

氏名	TAN XIAN WEN
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博 甲 第 6334 号
学位授与の日付	2021 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文題目	Rapid and specific detection of oxidized LDL/ $\beta$ 2GPI complexes via facile lateral flow immunoassay (ラテラルフロー免疫アッセイによる酸化 LDL / $\beta$ 2GPI 複合体の迅速かつ特異的な検出)
論文審査委員	教授 竹居孝二      教授 和田 淳      准教授 中村一文

#### 学位論文内容の要旨

$\beta$ 2-Glycoprotein I ( $\beta$ 2GPI) forms indissociable complex with oxidized LDL (oxLDL) into proatherogenic oxLDL/ $\beta$ 2GPI complex through a specific ligand known as 7-ketocholesteryl-9-carboxynonanoate (oxLig-1). Recent discoveries have demonstrated the atherogenicity of these complexes in patients of both systemic and non-systemic autoimmune diseases. Hence, serological level of oxLDL/ $\beta$ 2GPI complexes may represent one crucial clinical parameter for disease prognosis of atherosclerosis-related diseases. Herein, we established a simple, specific and rapid gold nanoparticle (GNP) based lateral flow immunoassay (LFIA) to quantify oxLDL/ $\beta$ 2GPI complexes from test samples. Specificities of hybridoma cell-derived monoclonal antibodies against antigen, optimal conditions for conjugation of antibody with GNP, and sensitivity of oxLDL/ $\beta$ 2GPI LFIA in comparison to an ELISA-based detection method were assessed accordingly. The established oxLDL/ $\beta$ 2GPI LFIA was capable of detecting oxLDL/ $\beta$ 2GPI specifically without interference from autoantibodies and solitary components of oxLDL/ $\beta$ 2GPI present in test samples. A significant correlation ( $R^2 > 0.8$ ) was also obtained with the oxLDL/ $\beta$ 2GPI LFIA when compared to the ELISA-based detection. On the whole, the oxLDL/ $\beta$ 2GPI LFIA remains advantageous over the oxLDL/ $\beta$ 2GPI ELISA. The unnecessary washing step, short developmental and analytical time support facile and rapid detection of oxLDL/ $\beta$ 2GPI as opposed to the laborious ELISA system.

#### 論文審査結果の要旨

$\beta$ 2 グリコプロテイン I ( $\beta$ 2GPI) は酸化 LDL (oxLDL) と複合体を形成する。oxLDL /  $\beta$ 2GPI 複合体は自己免疫疾患においてアテローム原生を持つことから、この複合体の血中濃度は動脈硬化症関連疾患の予後予測のための重要な臨床的指標になり得る。本研究において著者は血清試料中の oxLDL /  $\beta$ 2GPI 複合体を簡便、迅速、特異的に定量するラテラルフロー免疫アッセイ (LFIA) 法を確立した。アッセイに用いた 2 種類のモノクローナル抗体の特異性を精査し、抗体と金ナノ粒子との結合の条件等を最適化した。確立した LFIA 法は oxLDL /  $\beta$ 2GPI 複合体を特異的に検出し、自己抗体等による干渉も観られなかった。ELISA 法と比較したところ、検出特性は強い相関が認められ、操作性は ELISA 法より簡便で迅速であった。本研究は動脈硬化症関連疾患の早期診断につながる重要な知見を得たものとして価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。