

平成23年12月

林 輝 学位論文審査要旨

主 査 佐 藤 建 三
副主査 岡 田 太
同 林 真 一

主論文

Self-interaction of soluble and surface-bound β_2 -glycoprotein I and its enhancement by lupus anticoagulants

(可溶性および膜結合型 β_2 グリコプロテインIの自己相互作用とループス抗凝固因子による増強)

(著者：林輝、林あゆみ、松浦栄次、鈴木宏治、小池隆夫、箸本英吉、武谷浩之)

平成20年 FEBS Letters 582巻 3308頁～3312頁

学 位 論 文 要 旨

Self-interaction of soluble and surface-bound β_2 -glycoprotein I and its enhancement by lupus anticoagulants

(可溶性および膜結合型 β_2 グリコプロテインIの自己相互作用とループス抗凝固因子による増強)

β_2 -グリコプロテインI (β_2 GPI) は抗リン脂質抗体症候群 (APS) 患者でみられる抗カルジオリピン自己抗体が認識する抗原として知られるが、その生理的機能は明らかでない。以前、抗カルジオリピン抗体 (=抗 β_2 GPI抗体) は β_2 GPIのリン脂質膜への結合を増幅し、 β_2 GPI-抗 β_2 GPI抗体クラスターを形成することを示し、これがAPSにおける血栓症の発症に関連することを示唆した。本研究では、抗 β_2 GPI抗体の非存在下においても β_2 GPI自体がリン脂質膜上でクラスターを形成することを見出した。

方 法

ヒト血漿から β_2 GPIを単離し、表面プラズモン共鳴法を用いて溶液中の β_2 GPIとセンサーチップに固相化した β_2 GPIとの相互作用を検討した。 I^{125} ラベルした β_2 GPIを播種したウェルにラベル化していない β_2 GPIを添加し、LA活性を有するCof-18抗体の有無による β_2 GPI同士の結合量をガンマカウンターで測定した。

結 果

ゲル濾過カラムにより、溶液中の β_2 GPIは単量体で存在していることが分かった。このとき表面プラズモン共鳴法を用いた検討から、センサーチップに固相化した β_2 GPIと自己相互作用し、解離定数は 8.0×10^{-6} Mであることが示された。また、マイクロプレートに固相化した β_2 GPIに I^{125} - β_2 GPIが濃度依存的に結合したことから、 β_2 GPIが自己相互作用することが明らかとなった。このとき、固相化した牛血清アルブミンや卵白アルブミンに対して β_2 GPIは結合しなかった。 β_2 GPIに対する抗体であるCof-18を固相化した場合には β_2 GPI同士の相互作用が阻害されたことから、表層に結合し構造変化をおこすことが β_2 GPIの自己相互作用に関与していることが示唆された。また、 β_2 GPI同士の結合が塩濃度依存的に顕著に阻害されなかったことから、 β_2 GPI同士の結合に静電的な結合の寄与は低いこ

とが分かった。ループスアンチコアグラント (LA) 活性を有する抗体存在下では β_2 GPIの自己相互作用は惹起されるが、LA活性陰性の抗体存在下では惹起されなかった。このとき、 β_2 GPIの第五ドメインを認識する抗体存在下では β_2 GPIの自己相互作用が著しく阻害された。

考 察

抗リン脂質抗体症候群の患者で見られる抗 β_2 GPI抗体は、溶液中の β_2 GPIには結合しないがプレートなどの表層に固層化された β_2 GPIに対しては結合する。これまでどのような機構で抗 β_2 GPI抗体が自己である β_2 GPIに反応するのか、その機構は不明だった。可能性としては、細胞膜に結合した β_2 GPIが構造変化をおこすことにより抗 β_2 GPI抗体に反応することや β_2 GPIが一定数以上に表層に結合することにより抗体のavidityが上昇し、反応されやすくなることが考えられる。今回、固層化した β_2 GPIに対して溶液中の β_2 GPIが相互作用したことから、 β_2 GPIの自己相互作用により引き起こされる β_2 GPIの構造変化、あるいは多量体化した β_2 GPIが新たな抗原となって抗 β_2 GPI抗体に反応する可能性が考えられる。

結 論

β_2 GPIは表層に結合することにより自己相互作用し、また、LA活性陽性抗体によって増強されることが明らかとなった。