

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 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	合田 嘉よし
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-セレクトリン抗体によって認識されるE- / P-セレクトリ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-セレクトリ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-セレクトリン抗体として樹立された1.2B6がE-セレクトリンのみならずP-セレクトリンに対しても反応性を有することを見出し、1.2B6エピトープの構造およびセレクトリン機能への関与を解析した。

【方法】

セレクトリントランスフェクタントおよびセレクトリン-Igキメラ分子を用いて1.2B6の結合特異性を検討した。更にL- / E-およびL- / P-セレクトリンキメラ分子を作製して1.2B6エ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1.2B6および他の二つの異なる抗E- / P-セレクトリン抗体 (EP-5C7およびBBIG-E6) のエピトープを比較した。次いで変異E-セレクトリンを用いてE- / P-セレクトリ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-セレクトリンを介した接着に対する抗E- / P-セレクトリン抗体の阻害効果を解析した。

【成績】

1.2B6エピトープはE-およびP-セレクトリンのC型レクチンドメイン内に存在し、EP-5C7およびBBIG-E6エ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- / P-セレクトリ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- / P-セレクトリン抗体は全てE-およびP-セレクトリ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】

1.2B6を含め抗E- / P-セレクトリン抗体は全てE-セレクトリンのC型レクチンドメイン内に存在する5個のアミノ酸残基 (21Q, 22R, 23Y, 119Tおよび120A) 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-セレクトリン抗体による sLeX 結合の阻害機序として、

- 1) 抗体の結合によりセレクトリン分子に立体構造の変化がおり、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トリン分子の凝集が抑制され、多価のセレクトリン-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-セレクトリン抗体として一般に知られている 1.2B 6 が P-セレクトリンに対しても反応性を有することが述べられている。1.2B 6 エピトープは他の 2 つの抗 E- / P-セレクトリ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トリ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思われる。