

氏名(本籍)	ひろ 寛	やま 山	たかし 隆	(鹿児島県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第2669号			
学位授与年月日	平成13年3月23日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	医学研究科			
学位論文題目	Molecular Cloning and Characterization of CRLM-2, a Novel Type I Cytokine Receptor Preferentially Expressed in Hematopoietic Cells (造血細胞優位に発現する新規タイプIサイトカイン受容体, CRLM2の単離と機能解析)			
主査	筑波大学教授	医学博士	山本	雅之
副査	筑波大学助教授	医学博士	桜井	武

## 論文の内容の要旨

### (目的)

新規サイトカイン受容体系を探索し、その機能を明らかにすることは、血液細胞の分化・増殖の分子機構を理解する上で、重要である。本研究では、サイトカイン受容体の構造類似性を利用して、新規受容体の同定と機能解析を行った。

### (対象と方法)

1. エリスロポエチン受容体(EpoR)の膜貫通領域から細胞内領域のアミノ酸配列をプローブにして、マウスESTデータベースからEpoRと相同性を持つ分子の探索を行った。得られたクローンのうち、Cytokine Receptor Like Molecule-2(CRLM-2)と命名した新規分子の詳しい解析を行った。
2. マウス胎児cDNAライブラリーを鋳型にした5'と3'のRACE解析から、完全長に近いcDNAを単離した。さらに、ゲノムを主としてRCR法でクローン化して、その構造決定した。
3. CRLM-2をFLAGタグ法でラベルし、293T細胞の細胞膜上でのCRLM-2の発現を調べた。また、CRLM-2のmRNAの発現をノザン法とRT-PCR法で解析した。
4. EpoR細胞外ドメインとCRLM-2細胞内ドメインのキメラ分子を作成し、同分子によるEpoシグナルの細胞内への伝達様式を検討した。また、CRLM-2とJAK2分子との相互作用の有無を調べた。

### (結果)

1. マウスESTデータベースの検索の結果、EpoRの膜貫通領域から細胞内領域のアミノ酸配列と高い相同性を持つCRLM-2クローンを見いだした。CRLM-2は359アミノ酸からなり、サイトカイン受容体に特徴的な構造を保持していた。
2. ゲノム構造の解析から、選択的スプライシングによって膜貫通領域を欠損した可溶性CRLM-2分子が存在することが明らかになった。
3. CRLM-2は約51kDaのサイズで細胞膜に存在する。また、その発現は主として造血系で高く、細胞株では特に、骨髄球性細胞に高い発現が見られた。

4. CRLM-2は恒常的にJAK2を結合していたが、Epoシグナルを伝えることはできなかった。

(考察)

新規のサイトカイン受容体CRLM-2をクローン化した<sup>3</sup>が、それは単独では細胞増殖刺激のできない、 $\alpha$ 型の受容体サブユニットであることが強く示唆される。

#### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、新規サイトカイン受容体の単離と同定に、新しい手法を用いて挑んだ点で評価される。サイトカイン機能の解明には至らなかった点が残念である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。