

(様式第9号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Pinky Karim Syeda K. Fatema
審査委員	<u>主査</u> 横田一成 印 <u>副査</u> 地阪光生 印 <u>副査</u> 赤壁善彦 印 <u>副査</u> 一柳 剛 印 <u>副査</u> 西村浩二 印
題目	Generation of monoclonal antibodies for prostaglandins of J₂ series and the application to their immunological assays (J ₂ シリーズのプロスタグランジン類に対する単クローン抗体の作製と免疫学的測定法への応用)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	<p>本論文は、アラキドン酸シクロオキシゲナーゼ経路で生成されるプロスタグランジン(PG)D₂に由来する2種類のJ₂シリーズのPG類に対する特異的な単クローン抗体の作成と、それらを利用した特異的で高感度の免疫測定法の確立と脂肪細胞の培養系への適用に関する研究を行った研究である。</p> <p>15-デオキシ-$\Delta^{12,14}$-プロスタグランジンJ₂(15d-PGJ₂)は、脂肪細胞形成因子や抗炎症性因子として役立つ生物学的に活性分子である。また、この化合物は、PGD₂の非酵素的な脱水反応により生成される天然物質のひとつである。内因性15d-PGJ₂の生合成を測定するためには、簡便な免疫学的測定法が有用である。まず、本研究では、15d-PGJ₂に対して特異的にに対する単クローン抗体を分泌するクローニングハイブリドーマ細胞株を樹立した。それに対する固相化免疫測定法(ELISA)の開発ためには、15d-PGJ₂とタンパク質の結合物を用いた固相化抗原を、遊離の15d-PGJ₂の存在下に得られた単クローン抗体と競合反応させた。種々の反応条件の検討後の最適条件で、50%の結合率を示す値が71 pgで、0.5 pgから9.7 pgの範囲で測定可能な高感度の標準曲線を作</p>

成された。今回の单クローニング抗体は、PGJ₂に4%の交差性を示す他は、他の関連のPG類を認識しなかった。開発した固相化ELISA法は、培養脂肪細胞の成熟培養液での15d-PGJ₂の定量において信頼性のあることが証明された。この測定法の適用により、15d-PGJ₂の非酵素的な生成は、標準品のPGD₂を37°Cでインキュベートときの数時間後に顕著になった。これらの結果は、内因性15d-PGJ₂の生合成や他の生体の細胞や組織での役割を解明する点で、今回の目的の化合物に対する单クローニング抗体を用いて行われた特異的で高感度の固相化ELISA法の有用性を示す。

さらに、PGD₂の非酵素的な脱水反応では、終末の安定化合物として15d-PGJ₂に加えて Δ^{12} -PGJ₂が生成する。後者の化合物も、脂肪細胞形成の促進に効果的であるが、これまで脂肪細胞の分化誘導や成熟過程での内因性物質の定量的な解析は不十分であった。今回の研究では、次に、脂肪細胞の培養系での Δ^{12} -PGJ₂の生合成量を定量的に測定するため、 Δ^{12} -PGJ₂に対する高感度で特異的な免疫測定法を開発することを目指した。最初に、 Δ^{12} -PGJ₂に対して特異的に反応する单クローニング抗体を分泌するクローニングハイブリドーマ細胞株を確立した。 Δ^{12} -PGJ₂と γ -グロブリンの結合物を用いた固相化抗原を、遊離の Δ^{12} -PGJ₂の存在下に单クローニング抗体と競合的に反応させた。これらの測定では、0.16 pgから0.99 ngの範囲で測定が可能で、標準曲線の感度を示す50%の結合率を示す標準品の量は13 pgと計算された。今回、調製された单クローニング抗体は、他の関連のPG類には、ほとんど認識しなかった。わずかに、PGJ₂と15d-PGJ₂に、それぞれ0.5%と0.2%程度、反応するのみであった。脂肪細胞の培養系に Δ^{12} -PGJ₂を添加して、我々の開発した特異的な免疫測定法を適用したところ、10 pg/mlから200 pg/mlの範囲で添加量に応じて測定値の正確性が確認された。また、本測定法による適用の結果、培養脂肪細胞の培養液中のインキュベーションの数時間後に、 Δ^{12} -PGJ₂の生成がより顕著になった。培養系における成熟期の脂肪細胞の形成の進行と関連して内因性 Δ^{12} -PGJ₂の生成の合成能が増加することが確認された。これらの結果より、脂肪細胞の培養系における不安定なPGD₂の生成を反映する安定な Δ^{12} -PGJ₂に対する今回の固相化ELISA法の信頼性と有用性が確認された。

以上のように、本論文により、 Δ^{12} -PGJ₂や15d-PGJ₂のような2種類のJ₂シリーズのPG類のそれぞれを特異的に測定することを試み、様々な生体系におけるPGD₂の生合成過程を追跡するのに今回の免疫測定法は、簡便で、信頼性があり、そして有用であることが明らかになった。従って、本論文で記載されている研究成果は、脂質生物学分野の発展に寄与する重要な研究であり、学位論文として十分な価値を有する。申請者は、本学連合農学研究科において博士（農学）の学位を与えるのに適合していると判断した。