

## 学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	生体情報学
学籍番号	10D748	氏名	深田 陽子
論文題目	Direct cytotoxic effect of galectin-9 localized on collagen matrices on human immune cell lines		

## (論文要旨)

移植・再生医療においては拒絶反応の制御が不可欠であるが、現在一般的に使用されている免疫抑制剤は、日和見感染などの問題を引き起こす可能性がある。移植局所において免疫反応を調節する機能を備えた医療用素材は、この問題を解決する手段の1つと考えられる。特徴的な免疫調節機能を持つガレクチン9は、動物実験において拒絶反応を抑制することが報告されている。一般的な免疫抑制剤と異なり、ガレクチン9は過剰な免疫抑制を引き起こしにくいと考えられるが、全身性投与により有害な副作用が生じる可能性は否定できない。今回、コラーゲンを含む移植用材料の高機能化に利用することを目的として、ガレクチン9もしくはコラーゲン結合性ガレクチン9融合蛋白質が、コラーゲン膜に結合した状態で免疫細胞の細胞死を誘導できるか否かを検討した。

## 【方法】

2種類のガレクチン9改変体(G9Null, 安定化型; ssG9, 高溶解性安定化型)と *C. histolyticum* 由来の4種類のコラーゲン結合ドメイン(CBD, ColH 遺伝子由来の CBD302/305 と ColG 遺伝子由来の CBD112/115)及びコラーゲン結合性ペプチド(CBP, TKKTLRT)を組み合わせて、計 10 種類のコラーゲン結合性ガレクチン9を作製した。これらについて、Jurkat 細胞に対する細胞死誘導活性(溶液状態)、不溶性コラーゲンに対する結合活性、及びコラーゲン膜(コラーゲンビトリゲル膜)に結合した状態での細胞死誘導活性を検討した。

## 【結果と考察】

Jurkat 細胞に対する細胞死誘導活性(溶液状態)

G9Null, ssG9 とともに融合蛋白質の形成により活性は低下し、特に CBD112/115 を含む融合蛋白質の活性は、G9Null の 3~20% 程度であった。

不溶性コラーゲンに対する結合活性

結合活性のデータは典型的な飽和曲線を示さず、Kd 値を求めることはできなかった。しかし、融合蛋白質の不溶性コラーゲンに対する親和性は G9Null, ssG9 とともに 112 > 115 = 302 > 305 = CBP の順であり、CBD 部分の親和性とほぼ一致していた。一方、予想に反して、G9Null と ssG9 はコラーゲンに対して比較的高い親和性を示し、この相互作用はラクトースにより阻害された。

細胞死誘導活性(コラーゲン結合状態)

G9Null あるいは ssG9 で処理したコラーゲンビトリゲル膜に Jurkat 細胞を播種すると、細胞は膜に接着し、細胞死が誘導された。一方、融合蛋白質で処理(ラクトース存在下で処理)した膜の場合、細胞は接着せず、細胞増殖にも影響を与えなかった。これらのデータは、膜上に局在化したガレクチン9と Jurkat 細胞の相互作用によって、細胞死が誘導されることを示唆している。また、G9Null で処理したコラーゲンビトリゲル膜の場合、培地中の G9Null(コラーゲン膜から遊離した G9Null)の濃度は、培養開始後 24 時間で 0.1  $\mu$ M 以下であり、Jurkat 細胞の増殖に大きな影響を与えないレベルに留まっていた。

【結論】

当初の予想に反して、ガレクチン9自身がコラーゲン標品に対して比較的高い親和性を示し、また、結合部位の数に関しても、ガレクチン9の方が CBD/CBP よりも多い可能性が高い。今回新たに作製した融合蛋白質は、本研究の利用目的に関しては、G9Null/ssG9 を越える性能を示さなかった。一方、G9Null/ssG9 で処理したコラーゲンビトリゲル膜は、ヒト免疫細胞株に対して接触依存性の細胞死誘導作用を示すことから、接触依存性免疫抑制機能を持つ医療材料として、利用できる可能性がある。

掲 載 誌 名	Biochimica et Biophysica Acta			第	卷, 第	号
(公表予定) 掲 載 年 月	26年	1月	出版社(等)名	Elsevier		
Peer Review	有			・	無	

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。