

審査の結果の要旨

氏名 武田 光 広

NMR 法を用いた CD44 とヒアルロン酸との相互作用様式の解析と題した本論文は、NMR を用いて細胞接着分子 CD44 とそのリガンドであるヒアルロン酸 (HA) との相互作用を解析した研究成果を述べたものである。全体は、序論、実験項、2 部構成の本論、総括より構成されている。本論の前半部となる第 3 章は、CD44 の HA 認識機構の解明に関する解析、本論の後半部になる第 4 章は、HA 結合にともなう CD44 のプロテアーゼ感受性の変化の解析、と題されている。

第 3 章においては、CD44 の HA 認識を担うヒアルロン酸結合ドメイン (HABD) (a.a. 21-178) について、その構造および HA との相互作用に関する研究結果が述べられている。すなわち、CD44 HABD の試料調製、NOE シグナルに基づく CD44 HABD のトポロジー構造の決定、HA 結合界面残基の同定、および HA 結合に伴う CD44 HABD の構造変化の解析について示されている。

決定された CD44 HABD のトポロジー構造は、2 本の α ヘリックスと 7 本の β ストランドより構成されている。これは、新規フォールドであり、リンクモジュールと呼ばれるアミノ酸配列相同性領域の 2 次構造に加えて、その両端の付加配列領域に位置する β ストランドが含まれる。また、交差飽和実験により同定された CD44 HABD の HA 結合界面は、リンクモジュール領域と付加配列領域におよぶ広範な領域に分布しており、この長さは CD44 が認識する 6 糖分の HA の長さに対応している。また、HA 結合に伴う CD44 HABD の化学シフト、主鎖 β ストランド間 NOE および異核 NOE の変化に基づいて、HA 結合時に CD44 HABD の付加配列領域に構造変化が生じることが示されている。この構造変化は、付加配列に含まれる β_a ストランド (a.a. 22-27) と、 β_f ストランド (a.a. 34-39) との間において 2 残基の組み換えが生じ、さらに β_g ストランド (a.a. 155-158) の構造に disorder が生じて、V156 より C 末端側の領域の運動性が上昇することが報告されている。

第 4 章においては、CD44 の細胞外領域 (ECD) (a.a. 21-268) を用いた解析について述べられている。すなわち、CD44 ECD と CD44 HABD との構造の比較、CD44 ECD の HA 結合に伴うプロテアーゼ感受性の変化についての解析結果である。

CD44 ECD と CD44 HABD との間で HSQC スペクトルを比較した結果、CD44 ECD においても、CD44 HABD と同様の構造変化が HA 結合に伴い生じることが示唆されている。さらに、CD44 ECD においてリガンド非結合状態および HA 結合状態においてトリプシンによる限定分解を行なった結果、R162—T163 における切断が HA 結合に伴い促進されることが示されている。この切断促進が観測された部位は HA 結合時に運動性の上昇が観測された領域に含まれている。これらの結果より、CD44 は HA 結合に伴い構造変化を生じ、プロテアーゼ感受性の高い領域が提示される機構が提唱されている。

以上本研究の成果は、CD44 の分子認識および細胞遊走機構に関する理解を大きく促すものであり、これを行った学位申請者は博士（薬学）の学位を得るにふさわしいと判断した。