

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 佐 藤 淳

生体においては、レセプターとリガンド分子とが相互作用することによりシグナルが細胞内に伝達され、様々な生物学的機能が発現される。従って、リガンド分子がレセプター分子を認識するメカニズムの解明は非常に重要であり、特に疾患との関係が示唆されるレセプターとリガンド分子の相互作用については、医薬品の創製につながる情報となり得るものである。本論文は、可溶性レセプター分子の発現、ランダムペプチドライブラリー法を用いたレセプター、リガンド分子の相互作用に関する研究を述べたものであり、6章より構成されている。

第1章は緒論であり、本研究の行われた背景について述べ、本研究の目的と意義を明らかにしている。

第2章では、脂質の取り込みに関わるヒト Low density lipoprotein (LDL)、Very low density lipoprotein (VLDL) レセプターに着目し、昆虫細胞を用いて活性型可溶性レセプターの発現を述べている。LDLレセプターの場合には、可溶性レセプターは昆虫細胞で分泌しリガンドである<sup>125</sup>I-LDL、<sup>125</sup>I-β-VLDLに結合した。一方、VLDLレセプターの細胞外領域は単独発現では培養上清中に分泌せず、細胞内リガンドである Receptor-associated protein (RAP) と共発現することにより、培養上清中に分泌した。分泌した可溶性レセプターは、リガンドである<sup>125</sup>I-β-VLDLと結合した。以上より、VLDLレセプターの細胞外ドメインの分泌、及び活性化には、細胞内リガンドであるRAPが関与していることが明らかになった。

第3章では、ectoenzyme活性を有するレセプター分子であるヒト Bone marrow stromal cell antigen-1 (BST-1/CD157, 以下BST-1) に着目している。この分子の機能解析を行うために、可溶性BST-1の大量発現系を昆虫細胞で構築した。可溶性BST-1は培地中に分泌し、この分泌した可溶性BST-1を、陽イオン交換クロマトグラフィー、ブルーアフィニティークロマトグラフィーで精製した。次に、精製した可溶性BST-1をターゲットとして、ファージディスプレイランダムペプチドライブラリーをスクリーニングした。その結果、BST-1に結合するペプチド (SNP-1と命名) は、BST-1のADP-ribosyl cyclase活性を不拮抗型で阻害することが示された。得られたSNP-1は、ヒトCD38のADP-ribosyl cyclase活性は阻害しないことが確認され、BST-1に特異的なインヒビターであった。

第4章では、新規ADP-ribosyl cyclaseインヒビターSNP-1と可溶性BST-1との結合を、バイオセンサーBIAcore、Isothermal titration calorimetry (ITC)、分析用超遠心器を用いて物理化学的に解析した結果を述べている。SNP-1と可溶性BST-1との結合解離定数は、BIAcoreで $500 \pm 35$ nM、ITCで210nMと算出された。分析用超遠心器を用いた解析では、可溶性BST-1はdimerで存在することが示された。ITCを用いてSNP-1とBST-1との結合 stoichiometryを解析し、算出した分子量から

2:2で結合すると推定された。

第5章では、ランダムペプチドライブラリー法をレセプター分子ではなくリガンド分子に適用し、レセプター分子をミミックしたペプチドリガンドがこの方法で得られるかを検証している。ターゲット分子としては、スーパー抗原であるToxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)を選択した。スクリーニングの結果、TSST-1に結合する配列が4種類得られた。得られた配列を基にして化学合成したペプチド (Pep-3と命名) は、リガンド TSST-1とそのレセプターであるMHC class IIとの結合を濃度依存的に阻害した。さらに得られた配列のなかに、MHC class IIのβ鎖との相同部位が2ヵ所認められた。以上より得られた配列は、TSST-1のレセプターであるMHC class IIをミミックしたものであると結論された。

第6章は総括であり、本研究を要約して得られた研究成果をまとめてある。

以上、本研究は細胞のレセプターに関連した医薬品開発をめざし、活性型可溶性レセプターの発現、ペプチドライブラリーを用いたレセプター/リガンド分子の相互作用を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は、本論文が、博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。