

## 論文内容の要旨

論文題目「Activation and Tyrosine Phosphorylation of  
Proline-rich Tyrosine Kinase 2 (Pyk2) in FcεRI  
signaling in Mast Cells」

(肥満細胞の高親和性 IgE 受容体情報伝達に  
おけるチロシンキナーゼ Pyk2 の活性化および  
リン酸化に関する研究)

氏名 岡崎 仁

気管支喘息などのアレルギー性疾患において、肥満細胞は重要な役割を果たしている。肥満細胞の表面上には高親和性 IgE 受容体が存在し、抗原特異的 IgE の受容体への結合と多価の抗原によるその凝集により、ヒスタミンなどの炎症性メディエーターを含んだ細胞内顆粒の脱顆粒やサイトカイン、ケモカイン、アラキドン酸代謝産物等の産生および放出を引き起こす。高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) は3つのサブユニットα、β、γ鎖より構成されており、α鎖は IgE と結合し、β鎖およびγ鎖の細胞内ドメインは、受容体凝集に伴い、その細胞内チロシン残基がリン酸化され、チロシンキナーゼ Syk との結合がおきる。Syk はその下流の基質をリン酸化し、シグナルの要となっている。肥満細胞の脱顆粒において細胞外マトリックスへの接着がその増強効果を現すことは以前より報告されており、そのメカニズムの一つとして Focal Adhesion Kinase (FAK) の活性化の可能性が示唆されている。この研究では肥満細胞のモデル細胞の RBL-2H3 細胞をもちい、FAK ファミリーのもう一つのメンバーであるチロシンキナーゼ Pyk2 について、その肥満細胞における発現を報告し、

その活性化の機序を検討した。

肥満細胞のモデルとして確立されている rat の細胞株である RBL-2H3 細胞を用い、免疫沈降、およびウエスタンブロットティングにより、Pyk2 のチロシンリン酸化を検討したところ、活性化は受容体凝集後 10 分程度でピークに達した。また、Pyk2 のチロシンリン酸化は細胞内カルシウム濃度の上昇でも、プロテインキナーゼ C の活性化によってもおこることが示された。Pyk2 のチロシンリン酸化は細胞が細胞外マトリックスに非接着状態であるにもかかわらず上昇を見せないが、細胞外マトリックスの一つであるフィブロネクチンへの接着状態では抗原刺激後上昇した。この反応はおそらく、インテグリンを介しているものと推察される。インテグリンの細胞内領域は FAK を含む細胞内骨格蛋白質により接着斑複合体を構成している。RBL-2H3 細胞は古典的な接着斑複合体は作らないが、細胞刺激によりアクチンプラークを作り、FAK のチロシンリン酸化を引き起こす。FAK の場合と同様に細胞の接着は、その他の刺激と協調して Pyk2 のチロシンリン酸化を制御していると考えられた。さらに RBL-2H3 細胞の変異体である Syk の欠損した細胞株および遺伝子導入により Syk を発現させ再構成した細胞株を用い、Pyk2 のチロシンリン酸化には Syk が必須であることを示した。また肥満細胞上に存在する高親和性 IgE 受容体以外の受容体として G 蛋白質共役型受容体が存在するが、それにより細胞を刺激した場合には Pyk2 のチロシンリン酸化が見られるが、その場合 Syk は必要ではないことがわかった。また Pyk2 の変異体を用い、過剰発現しその機能を見た結果では脱顆粒などへの影響はほとんど見られなかったが、JNK の活性化に一部関与している可能性が示唆された。肥満細胞には Pyk2 と FAK の 2 つの異なる focal adhesion kinase が存在し、この研究では Pyk2 の活性化の機序および機能の一部が判明した。