

氏 名	ひろ せ まさ ゆき 廣 瀬 正 幸
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2789 号
学位授与の日付	平 成 16 年 9 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Phosphorylation and recruitment of Syk by ITAM-based phosphorylation of tamalin (ITAM を基盤とするタマリンのリン酸化による Syk のリン酸化と動員)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 淀 井 淳 司 教 授 湊 長 博

論 文 内 容 の 要 旨

代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) は、7 回膜貫通型の G 蛋白共役型受容体で、シナプス長期増強・長期抑制を通じて、記憶、協調運動などに関与し、重要な生理的機能を有する。mGluR1/2/3/5 の細胞内の C 末端に存在する PDZ 結合ドメインに結合する蛋白としてクローニングされたタマリンは、様々な後シナプス蛋白や蛋白輸送に関わる分子に結合する足場蛋白であることが明らかにされていた。

本研究において、タマリンのアラニン豊富領域に、免疫系細胞の情報伝達において鍵となる免疫受容体チロシン依存性活性化モチーフ (ITAM) が存在し、さらにその機能を有することを示した。ITAM (YXXL/IX₆₋₉YXXL/I; X は任意のアミノ酸) は免疫受容体複合体の細胞内部分に存在し、リガンド結合により活性化された Src 型のチロシンキナーゼ (PTK) が ITAM 中の 2 つのチロシンをリン酸化し、そのリン酸化 ITAM に別の PTK である Syk が動員・活性化され、下流へ情報を伝える。

免疫系において ITAM と関連することが知られ、かつ脳にも存在する分子に関して検討し、ラット脳膜画分の免疫沈降法により、タマリンと c-Src および SHP-2 (チロシン脱リン酸化酵素) の結合、さらに、mGluR1 と c-Src, Fyn, Syk の結合を示した。mGluR1 の 7 回目膜貫通部分以降の C 末部分を段階的に削った変異体を用いた実験によれば、タマリンと c-Src は mGluR1 の C 末で互いに近傍に存在する。相互に関連を有する、タマリン、c-Src, Fyn, Syk が mGluR1 の C 末に集まり、情報伝達に関与していると考えられた。

タマリンと c-Src を COS-7 細胞に共発現させると、タマリンがリン酸化され、さらに mGluR1 を共発現させると、タマリンのリン酸化は著増し、mGluR1 の C 末がタマリンと c-Src を近づけ相互作用を容易にしているためと考えられた。タマリンの様々な部位のチロシンをフェニルアラニンに変えた変異体の解析によれば、ITAM コンセンサスの 2 つのチロシンが Src ファミリーキナーゼによってリン酸化され、そして、ITAM のリン酸化が Syk とタマリンとの結合に決定的に重要であった。また、タマリンは COS-7 細胞で Syk のリン酸化を増加させた。脱リン酸化酵素阻害剤の適用にて、タマリンのリン酸化は著増し、タマリンはチロシン脱リン酸化酵素により極めて脱リン酸化を受け易いと考えられた。神経細胞発達のモデルとされている P19 細胞培養系は、レチノイン酸によってタマリンの発現を誘導でき、かつ、Syk がその神経突起誘導に関わっているとされている。この細胞において、内在性タマリンがリン酸化され、さらにリン酸化タマリンと Syk が結合することを免疫沈降により示した。

以上の様に、神経細胞を専らの発現場所とするタマリンが、免疫系において情報伝達の鍵となる ITAM というモチーフを基盤として情報を伝える、新しいアダプター分子であることを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

タマリンは、グループ 1 の代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) の C 末端に結合する蛋白として同定され、種々の神経

細胞足場蛋白とも結合し、神経細胞の蛋白複合体形成に重要な役割を果たす。しかしながら、タマリンが細胞内情報伝達に関わるかどうかは不明であった。

申請者は、タマリンのアラニン豊富領域に、免疫系細胞の細胞内情報伝達系において鍵となる免疫受容体チロシン依存性活性化モチーフ (ITAM) が存在することを見だし、ラット脳膜画分および細胞発現系において、タマリン、c-Src, Fyn, Syk が mGluR1 の C 末に集積すること、又、細胞発現系において、タマリンの ITAM 配列の特徴的な 2 つのチロシンが Src ファミリーキナーゼによって選択的にリン酸化され、タマリンが ITAM リン酸化依存的に ITAM 下流チロシンキナーゼ Syk と結合し、タマリンによって Syk のリン酸化が上昇することを示した。さらに、神経細胞分化を示す P19 細胞を用いて、内在性タマリンがリン酸化され、リン酸化タマリンと Syk が結合することを示した。

以上の結果は、タマリンが神経細胞の蛋白複合体の足場蛋白として働くのみならず、ITAM を基盤として細胞内情報を伝える新しいアダプター分子として作用することを初めて示したものであり、神経科学の発展に寄与するところ大きい。

なお、本学位授与申請者は、平成16年7月20日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。