

学位論文題名

新規ヒト CC 型ケモカイン ELC とレセプター CCR 7 の同定
ならびにそのリガンド・レセプター系に関する研究

学位論文内容の要旨

ケモカインは白血球に作用して、炎症部位へ細胞を遊走する活性を持つ低分子量のポリペプチドである。近年多くのケモカインが同定され、生体内で重要な働きをしていることが明らかにされつつある。本研究では新規ヒト CC 型ケモカイン ELC について、その cDNA をクローニングし、組換えタンパク質を用いてその活性について In vitro において検討し、その結果をまとめたものである。骨子は以下の 4 章からなる。

第 1 章：ELC の cDNA クローニングおよび組換え ELC タンパク質の作製：EST データベースを利用して新規ヒト CC 型ケモカインを検索し、cDNA をクローニングした。この遺伝子は染色体 9p13 に位置し、また mRNA は免疫系の組織に強い発現が認められることから、新しいタイプの CC 型ケモカインである可能性が考えられた。後の実験結果からこの新規ケモカインを EB11-ligand chemokine：ELC と名付けた。後に行う実験に用いるため、2 種類の組換え ELC タンパク質を作製、精製した。

第 2 章：ELC のレセプター EB11/CCR7 の同定：組換え ELC タンパク質を用いて、ELC が示すケモカイン受容体発現細胞に対する結合能、カルシウム濃度上昇の誘導能、遊走能について検討した。その結果 ELC のレセプターが EB11(Epstein-Barr virus-induced gene 1)であることを明らかとした。リガンドが判明した 7 番目の CC 型ケモカインレセプターであるので EB11 を CCR7 と提唱した。

第 3 章：末梢リンパ球に対する ELC の活性：末梢血を用いて ELC のターゲット細胞を調べた。ELC は単球や好中球には作用せず、リンパ球、特に活性化したリンパ球に対して強い遊走活性を示した。また ELC は CD45RO 陰性ナイーブ T 細胞と CD45RO 陽性メモリー T 細胞を両方とも同程度の活性で遊走した。レセプター CCR7 mRNA は活性化 T 細胞に強く発現し、また主に免疫組織内で強い発現が認められた。組織分布は ELC の発現とよく似ていた。リンパ節や虫垂において ELC、CCR7 mRNA はお互いに非常に近い領域に局在しており、免疫組織内でのリンパ球の移動に関与していることが示唆された。

第4章：レセプターCCR7を共有するSLCとELCの比較：CCR7をレセプターとするのはELCだけでなく、SLCという新しいCC型ケモカインもCCR7をレセプターとしていることが判った。そこで両者の活性を比較した。その結果、CCR7を発現させた細胞に対してはSLCとELCはほぼ同等の活性を示した(結合能、カルシウム濃度上昇の誘導能、遊走能)。しかし末梢血T細胞に対してはSLCはELCに比べ、カルシウム濃度上昇誘導能が弱かった。末梢血T細胞に対する結合実験の結果、両者の活性の違いは細胞上に発現しているレセプターへの親和性の違いであることが示唆された。

以上のことからELCがリンパ球に対して特異的に働く新しいカテゴリーのCC型ケモカインであることが明らかとなった。またELC(リガンド)、CCR7(レセプター)がどちらも免疫系の組織に強く発現しており、その局在も非常に近接していることなどから、従来のケモカインのように炎症反応において機能しているだけでなく免疫系の組織へのリンパ球のホーミング、あるいは組織内でのリンパ球の移動に関与していることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 東 市 郎
副 査 教 授 菊 池 九 二 三
副 査 教 授 矢 澤 道 生
副 査 講 師 劉 永 春

学 位 論 文 題 名

新規ヒト CC 型ケモカイン ELC とレセプター CCR 7 の同定 ならびにそのリガンド・レセプター系に関する研究

ケモカインは白血球に作用して、炎症部位へ細胞を遊走する活性を持つ低分子量のポリペプチドである。近年多くのケモカインが同定され、生体内で重要な働きをしていることが明らかにされつつある。本研究では新規ヒト CC 型ケモカイン ELC について、その cDNA をクローニングし、組換えタンパク質を用いてその活性について In vitro において検討したものである。

本論文の要旨は以下の 4 点である。

1. ELC の cDNA クローニングおよび組換え ELC タンパク質の作製：EST データベースを利用して新規ヒト CC 型ケモカインを検索し、cDNA をクローニングした。この遺伝子は染色体 9p13 に位置し、また mRNA は免疫系の組織に強い発現が認められることから、新しいタイプの CC 型ケモカインである可能性が考えられた。後の実験結果からこの新規ケモカインを EBI1-ligand chemokine : ELC と名付けた。後に行う実験に用いるため、2 種類の組換え ELC タンパク質を作製、精製した。

2. ELC のレセプター EBI1/CCR7 の同定：組換え ELC タンパク質を用いて、ELC が示すケモカインレセプター発現細胞に対する結合能、カルシウム濃度上昇の誘導能、遊走能について検討した。その結果 ELC のレセプターが EBI1 (Epstein-Barr virus-induced gene 1) であることを明らかとした。リガンドが判明した 7 番目の CC 型ケモカインレセプターであるので EBI1 を CCR7 と提唱した。

3. 末梢リンパ球に対する ELC の活性：末梢血を用いて ELC のターゲット細胞を調べた。ELC は単球や好中球には作用せず、リンパ球、特に活性化したリンパ球に対して強い

遊走活性を示した。また ELC は CD45RO 陰性ナイーブ T 細胞と CD45RO 陽性メモリー T 細胞を両方とも同程度の活性で遊走した。レセプター CCR7 mRNA は活性化 T 細胞に強く発現し、また主に免疫組織内で強い発現が認められた。組織分布は ELC の発現とよく似ていた。リンパ節や虫垂において ELC、CCR7 mRNA はお互いに非常に近い領域に局在しており、免疫組織内でのリンパ球の移動に関与していることが示唆された。

4. レセプター CCR7 を共有する SLC と ELC の比較 : CCR7 をレセプターとするのは ELC だけでなく、SLC という新しい CC 型ケモカインも CCR7 をレセプターとしていることが判った。そこで両者の活性を比較した。その結果、CCR7 を発現させた細胞に対しては SLC と ELC はほぼ同等の活性を示した(結合能、カルシウム濃度上昇の誘導能、遊走能)。しかし末梢血 T 細胞に対しては SLC は ELC に比べ、カルシウム濃度上昇誘導能が弱かった。末梢血 T 細胞に対する結合実験の結果、両者の活性の違いは細胞上に発現しているレセプターへの親和性の違いであることが示唆された。

以上の点から ELC がリンパ球に対して特異的に働く新しいカテゴリーの CC 型ケモカインであることが明らかとなった。また ELC(リガンド)、CCR7(レセプター)がどちらも免疫系の組織に強く発現しており、その局在も非常に近接していることなどから、ELC が免疫系の組織へのリンパ球のホーミング、あるいは組織内でのリンパ球の移動に関与していることが示唆された。本研究の成果は、ケモカインが炎症反応だけでなくリンパ球のホーミングなど広く免疫反応に関わっていることを示唆するものであり、ケモカインの生理活性に新たな知見を与えるものと考えられる。

よって、申請者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格を有するものと認めた。