

審査結果の要旨

氏名 平井 隆寛

転移交差飽和法を用いたケモカイン受容体 CCR5 とそのリガンドとの相互作用解析と題する本論文は、NMR 法を用いて炎症反応に関わる蛋白質 RANTES とその受容体である CCR5 との結合メカニズムを明らかにした研究成果を述べたものである。本論分は4章からなり、第1章において序論を述べ、第2章において実験方法を記述している。第3章において実験の結果をまとめ、第4章で実験結果に対する考察と、RANTES と CCR5 の相互作用メカニズムに関して考察を加えている。

第3章において、RANTES と膜蛋白質である CCR5 との相互作用を解析する研究戦略について述べている。膜蛋白質を対象とした NMR 解析を行うにあたり、budded virus (BV) システムを利用することを考え、転移交差飽和 (TCS) 法を BV システムに適用する研究戦略をたてている。たてた研究戦略に基づき、各蛋白質の発現、NMR 測定の実験条件検討を行っている。

大腸菌により大量調製された RANTES を用いて HSQC スペクトルの測定を行い、水溶液中での RANTES 濃度・pH 依存的に単量体・二量体平衡が観測されることを明らかにしている。この情報に基づき、生体内の炎症部位の環境と類似した状態での RANTES - CCR5 間相互作用解析を行う条件を確立している。CCR5 発現 BV を用いた TCS 実験の結果、CCR5 との特異的な相互作用界面を決定している。同定された相互作用界面は、CXCR4 を発現した BV および強制発現蛋白質をコードしていない mock-BV では観測されておらず、このことから RANTES 上の CCR5 結合界面を同定したことを結論している。この相互作用界面は RANTES の二量体界面と重複すること、さらに RANTES が dimer として存在する実験条件であることから、CCR5 結合時に、dimer RANTES が monomer に解離して結合していることを明らかにしている。

第4章において、TCS 実験の結果得られた CCR5 相互作用界面から、RANTES の CCR5 結合様式を考察している。CCR5 が発現細胞上で dimer としてシグナル伝達を担うという仮説のもと、dimer 状態にある RANTES が CCR5 結合時に monomer となるメカニズムの生物学的な優位性について論じている。Dimer で存在している RANTES が monomer に解離して CCR5 と結合すると、dimer 状態の CCR5 と同時に結合することが可能になり、シグナル伝達が誘起されるという仮説を提唱している。

以上の考察から、生体内での RANTES - CCR5 間相互作用による炎症部位への白血球遊走メカニズムについてさらに考察を加えている。考察の背景として、非炎症部位において RANTES は強く会合した dimer を形成しているのに対し、炎症部位では pH 低下によって RANTES の会合は弱くなる事実を挙げている。このことから、炎症部位において弱く会合した RANTES が高濃度に存在するという環境においてのみ、白血球遊走シグナルが伝達されるとし、炎症部位特異的な白血球遊走メカニズムが発揮されると説明している。

以上、本研究の成果は、膜蛋白質 - リガンド間相互作用を構造生物学的に解析する新規手法を開発しただけでなく、CCR5 と RANTES の相互作用メカニズムの解明ならびに CCR5 を対象とする創薬に大きく貢献するものであり、本研究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。