

氏 名 (本籍)	あ べ ひろ ゆき 阿 部 弘 之
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 1 4 0 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 専 攻	東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科 (博 士 課 程) 病 理 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	ヒト新規白血球走化因子レセプター CRTH2 のマウスホモログ遺伝子の単離

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 菅 村 和 夫	教 授 佐 々 木 毅
	教 授 佐 竹 正 延	

論文内容要旨

【研究目的】

CRTH2 (Chemoattractant Receptor expressed on TH2 cells) は、ヒト株化 T 細胞クローンのうち、Th2 クローンに選択的に発現する分子として我々が同定した分子である。ヒト CRTH2 は、推定されるアミノ酸配列が典型的な 7 回膜貫通型レセプターの構造を持ち、既知の白血球走化因子レセプターのうちのいくつかと相同性を有していることから、新規の白血球走化因子レセプターであろうと考えられている。

CRTH2 の生体内における機能解析のためには、マウスを用いた実験系が必須であるとの認識から、今回我々はマウス CRTH2 遺伝子翻訳領域を含むゲノム遺伝子をクローニングした。

【研究結果】

ヒト CRTH2cDNA 全長をプローブとして、129SVJ マウスゲノムライブラリーをプラークハイブリダイゼーション法にてスクリーニングし、マウス CRTH2 翻訳領域を含むゲノム遺伝子をインサートして持つファージクローンを 1 個得た。このクローンには、マウス CRTH2 遺伝子翻訳領域と思われるイントロンを欠いた 1149bp のオープンリーディングフレームが含まれていた。推定される 382 アミノ酸からなる分子の構造は、典型的な 7 回膜貫通型レセプターであり、ヒト CRTH2 分子とアミノ酸レベルで 77 % の相同性 (Identity) があることが判明した。UPGMA 法により分子系統樹を作製したところ、マウスおよびヒト CRTH2 は、白血球走化因子レセプターファミリーに属する N-Formyl peptide receptor (FPR) サブファミリーの一員であることが示唆された。ホモロジー検索からも、FPR と最も高い 28 % の相同性 (アミノ酸レベルの Identity) が認められた。

得られたファージクローンのインサート (16.5kb) をプローブとして行った FISH 法による染色体マッピングでは、マウス CRTH2 遺伝子は第 19 番染色体 C 領域に存在することが判明した。FPR サブファミリーに属する白血球走化因子レセプター遺伝子群は、同一染色体上にクラスターを作って存在していることが、特にヒトにおいて示されている。マウス C5a レセプター遺伝子の染色体上の位置は現在のところ未定であるが、マウス FPR 遺伝子は、マウス CRTH2 遺伝子とは異なり第 17 番染色体上にマップされていた。この結果から、マウス CRTH2 遺伝子と FPR 遺伝子が互いに起源的に大きく隔たっている可能性も考えられた。

RT-PCR 法による mRNA 発現検索の結果、マウス CRTH2mRNA は、血球系、非血球系を問わず多系統の細胞株に恒常的に発現していた。さらに、ヒト CRTH2 は、株化 Th2 クローンに

選択的に発現しているのに対し、マウス CRTH2mRNA は、株化 Th1 クローン、Th2 クローンともに同等量の恒常的発現がみられた。臓器を用いた解析でも、肝臓、肺、腎臓、脳、心臓、胸腺、脾臓と、広範に mRNA の発現が認められた。しかしながら、いずれの場合も量的にはかなり少ない発現であった。このような発現パターンは、ヒト CRTH2 分子の発現様式と大きく異なったものである。今後の方向として、ヒトおよびマウス CRTH2 のリガンドの同定や、CRTH2 遺伝子欠損マウスの作出が必要であると考えられた。さらに、特異的抗体を用いて単一細胞レベルでの発現の詳細や、蛋白化学的性質を明らかにしていくことが、マウスおよびヒト CRTH2 分子の機能解明のために必要であると考えられた。

【研究の意義】

CRTH2 は、ヒト株化 Th2 クローンに選択的に発現し、Th1 クローンには発現していない分子として我々が同定した分子である。アミノ酸配列から、新規の白血球走化因子レセプターであることが想定されており、生体内における機能を解明することは種々の感染症や自己免疫疾患の病態の理解に貢献するものと思われる。生体内における CRTH2 分子の機能解明のためには、マウスを用いた実験系の確立、特に CRTH2 遺伝子欠損マウスの作出が極めて有用である。本研究では、生体内における CRTH2 分子の機能解明の第一歩として、マウス CRTH2 ゲノム遺伝子の単離とその発現の解析を中心に行った。マウス CRTH2mRNA の発現様式はヒトホモログのものとは大きく異なっていることが判明したが、引き続き CRTH2 遺伝子欠損マウスの作出などを行っていくことによって、CRTH2 分子の生体内での機能が明らかになるものとする。

審査結果の要旨

CRTH2 (Chemoattractant Receptor expressed on *TH2* cells) は、ヒト株化 T 細胞クローンのうち、Th2 クローンに選択的に発現する分子として申請者らが同定した分子である。典型的な 7 回膜貫通型レセプターの構造を持ち、既知の白血球走化因子レセプターと相同性を有していることから、新規の白血球走化因子レセプターと考えられている。

本論文は、CRTH2 の生体内における機能解析のためには、マウスを用いた実験系が必須であるとの認識から、マウス CRTH2 遺伝子翻訳領域を含むゲノム遺伝子をクローニングし、細胞レベル、臓器レベルにおける遺伝子発現を報告したものである。

ヒト CRTH2cDNA 全長をプローブとして、129SVJ マウスゲノムライブラリーをスクリーニングし、マウス CRTH2 遺伝子翻訳領域を含むゲノム遺伝子をクローニングした。マウス CRTH2 分子は、ヒト CRTH2 分子とアミノ酸レベルで 77% の相同性 (Identity) があることが判明し、さらに UPGMA 法により分子系統樹を作製したところ、マウスおよびヒト CRTH2 は、N-Formyl peptide receptor (FPR) サブファミリーの一員であることが示唆された。

FISH 法による染色体マッピングでは、マウス CRTH2 遺伝子は第 19 番染色体 C 領域に存在することが判明した。FPR サブファミリーに属する遺伝子群は、同一染色体上にクラスターを作って存在していることが、特にヒトにおいて示されている。マウス FPR 遺伝子は、マウス CRTH2 遺伝子とは異なり第 17 番染色体上にマップされていた。この結果から、マウス CRTH2 遺伝子と FPR 遺伝子が互いに起源的に隔たっている可能性も考えられた。

RT-PCR 法による mRNA 発現検索から、マウス CRTH2mRNA は、血球系、非血球系の多系統の細胞株に恒常的に発現している事が判明した。また、ヒト CRTH2 は、株化 Th2 クローンに選択的に発現しているが、マウス CRTH2mRNA は、株化 Th1、Th2 クローンともに同等量の恒常的発現がみられた。臓器レベルでは、肝臓、肺、腎臓、脳、心臓、胸腺、脾臓と、広範に mRNA の発現が認められた。

CRTH2 は、新規の白血球走化因子レセプターであることが想定されており、種々の感染症や自己免疫疾患の病態に関与している可能性がある。マウス CRTH2 ゲノム遺伝子の単離はマウスを用いた生体内における CRTH2 分子の機能解明のために必須なものであり、本研究の意義は大きい。よって、本論文は博士号授与に値する。