

論文審査の結果の要旨

氏名 紀藤圭治

本論文では、細胞のケモカイン刺激に対する反応性がダイナミックに制御されうる可能性を示した。すなわち前半部分（4.1 および 5.1）でケモカイン刺激を受けた細胞におけるケモカイン受容体の結合親和性の上昇について、後半部分（4.2 および 5.2）でケモカイン濃度勾配の変化に対する細胞応答について解析を行った。

ケモカインは生体内において目的部位への選択的な細胞移動を制御することにより、様々な生命現象において重要な役割を担っている低分子の分泌性タンパク質である。ケモカインによる細胞移動も含め、細胞極性の形成は方向選択的な細胞遊走反応において重要な過程である。わずか数%の外的刺激因子の濃度差を細胞が認識し、それをいかに増幅して細胞内の極性形成へと繋げるのかについては、多くの知見が得られている。一方で、細胞異動というダイナミックな細胞応答の過程で、遊走因子に対する細胞の反応性がどのように制御され、または変化しうるのかは不明な部分が多く、この点に疑問点を見出し、具体的には以下に述べる 2 点について検証が為されている。

ケモカイン受容体はある二次的な刺激を受けることで量的または質的な制御を受けている。そこで、受容体の量的または質的な変化を介してケモカインに対する細胞の反応性が変動する可能性を検討するために、CC ケモカインサブファミリーに属する MCP-1 で刺激した細胞における MCP-1 結合そのものの変化、および受容体の量的または質的な変動を調べた。MCP-1 受容体である CCR2 を発現しているヒト単球由来細胞株の THP-1 細胞において、MCP-1 処理した細胞で MCP-1 自身の結合が増加することが見出された。CCR2 mRNA 量および細胞表面上の CCR2 発現量は、MCP-1 処理により変化しなかった。一方スキッチャード解析から、MCP-1 で前処理した細胞において、MCP-1 に対する受容体の結合親和性が約 6 倍増加した。また、CCR2 を発現させた HEK-293 細胞においても、MCP-1 で前処理した細胞で MCP-1 自身の結合が増加するとともに、受容体の結合親和性の上昇がみられた。以上より、MCP-1 受容体はそれ自身のリガンドである MCP-1 刺激により、MCP-1 に対する結合親和性が上昇することが示されている。

細胞や刺激因子の違いにより、細胞移動の方向が遊走因子濃度勾配の変化による影響を迅速に受ける場合と、ある時間内では一定方向の移動を続けうる場合があることが

知られている。そこで、ケモカイン濃度勾配の変化に対する細胞の応答性はつねに一定ではなく細胞移動の過程で変動していく可能性を検証するために、一度ケモカイン濃度勾配刺激を受けた細胞の遊走反応は、その後の濃度勾配変化による影響をどう受けるのかを調べた。MCP-1 の濃度勾配を予め認識させた THP-1 細胞は、その後 MCP-1 刺激の存在しない条件下でも遊走反応を示した。さらに、予め MCP-1 濃度勾配刺激を受けた細胞は、調べた範囲ではその後の遊走因子濃度勾配の変化に関わらず同等の遊走反応を示した。最初に認識した MCP-1 の濃度勾配により細胞が移動する方向を識別すると、その後ある一定の時間内および濃度の範囲内においては、遊走因子濃度勾配の環境変化による影響を受けずに細胞は最初の濃度差に従って移動をするという可能性が示されている。

以上より、MCP-1 刺激を受けた細胞でその受容体の結合親和性が上昇することが示され、また、一度 MCP-1 濃度勾配刺激を受けた細胞の遊走反応は、ある一定時間においてその後の濃度勾配変化による影響を受けない可能性が示されている。MCP-1 刺激による受容体の質的变化は、受容体の局在化も伴うとすれば細胞周囲のケモカイン濃度差を細胞が増幅して感知するのを促し、濃度勾配変化に対する感受性の低下は、至適濃度より外れたケモカインを産生している環境においても、一定の時間または距離の範囲で最初に認識した濃度勾配に従った安定した細胞移動を可能にするのではないだろうか。細胞の遊走因子に対する反応性は、このように受容体の質的变化でみられるような正の制御、または濃度勾配変化に対する細胞の反応性でみられるような負の制御を受け、細胞移動においてその移動方向の認識や持続的な細胞移動に寄与しているのではないかと、といった興味深い仮説が提案されており、方向選択的な細胞遊走のメカニズムを解明する上で重要な知見が得られている。

なお、本論文の前半は西田健一氏および森下馨氏との共同研究で、後半は西田健一氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となり、研究立案と実験および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断できる。

以上より、本論文により博士（理学）を授与できるものと認める。