

論文審査の結果の要旨

氏名 横山 一剛

本論文は免疫系や神経系などの高次生命系での非受容体型チロシンキナーゼの標的タンパク質の同定、解析を試みたものである。本論文は2章からなり、内容を要約すると、以下のようになる。

第1章で述べられている BANK は特定の機能ドメインを持たない新規のタンパク質である。詳細な発現解析により、BANK は immature B ステージ以降の B 細胞に特異的に発現することを明らかにした。また B 細胞株を用いた解析から、BANK は BCR 刺激後、Syk によりチロシンリン酸化されることを明らかにした。

BANK を過剰発現する DT40 B 細胞株 BANK(1-755)細胞は、野生型 DT40 と比べて、BCR 刺激後の PLC- γ 2 のチロシンリン酸化、IP₃ 産生に変化は見られなかったが、細胞内プールからのカルシウム動員が増大していた。これは BANK が IP₃ 産生とは独立の経路で細胞内プールからのカルシウム動員を制御することを示唆する。また BANK(1-755)細胞において IP₃ 受容体(IP₃R)のチロシンリン酸化が増大していることを見出した。細胞内プールからのカルシウム放出は IP₃ 受容体型カルシウムチャネルが関わっている。IP₃R は Src 型キナーゼによるリン酸化でチャネル活性が上昇するが、BANK はこのリン酸化経路を調節することで BCR 刺激後のカルシウム動員を制御している可能性が示唆された。

BANK、IP₃R、Lyn の3者の相互作用を培養細胞での再構成系で調べた。その結果、BANK は Lyn とチロシンリン酸化依存的に結合すること、また BANK は IP₃R とも結合することが分かった。さらに IP₃R は Lyn によってチロシンリン酸化されるが、BANK を共発現させると IP₃R のチロシンリン酸化が顕著に増大した。以上より BANK は

scaffold タンパク質として IP₃R と Lyn の空間的な配置を調節することで、Lyn による IP₃R のリン酸化を促進していると考えられる。IP₃R と会合できない変異体 BANK(155-755)は Lyn による IP₃R のチロシンリン酸化を促進しなかった。また、この BANK(155-755)は B 細胞においても BCR 刺激後の細胞内プールからのカルシウム動員を増大させず、むしろ減少させた。このことは 3 者の物理的な会合の重要性を示している。

第 2 章で述べられている NYAN1 もまた特定の機能ドメインを持たないタンパク質である。詳細な発現解析により、NYAN1 は神経細胞に特異的に発現することを明らかにした。マウス脳において NYAN1 は出生後一週間以内に発現量が減少し始めることから、NYAN1 は神経細胞の後期の発達過程において機能している可能性が示唆された。

Fyn 欠損マウスにおいて NYAN1 のチロシンリン酸化は顕著に減少しており、NYAN1 は Src 型キナーゼによりリン酸化されていると考えられる。NYAN1 の Fyn によりリン酸化されるチロシン残基は 2 箇所あり、2 箇所とも PI3K p85 サブユニットの SH2 ドメイン結合コンセンサス配列に合致し、実際に神経細胞内で NYAN1 が p85 と結合し、Akt を活性化することを明らかにした。

海馬神経初代培養細胞に発現させた NYAN1 はスパインの先端部に強く発現した。さらに NYAN1 がシナプス可塑性に関わる NMDA 受容体複合体と会合していることを明らかにした。

またデータベース検索により、NYAN1 の 2 箇所のリン酸化チロシン残基周辺においてのみ NYAN1 と相同性を示すタンパク質が 2 分子存在することを明らかにし、NYAN2, NYAN3 と名付けた。NYAN2, NYAN3 とともに神経系に特異的に発現するが、NYAN1, 2, 3 の間で脳内における発現部位および経時的な発現パターンは異なってい

た。

NYAN2, 3 も Fyn によりチロシンリン酸化され、かつ NMDA 受容体複合体と会合していることから、NYAN ファミリーは全体的な構造はファミリー間で異なるが、機能的には共通して NMDA 受容体複合体からの PI3K-Akt シグナルを制御し、神経細胞の生存・機能調節に関わっていると示唆された。

以上、論文提出者は BANK や NYAN ファミリーなどの新規標的タンパク質の同定、解析を通して、免疫系や神経系などの高次生命系において、非受容体型チロシンキナーゼシグナル伝達経路の新しい役割を明らかにした。

なお、本論文第 1 章は I-hsin Su、手塚 徹、保田 朋波流、御子柴 克彦、Alexander Tarakhovsky、山本 雅との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。