

氏名(本籍)	関 哲 郎 (兵庫県)
学位の種類	博士(生物工学)
学位記番号	博 甲 第 5583 号
学位授与年月日	平成 23 年 1 月 31 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	生命環境科学研究科
学位論文題目	Identification of a Novel Endogenous Neutrophil-Activating Peptide Mitocryptide-2 and Its Receptor (新しい内因性好中球活性化因子とその受容体の同定に関する研究)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水 昭 吉
副査	筑波大学准教授 博士(薬学) 木 村 圭 志
副査	筑波大学准教授 博士(農学) 谷 本 啓 司
副査	筑波大学講師 博士(学術) 加 香 孝一郎

論 文 の 内 容 の 要 旨

細菌感染や虚血などにより組織傷害が起こると、好中球は迅速に炎症部位へ浸潤し、殺菌作用を持つ活性酸素や種々の物質に対する分解酵素を産生すると共に、貪食作用を惹起することで細菌や壊死細胞を除去する。一方、好中球が担うこのような生体防御機能が、逆に組織傷害を増悪させる原因となる場合もある。すなわち好中球は、心筋梗塞やリウマチなど感染を伴わない組織傷害性炎症において、迅速にしかも過剰に炎症箇所へ浸潤し活性化されることで、さらなる炎症反応が起こり組織破壊に発展する。しかしながら、このような速やかな好中球の浸潤は、既存の活性化因子であるインターロイキン 8 などのケモカインでは説明ができず、その制御機序は不明である。そこで著者は、感染を伴わない組織傷害における好中球の果たす役割の解明や関わる疾患の病態解明を目的とし、未知の好中球活性化因子の同定を試みた。

著者は、第一にブタ心臓より好中球活性化因子の精製を試み、ペプチド性新規活性化因子の単離に成功した(第一章)。そして、このペプチド性因子の化学構造を解析した結果、ミトコンドリア DNA にコードされた蛋白質チトクロム b の N 末端 15 残基と一致する、N 末端がフォルミル化されたペプチドであることが明らかとなった。著者は、既に蛋白質の配列に多くの生理活性ペプチドが隠されていることを発見し、これらをクリプタイドと命名、報告しているが、今回同定したペプチドはミトコンドリア蛋白質由来の 2 番目のクリプタイドであることから mitocryptide-2 (MCT-2) と命名した。次に、著者は MCT-2 について、好中球細胞における機能解析を行った。その結果、MCT-2 は好中球様に分化した HL-60 細胞において、バクテリア蛋白質由来の N 末端フォルミル化ペプチド fMLF と同様、濃度依存的に β ヘキソサミニダーゼ分泌を促進すると共に細胞遊走も惹起することを明らかにした。また、ヒト好中球においても同様に分泌を促進することが判明した。以上の結果から、MCT-2 は好中球活性化作用を持ったクリプタイドであることが示された(第二章)。

続いて著者は、MCT-2 受容体の同定と、好中球細胞における細胞内情報伝達機構の解明を試みた(第三章)。上述した通り、MCT-2 は哺乳類由来の N 末端フォルミル化ペプチドである。ヒト好中球には、バクテリア

の浸潤を感知するためN末端がフォルミル化された形で生合成されるバクテリア蛋白質やペプチドを認識する受容体としてFPRが発現しており、またそのホモログであり、生理的アゴニストが不明なFPRL1も発現している。さらに、好中球には発現していないもののFPRやFPRL1のホモログとして同定されたFPRL2が、好中球以外の細胞や組織におけるMCT-2の受容体として機能する可能性が考えられる。したがって、これらいずれかの受容体がMCT-2を認識する可能性が考えられたため、著者はこれら受容体を個別に安定発現させたHEK293細胞を構築し、MCT-2がどのサブタイプに結合し活性化するかを検討した。その結果、MCT-2はFPRL1に対する非常に特異的な内因性のアゴニストであることが明らかとなった。さらに、MCT-2によるFPRL1特異的な細胞内情報伝達系を初めて解析し、FPRL1依存的な好中球の機能発現は、細胞内カルシウム濃度の上昇やERK1/2のリン酸化を含むGi/o依存的な細胞内情報伝達を経て引き起こされることを示した。このように、本研究によって、ミトコンドリア蛋白質の構造に隠されたペプチドであるMCT-2が、FPRL1の生理的アゴニストであること、またMCT-2はFPRL1を経て細胞内情報伝達系を活性化し、好中球が担う機能を惹起することが明らかになった。本研究におけるFPRL1に特異的なアゴニストMCT-2の発見により、好中球以外のFPRL1を発現した細胞、たとえばマクロファージや樹状細胞でのFPRL1の機能ならびにその細胞内情報伝達系を解明することが可能となった。さらにMCT-2は、好中球やFPRL1が関わる様々な疾病の発症機構を解明するツールとして役立つことも期待される。

審査の結果の要旨

本研究より見出された知見は、ミトコンドリア蛋白質チトクロムbより産生されたMCT-2が、好中球を効率的かつ低濃度で活性化することを発見したことである。またMCT-2がFPRL1を特異的に活性化する内因性アゴニストであること、好中球のFPRL1特異的な細胞内情報伝達系を初めて明らかにしたことである。さらに重要な知見は、クリプタイドを特異的に認識する受容体の存在を初めて明らかにしたことであり、これにより他にも存在するクリプタイドが、生体防御反応だけでなく多くの生体調節機構に関与している可能性が考えられるようになったことである。本研究の知見を発展させ、多くのクリプタイドを同定し、その生体調節機能を解明することは、様々な生理作用を理解する上でますます重要になると考えられ、今後の研究のさらなる発展が期待される。

以上のように、著者は新規好中球活性化ペプチドMCT-2の発見に加え、その受容体の同定ならびに好中球の細胞内情報伝達系を明らかにした独創的な研究を行い、かつ、組織傷害性炎症における好中球の制御機構の解明やその治療法の確立に役立つ知見を開拓したと判断される。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。