

論文審査の結果の要旨

氏名 廣中 克典

本論文は、グルタミン酸受容体 $\delta 2$ の会合分子PTPMEGを同定し、そのグルタミン酸受容体シグナル伝達系に及ぼす機能について述べられている。

チャンネル型グルタミン酸受容体は、その薬理特性や一次配列上の類似性より更にサブファミリーに分類される。このうち δ ファミリーは、その一次構造上の類似性から同定されたが、薬理特性やチャンネル活性について全く不明である。廣中克典君の研究の対象となるGluR $\delta 2$ は、小脳プルキンエ細胞に限局発現しており、GluR $\delta 2$ ノックアウトマウスの解析から小脳における正常な神経回路形成や運動学習に必須であることが示されている。グルタミン酸受容体の会合分子が多数同定されており、それぞれのグルタミン酸受容体複合体による脳機能制御の分子メカニズムの理解に多大な貢献を果たしてきた。本研究ではGluR $\delta 2$ の機能解析をするために、GluR $\delta 2$ 会合分子をyeast two-hybrid systemにより探索し、band4.1ドメイン、PDZドメインを持つ細胞質型チロシンフォスファターゼファミリーの一員であるPTPMEGを同定した。

In situ hybridization法により脳のPTPMEG発現部位を調べ、視床及びGluR $\delta 2$ の発現しているプルキンエ細胞で強い発現を見出した。免疫沈降法により再構成系及び脳内においてPTPMEGがGluR $\delta 2$ と会合することを示した。またGluR $\delta 2$ 会合分子PSD-93がNMDA受容体GluR ϵ サブファミリー会合分子でもあることやPTPMEGが強く発現する視床で全てのGluR ϵ サブファミリーが発現することから、PTPMEGとGluR ϵ サブファミリーとの相互作用を検討した。その結果、再構成系及び脳内においてPTPMEGがGluR $\epsilon 1$ と会合することを明らかにした。PSD-95をはじめとするグルタミン酸受容体会合分子の多くがPDZドメインを介してグルタミン酸受容体のカルボキシ末端と相互作用する。

そこでPTPMEG、GluR $\delta 2$ 及びGluR $\epsilon 1$ の欠失変異体を用いて、PTPMEGとこれら受容体の会合が、PTPMEGのPDZドメインと受容体のカルボキシ末端との相互作用によることを明らかにした。GluR ϵ サブファミリーのカルボキシ末端はサブユニット間で良く保存されており、PTPMEGがGluR $\epsilon 1$ 以外にもGluR $\epsilon 2-4$ とも会合する可能性を指摘している。GluR $\delta 2$ 及びNMDA受容体の会合分子には、PDZドメインを複数個持つ分子が数多く同定されているが、これらはscaffold proteinとして機能している。しかしPTPMEGは、PDZドメインを1個しか持たないこと、またチロシンフォスファターゼ活性を持っていることから、scaffold proteinとしてではなくグルタミン酸受容体シグナルを担う伝達分子もしくは受容体の機能制御分子であると考えられた。PTPMEGのグルタミン酸受容体シグナル伝達における機能を調べる為、NMDA受容体チャネル活性を増強するSrc型キナーゼFynによるGluR $\epsilon 1$ のチロシンリン酸化へのPTPMEGの寄与について調べ、PTPMEGが、そのチロシンフォスファターゼ活性依存的にFynによるGluR $\epsilon 1$ のチロシンリン酸化を正に制御することを示唆する知見を得た。

NMDA受容体は、細胞内にカルシウムイオンを流入させることで、可塑性などにおいて重要な働きをしている。NMDA受容体活性化に伴うカルシウムイオン濃度上昇によってカルシウム依存性プロテアーゼであるカルパインが活性化される。一方PTPMEGは、血小板において活性化されたカルパインにより分解・活性化されることが知られている。本論文で、グルタミン酸受容体の下流でPTPMEGがNMDA受容体刺激に伴いカルパインにより分解・活性化され、NMDA受容体活性制御などを行うというモデルを建てている。

本論文で廣中君は、GluR $\delta 2$ 及びGluR $\epsilon 1$ に会合する分子としてPTPMEGを同定し解析を進めた。これまでグルタミン酸受容体シグナル伝達系へのチロシンフォスファターゼの関与については全く解析がなされていなかったが、これによりチロシンフォスファターゼによるチャネル型グルタミン酸受容体シグナル伝達の制御という新しい研究分野が拓かれ、シナプス可塑性などの脳高次機能に寄与するグルタミン酸受容体シグナルの理解が異なる側面から更に深まることが考えられる。従って本学位論文は、生物化学の分野において博士（理学）の学位に値する内容であると審査した。

なお、本論文は、梅森久視、手塚徹、三品昌美及び山本雅らによる共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。