

[別紙 1]

## 論文の内容の要旨

論文題目 マスト細胞における高親和性 IgE 受容体  
情報伝達機構における Syk/Cb1 複合体の  
機能解析

氏 名 太田 康男

アレルギー分野における一つの重要な研究のアプローチは、アレルギーを引き起こす細胞、主として血球細胞において、その細胞表面に発現する受容体からの情報伝達機構を解明し、それを制御する方法を見い出すことにあると考えられる。血球細胞における T 細胞受容体、B 細胞受容体、Fc 受容体などの抗原および免疫グロブリン受容体は、共通の機能および構造を有しており、それらすべての受容体は、リガンドが結合するサブユニットと細胞内にシグナルを伝達するためのサブユニットから成り立っている。これら受容体のシグナル伝達のサブユニットはすべて、主としてチロシンリン酸化を介して細胞内にシグナルを伝達する。またこれらの受容体は、ITAM と呼ばれるチロシンをベースにした活性化モチーフを有する。細胞内に存在する Src ファミリーチロシンキナーゼは、リガンド結合による受容体刺激後即座に活性化され、ITAM をチロシンリン酸化し、細胞の種類によって異なるが、Syk や Zap-70 チロシンキナーゼは、それらの SH2 ドメインを介して ITAM に結合し、活性化されと考えられている。その後これらのチロシンキナーゼは種々の下流の情報伝達物質をチロシンリン酸化することにより、細胞内に情報を伝達するのである。

Cb1 はこれらの抗原および免疫グロブリン受容体シグナル伝達系や他のチロ

シンキナーゼにより媒介される情報伝達系において顕著にチロシンリン酸化される物質の一つである。Cb1 は元来マウスのレトロウイルスである Cas-NS1 ウイルスの発癌に関与する遺伝子の細胞型ホモログとして同定された。その一次構造の解析から Cb1 はいくつかの特徴的なドメインを有することが明らかになった。すなわち N 末端の v-Cb1 癌遺伝子に相同な領域(1-357)、プロリンリッチな領域(481-688)、いわゆるロイシンジッパーモチーフ(855-906)などである。さらに SH2 ドメインが結合すると予想される多数の部位があり、プロリンリッチな領域は多数の SH3 結合モチーフを有する。

Cb1 はまた情報伝達において重要な多くの物質と結合することが知られている。これらのなかには Fyn、Zap-70、Btk などのチロシンキナーゼ、Grb2、Crk、Nck、PI3 キナーゼ p85 などのアダプター分子等が含まれる。さらに Cb1 のホモログである *C. elegans* の SLI-1 遺伝子産物は Ras 情報伝達系を抑制することが報告されている。しかしながら Cb1 の細胞内での機能やチロシンリン酸化された Cb1 のチロシンリン酸化により媒介される情報伝達系における役割については未だ不明のままである。

高親和性 IgE 受容体 (Fc $\cdot$ RI) はマスト細胞や好塩基球に発現し、アレルギーの発症に重要な役割を担っていると考えられている。IgE が結合する $\alpha$ 鎖と ITAM を有する $\beta$ 鎖、 $\gamma$ 鎖から成り、 $\gamma$ 鎖は S-S 結合にてホモダイマーを形成している。主としてリコンビナントワクシニアウイルスにより種々の物質を過剰発現させる系を用いて、高親和性 IgE 受容体情報伝達機構における Cb1、特に Cb1/Syk 複合体の機能の解析を試みた。

マスト細胞 (RBL-2H3) において高親和性 IgE 受容体刺激後 Cb1 は速やかにチロシンリン酸化された。次にマスト細胞にチロシンキナーゼ Lyn あるいは Syk とチロシンリン酸化能力の無い Lyn あるいは Syk を発現させ、受容体刺激後の Cb1 チロシンリン酸化を比較検討し、Lyn、Syk はともに Cb1 リン酸化に関与していることを解明した。Lyn は Syk の活性化に密接に関与していることからどのチロシンキナーゼが主として Cb1 リン酸化に関与しているかを解明するため、Lyn や Syk を発現していない非血球細胞 (NIH3T3) に高親和性 IgE 受容体を発現させた細胞系に、Cb1 と Lyn、Syk、Lyn+Syk を過剰発現させ、受容体刺激後の Cb1 チロシンリン酸化の程度を比較検討した。その結果 Cb1 チロシンリン酸化は主に Syk チロシンキナーゼにより司られていることを解明した。

主として Syk により Cb1 リン酸化が密接に司られていることが判明したため、次に Cb1 と Syk が細胞内で複合体を形成するか否かについて検討を加えた。その結果 Cb1 と Syk はマスト細胞内で複合体を形成するが、IgE 受容体刺激前後でそ

の量はほとんど不変であった。さらにマスト細胞内に Cb1 と Syk を過剰発現させ、IgE 受容体刺激前後におけるその複合体の解析を試みたが、Cb1/Syk 複合体は過剰発現しない系と同様に認められ、その量はやはり受容体刺激前後でほぼ不変であった。驚くべきことに Cb1 は高親和性 IgE 受容体刺激後顕著にチロシンリン酸化されるのにもかかわらず、Syk と複合体を形成する Cb1 にはほとんどチロシンリン酸化が認められなかった。

Syk 複合体内のチロシンリン酸化されない Cb1 の可能性としては、次に Syk によりチロシンリン酸化される Cb1 が複合体内に存在している可能性や複合体内の Cb1 自体が逆に Syk の活性化を調節している可能性などが考えられたが、それを解明するため、マスト細胞に Syk あるいは Syk+Cb1 を過剰発現させ、高親和性 IgE 受容体刺激後の Syk リン酸化の程度を比較検討した。その結果 Cb1 を過剰発現した細胞内において Syk チロシンリン酸化は有意に抑制された。さらに Cb1 を細胞内に発現すればするほど Syk チロシンリン酸化の程度は弱くなった。Syk が活性化されるためには Syk のチロシンリン酸化が必須であることから、過剰発現させるという非生理的条件下ではあるが、Cb1 は Syk の活性化を抑制しているものと推測された。

以上の結果より Cb1 はマスト細胞における高親和性 IgE 受容体の情報伝達系においてきわめて重要な物質であり、アレルギー反応の制御に関与しているものと推測される。