

審査の結果の要旨

氏名 佐々木 紀彦

「ヒト単球・マクロファージ様細胞株におけるヘパラーゼの局在性について」と題する本論文は、ヘパラン硫酸特異的なエンドペクターグルクロニダーゼであるヘパラーゼの、マクロファージ様に分化させたヒト白血病細胞の表面における分布状態を明らかにし、分布状態が決定されるメカニズム及び分布の細胞交通制御における意義を提案するものである。ヘパラーゼは、約20年前に肺に転移性を有するメラノーマ細胞が産生する酵素として同定され、この細胞がヘパラン硫酸を含むプロテオグリカンを主要な構成成分とする組織基底層を通して浸潤する能力を持つことに関係する重要な分子として注目されていた。しかし、この酵素が、脈管系と組織と縦横に往来する細胞である免疫系の細胞の移動に寄与するかどうかに関しては、知見が少なかった。本論文で学位申請者は、組織間を移動する免疫細胞であるマクロファージのモデルとなる培養細胞が移動する際に、細胞の先端部の表面にヘパラーゼが局在化することを示し、さらにこの局在化が細胞膜マイクロドメインとの親和性による事を強く示唆する知見を得た。

「ヘパラーゼの局在性および浸潤への関与について」と題する第1章では、ヒト単球・マクロファージ様細胞株である U937 細胞にフォルボールエステル処理によって分化が誘導されると、ヘパラーゼが細胞表面に移動するという、学位申請者が修士課程在学中に生化学的な方法で得た結果から予測していた現象が、抗ヒトヘパラーゼモノクローナル抗体を用いて確認された。さらに、分化誘導に伴うヘパラーゼの細胞表面への輸送は微小管に担われていることが示された。分化した U937 細胞は接着性を持つようになるが、ヘパラーゼは細胞の接着に伴って再分布し、細胞表面の1ヶ所に集積することが示された。方向性を持って遊走している細胞におけるヘパラーゼの集積を観察すると、遊走先端がヘパラーゼの集積部位であることが示された。すなわちマクロファージ様細胞においては、分化誘導によって細胞表面に発現したヘパラーゼが接着に伴って遊走先端に集積し局在化すること、さらにこの細胞表面のヘパラーゼはこの細胞が細胞外マトリクスに浸潤するために必須であることが示された。

「ヘパラーゼの集積部位について」と題する第2章においては、マクロファージ様細胞の接着と遊走に伴うヘパラーゼの浸潤先端への集積のメカニズムに関する研究成果が述べられている。まず、この集積には細胞内骨格系が関与していること、マイクロドメインが関与していることを、免疫染色などの結果から示した。さらに、細胞を破碎してショ糖密度勾配遠心

によって分画することによって、低密度画分にマイクロドメインが回収され、活性型のヘパラーゼがこの画分に検出されることが、ウェスタンブロット解析によって示された。分化させた U937 細胞のマイクロドメインを破壊すると走化的な遊走が阻害され、浸潤および遊走時の浸潤先端へのヘパラーゼの局在化にマイクロドメインが積極的に関与することが示唆された。インテグリンや膜型マトリックスメタロプロテアーゼがヘパラーゼと共に細胞表面の 1 ヶ所に集積し遊走方向に向くことから、ヘパラーゼがこれらと共に脂質マイクロドメインに親和性を有するためと考えられた。

以上のように、単球・マクロファージ系の細胞において、分化誘導に伴ってヘパラーゼが細胞内から細胞表面に移動すること、細胞接着に伴って細胞表面の一端に再分布すること、この部分が移動中の細胞の浸潤先端であること、及びこの特異な分布がマイクロドメインへの親和性によるらしいことが初めて示された。また、この細胞の基底膜への浸潤がヘパラーゼを抗体によって阻害することで抑制できる可能性が示唆された。ヘパラン硫酸を比較的大きな断片に分解する酵素は、今のところ 1 種類のヘパラーゼしか発見されていない。マクロファージおよびその類縁細胞の局所への浸潤がヘパラーゼ活性を制御することによって達成され、炎症の阻害や免疫抑制を通して、新しい創薬の可能性が開けると期待された。よって本研究を行なった佐々木紀彦は、博士（薬学）の学位を得るにふさわしいと判断した。