

審査の結果の要旨

氏名 橋本 彰子

本研究は、細胞機能調節に重要なメッセンジャーである細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が B 細胞受容体 (BCR) 刺激によって抑制される分子機構を明らかにする目的で、DT40 細胞の遺伝子欠損株を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度測定を行い、下記の結果を得ている。

1. Src homology2 domain containing inositolpolyphosphate 5'-phosphatase (SHIP) を欠損した細胞が受容体刺激によって大きな細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を起こす原因として、細胞内 Ca^{2+} ストアからの Ca^{2+} 放出の増大が確認された。また、 IP_3 増加量の測定から、 Ca^{2+} 放出の増大が IP_3 産生の増大によるものであることが示された。
2. 次に、SHIP 欠損細胞の容量性 Ca^{2+} 流入について調べたところ、BCR 刺激で活性化した Ca^{2+} 流入は大きくなっていった。しかし、小胞体 Ca^{2+} -ATPase 阻害薬を用いて活性化した容量性 Ca^{2+} 流入の大きさには変化が無かったので、SHIP が容量性 Ca^{2+} 流入機構そのものには影響していないことが示された。
3. 前述の結果から、SHIP は BCR 刺激による IP_3 産生を抑制することによって Ca^{2+} 放出を抑制し、その結果細胞内 Ca^{2+} ストアの Ca^{2+} 量があまり減らないので二次的に Ca^{2+} 流入も抑制して、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を抑制していることが明らかになった。
4. 次に BCR 刺激が Ca^{2+} 放出を介さずに容量性 Ca^{2+} 流入を調節する機構について調べた。 Ca^{2+} -ATPase 阻害薬を用いて容量性 Ca^{2+} 流入を誘発して

から BCR を刺激する実験から、BCR 刺激が容量性 Ca^{2+} 流入を抑制することを発見した。

5. BCR 刺激が容量性 Ca^{2+} 流入を抑制する機構について調べた結果、細胞膜の膜電位測定からは脱分極による機構があることが示され、Valinomycin を用いて膜電位を固定した条件下での実験からは膜電位に依存しない機構があることが示された。
6. BCR 刺激による容量性 Ca^{2+} 流入抑制に関わる分子を探すため細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に関わる 4 種類の分子をそれぞれ遺伝的に欠損した細胞について調べたところ、Lyn が関与していることが明らかになった。さらに、Lyn が脱分極に関わっていることと、膜電位に依存しない抑制には必要であることが示された。

以上、本研究は BCR 刺激が、 Ca^{2+} 放出抑制、脱分極、そして Ca^{2+} 放出にも脱分極にも依存しない機構を介して容量性 Ca^{2+} 流入を抑制していることを明らかにした。従来 BCR 刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に対して抑制をかける機構が存在することが知られており、それには $\text{Fc}\gamma\text{RIIB}$ などの抑制性受容体を同時に刺激する必要があると考えられていた。これに対して、本研究は BCR 刺激が自身の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇作用に対して自己抑制をかける機構を初めて明らかにし、リンパ球の細胞内シグナル伝達に関する研究に重要な知見を与えるものであり、学位の授与に値するものと考えられる。