆された。また、1.2B6を含めて用いた抗Eー/Pーセレクチン抗体は全てEーおよびPーセレクチンを介した細胞接着を阻害し、更にsLeXの結合も抑制した。

### 【総括】

 $1.2\,\mathrm{B}\,6\,$ を含め抗 $\,\mathrm{E}\,-/\,\mathrm{P}\,-$ セレクチン抗体は全 $\,\mathrm{C}\,\mathrm{E}\,-$ セレクチンの $\,\mathrm{C}\,\mathrm{D}\,\mathrm{U}$ クチンドメイン内に存在する  $5\,\mathrm{G}\,\mathrm{G}\,\mathrm{m}\,\mathrm{r}$ ミノ酸残基( $21\,\mathrm{Q},\ 22\,\mathrm{R},\ 23\,\mathrm{Y},\ 119\,\mathrm{T}$ および $120\,\mathrm{A}$ )より構成される立体エピトープを認識していた。これはこれま

でに報告されている sLeX 結合部位とは空間的に隔たった位置に存在している。既知の sLeX 結合部位とは異なるエピトープを認識する抗E-/P-セレクチン抗体による <math>sLeX 結合の阻害機序として,

- 1) 抗体の結合によりセレクチン分子に立体構造の変化がおこり、sLeX との結合が阻害された。
- 2) 抗体が新規の sLeX 結合部位を認識している。
- 3) 抗体によってセレクチン分子の凝集が抑制され、多価のセレクチン-sLeX 複合体の形成が阻害された。 等が考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文では抗E-セレクチン抗体として一般に知られている1.2B6がP-セレクチンに対しても反応性を有することが述べられている。1.2B6ェピトープは他の2つの抗E-/P-セレクチン抗体のエピトープと同一あるいは重複していることが示されており,更にリガンド結合部位とは空間的に隔たったCタイプレクチンドメインの側面に位置することが示唆されている。本論文における主要な発見は,リガンド結合部位から離れたエピトープを認識する抗体がリガンドの結合を阻害することであり,本論文の結果と一致するペプチドを用いた過去の阻害実験の報告に照らし合わせてみると大変に興味深い。本論文の結果はセレクチンのリガンド結合に対するこれまでに知られていない調節機構の存在を示唆するものであり,学位の授与に値すると考えられる。