

審査の結果の要旨

氏名 藤本 学

本研究は B リンパ球の抗原受容体を介するシグナル伝達において重要な役割を果たしていると考えられている CD19 による Src-family チロシンキナーゼの活性化メカニズムを明らかにするため、主として *in vitro* の系において CD19 の細胞内領域のうちどの部位が Src-family チロシンキナーゼ、特に Lyn の活性を高めるのに必要であるかを検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. Lyn 欠損マウスより脾臓 B 細胞を分離し、Lyn 欠損 B 細胞における CD19 のチロシンリン酸化を検討した実験では、野生型 B 細胞で抗原受容体架橋後に強く誘導される CD19 のチロシンリン酸化が、Lyn 欠損 B 細胞では全く認められず、Lyn の発現が CD19 のリン酸化に必要であることが示された。
2. CD19 欠損マウスおよび CD19 過剰発現マウスの B 細胞における Lyn の活性をキナーゼアッセイにて測定したところ、CD19 欠損 B 細胞では抗原受容体刺激後の Lyn の活性は野生型 B 細胞に比べて有意に低く、CD19 過剰発現 B 細胞では有意に高かった。また、CD19 過剰発現 B 細胞では刺激前の Lyn の活性も野生型に比べて高かった。従って、B 細胞における Lyn の活性化レベルは CD19 の発現量に相関し、CD19 により制御を受けている可能性が示唆された。
3. CD19 の細胞内領域に存在する 9 つのチロシン基を含むペプチドを用いて、Lyn によるリン酸化、およびそれらのリン酸化チロシンモチーフに対する Lyn の結合性を検討した。CD19 のチロシン基のうち Y-513 は Lyn によって効率よくリン酸化され、またリン酸化された Y-513 を含むモチーフは Lyn の SH2 基との結合力がもっとも強かった。この結果は、CD19 の Y-513 が Lyn によって最初にリン酸化され、他のチロシン基がリン酸化を受ける際の拠点となりうる可能性を示唆するものであった。
4. CD19 の細胞内領域をカバーする種々の長さの GST 融合蛋白を作製し、これらを基質としたキナーゼアッセイにより、Lyn の活性を高める領域を検索した。CD19 の Y-482 および Y-513 の 2 つのチロシン基を含む領域 (exon12-

14) は CD19 の細胞内領域全長 (exon 7-14) と同程度の Lyn の活性を高める能力を有していた。さらに、exon12-14 をカバーする蛋白のうち Y-513、Y-482 のいずれか一方でもフェニルアラニンに置換すると Lyn の活性の上昇は失われることから、この2つのチロシン基が同時に存在することが必要であると考えられた。

これらの結果より、抗原受容体架橋後、CD19 は Lyn により Y-513 が最初にリン酸化を受け、このリン酸化された Y-513 に結合した Lyn がさらに Y-482 をリン酸化し、そこにリクルートされた別の Lyn 分子との間で自己リン酸化により活性を上昇させる、というメカニズムが示唆された。マウスにおける CD19 欠損は免疫不全を呈し、反対に CD19 の過剰発現は自己免疫現象を呈することが知られている。CD19 は抗原受容体を介する B 細胞の活性化の閾値を調節する機能をもつが、本論文の知見はその活性化閾値を設定する分子内機構を説明するものと考えられる。以上、本論文は B 細胞の表面蛋白である CD19 が抗原受容体刺激による Lyn の活性の増加を新しい分子機構により制御している可能性を示しており、リンパ球のシグナル伝達の解明に重要な貢献をなすものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。