

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 遠田悦子

本研究はケモカイン受容体 CCR2 の会合分子として同定された新規分子「フロント」の単球・マクロファージに発現する他のケモカイン受容体に対する結合活性を解析し、フロントが CCR5 に対しても結合活性を有することを明らかにし、細胞生物学的手法および HIV-1 感染実験によってフロントの CCR5 機能における役割を明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. フロントは CCR5 に結合する

酵母ツーハイブリッドシステムを用いてフロントと CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, CXCR4 との結合活性を解析した結果、フロントは CCR2 に加えて CCR5 にも結合することが示された。また免疫共沈降実験によってヒト細胞においてもフロントが CCR5 と結合し、結合量は刺激依存的に増加することが示された。

2. フロント強制発現細胞では CCR5 依存的な細胞遊走活性が亢進する

CCR5 に結合することが判明したフロントの CCR5 依存的細胞遊走の制御への関与を検討した。フロント強制発現／抑制細胞の CCR5 リガンドである MIP-1 β に対する細胞遊走を測定し、遊走細胞の軌跡解析を行なった結果、フロント強制発現細胞では CCR5 依存的細胞遊走の速度および方向性認識能が亢進しており、フロント抑制細胞では遊走活性が顕著に低下していた。フロントは CCR2 の場合と同様に、CCR5 を介した細胞遊走シグナルにおいても促進的に働くことが示された。

3. フロント抑制細胞では HIV-1 R5 ウイルス感染に対する感受性が上昇する

CCR5 の HIV-1 コレセプター機能におけるフロントの役割を明らかにするために、フロント強制発現／抑制株の HIV-1 R5 ウイルスに対する感染効率を比較した。フロント抑制細胞では培養上清中の HIV-1 gagp24 量が上昇し、R5 ウイルスの感染量が増加していることが示された。フロントは HIV-1 R5 ウイルスの感染に抑制的に働くことが示された。

4. フロントは刺激依存的に細胞の仮足形成部位に集積し、CCR5 および重合ア

クチンと共局在する

フロントの CCR5 依存的細胞遊走, および CCR5 のコレセプター機能に関する作用機序を明らかにするために, フロントの CCR5 リガンド刺激に対する細胞内動態を解析した. 無刺激の状態ではフロントは細胞質に均一に存在するが, 刺激依存的に仮足形成部位に強い局在を示し, 一過性に CCR5 との共局在を示し, 仮足の基部では重合アクチンとの共局在が認められた. フロントは CCR5 刺激依存的に細胞内で動的に局在変化し, 仮足部位で CCR5 および重合アクチンと相互作用することが示された.

5. フロントは一定方向への仮足形成を促進する

リガンド刺激後の細胞の仮足の形成方向を重合アクチン染色により観察したところ, フロント強制発現細胞では一方向のみに仮足を形成する細胞の割合が増加し, フロント抑制細胞では多方向に仮足を形成する細胞が増加することが判明した. フロントが一方向への細胞極性の形成を促進していることが示唆された.

6. フロントは CCR5 クラスターの形成および細胞内への取り込みを促進する

リガンド刺激時の CCR5 の細胞内動態へのフロント発現の影響を明らかにするために, CCR5 抗体架橋によるクラスター形成実験を行なった. フロント強制発現細胞では CCR5 のクラスター形成および細胞内のクラスターが増加していた. フロントは CCR5 のクラスター形成および細胞内への取り込みを促進し, CCR5 の細胞内動態を制御している可能性が示唆された.

以上, 本論文では, CCR2 会合分子フロントが CCR5 に対しても結合活性を有することを初めて明らかにし, CCR5 の機能として CCR5 依存的細胞遊走および HIV-1 R5 ウイルス感染における機能を解析した結果, フロントは CCR5 依存的細胞遊走においては促進的に HIV-1 R5 ウイルス感染においては抑制的に機能することを示した. 本研究は CCR5 に選択的に会合する分子フロントによる CCR5 機能制御という全く新しい現象を見出し, 未解明な部分が多いケモカイン受容体のシグナル制御機構の解明に寄与し, CCR5 関連疾患の治療につながる重要な貢献をなすと考えられ, 学位の授与に値するものと考えられる.