

28P-am04S

新規抗マウススフィンゴシン 1-リン酸受容体 2 モノクローナル抗体の作製とその性状解析

○伊東 惇¹, 米田 洵子¹, 益子 高¹, 菅原 邦夫², 千葉 健治², 八木 秀樹¹(¹近畿大薬,²田辺三菱製薬)

【目的】脂質メディエーターである sphingosine 1-phosphate (S1P) がリンパ球移出に強く関与することが、新規免疫調節薬である Fingolimod (FTY720) の作用機序解明の過程で明らかにされた。FTY720 は、sphingosine kinase により生体内で速やかにリン酸化され(S)-FTY720-P となり、5 種類の S1P receptors (S1P_{1,5}) のうち、S1P₂を除く 4 種類の S1P receptors に結合、作用する。FTY720 の主たる作用である胸腺やリンパ節からの成熟リンパ球移出の障害には S1P₁の関与が大きいことが報告されているが、その他の S1P receptors のリンパ球動態への関与は不明な点が多い。S1P₂は(S)-FTY720-P とは結合せず、S1P₁とは異なり、細胞遊走に対し抑制的に働くことが報告されている。S1P は破骨前駆細胞の遊走にも関与しており、その遊走は S1P₁と S1P₂の発現バランスにより支配されると報告されている。そこで、本研究ではマウス S1P₂に対する新規 monoclonal antibody (mAb) の作製を行い、S1P₂の性状解析を試みた。【方法】GFP 融合マウス S1P₂をトランスフェクとしたラット肝癌細胞 RH7777 細胞を F344/N 雌ラットに 6 回免疫し、ラット血清中の抗体価が十分に上昇したことを確認した後、最終免疫を行い、常法に従いマウスミエローマ X63 細胞と免疫脾細胞との細胞融合を行った。HAT 選択後、ハイブリドーマ培養上清と GFP 融合マウス S1P₂トランスフェクタントとの反応性を flow cytometry にてスクリーニングした。【結果・考察】スクリーニングの結果、3 種類の mAb が GFP 発現依存的に反応性を示した。これら mAb は他の S1P receptors (S1P₁, S1P_{3,5}) トランスフェクタントとは全く反応しない、S1P₂に特異的に反応する mAb であった。現在、これら新規 mAb の性状解析及び、S1P₂の機能解析が進行中である。