

氏名	谷口 将济
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位記授与番号	博甲第 4750 号
学位授与の日付	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科創薬生命科学専攻 (学位規則第 5 条第 1 項該当)
学位論文の題目	B 細胞受容体シグナルの活性化における亜鉛トランスポーター ZIP9 の役割に関する研究
論文審査委員	教授 森山 芳則 准教授 埴岡 伸光 准教授 表 弘志

学位論文内容の要旨

亜鉛は生体内における必須微量元素であり、生命活動において欠かすことのできない金属イオンである。亜鉛は単に生体内の栄養素としての機能を有するだけでなく、細胞内のセカンドメッセンジャーとしても働かせることが明らかになっており、様々な細胞においてその重要性が注目されている。しかしながら、B 細胞受容体 (BCR) シグナル伝達と亜鉛の関係については未だ明らかにされていない。著者は、BCR シグナル伝達における細胞内亜鉛の機能の解明を目的として、亜鉛トランスポーターのひとつである ZIP9 (SLC39A9) に着目し、ニワトリ DT40 細胞を用いて、細胞内亜鉛レベルの変化によるシグナル伝達分子のリン酸化への影響について研究を行った。

まず、DT40 細胞の野生株を用いて、亜鉛とリン酸化の関係について調べた。細胞膜透過性の亜鉛キレーターである TPEN 処理によって亜鉛を取り除いた状態では、抗 IgM 抗体刺激による Akt, 及び Erk のリン酸化の増強が抑制されていた。このことから、BCR シグナルの活性化には、亜鉛が必要であることが示唆された。また、Akt および Erk のそれぞれの上流因子である、PI3K および MEK の阻害剤を用いて検討を行なった結果から、ZnPy 刺激によるリン酸化の増強が、抗 IgM 抗体刺激の場合と同じパターンを示したことから、細胞内の亜鉛は Akt, Erk のリン酸化を直接的に増強するのではなく上流の因子に作用し、BCR シグナル経路を介してこれらの分子のリン酸化を増強していることが示された。次に、DT40 細胞の野生株、ZnT5, 6 および 7 の三重欠損 (TKO) 株、およびニワトリ Zip9 遺伝子欠損 (cZip9KO) 株を用いて Akt, Erk のリン酸化について調べた。その結果、野生株、TKO 株では ZnPy 刺激により Akt, Erk のリン酸化が増大したが、cZip9KO 株においてはこれらの分子のリン酸化の増強がみられなかった。また、cZip9KO 株においては、プロテインチロシンホスファターゼ (PTPase) 活性が著しく増大していたことから、PTPase 阻害を介したリン酸化の誘導に ZIP9 が必要である可能性が示唆された。加えて、ヒト Zip9 遺伝子 (hZip9) を導入した cZip9KO 株を用いて同様の実験を行った結果、ZIP9 の欠損により減弱していたリン酸化が hZip9 の導入により回復し、ヒトにおいても ZIP9 がリン酸化において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、抗 IgM 抗体刺激条件においても、ZIP9 の欠損により減弱されたリン酸化は、hZip9 の導入により回復していた。

さらに、細胞膜透過性亜鉛蛍光プローブである Newport GreenPDX および FluoZin-3 を用いて、それぞれの細胞株における細胞内の亜鉛の局在を共焦点蛍光顕微鏡により評価したところ、cZip9KO 株においては細胞質内の亜鉛レベルが低下し、ゴルジ体内に亜鉛が蓄積していることが明らかになった。また、ZnPy 刺激による細胞内亜鉛濃度の増加も観察されなかった。cZip9KO 株における細胞内亜鉛レベルの減少についても hZip9 の導入により回復することが確認された。以上の結果から、ZIP9 によってゴルジ体から細胞質に放出された亜鉛が、PTPase の阻害を介して BCR シグナル経路における Akt, Erk のリン酸化に影響を与えていることを明らかにした。

本研究における成果は、亜鉛トランスポーターや亜鉛代謝の異常に起因する疾患の解明と治療法開発および細胞内において機能を発揮するシグナル分子としてのメカニズムの解明に貢献することが期待される。

論文審査結果の要旨

亜鉛(Zn^{2+})は生体内における必須微量元素であり、生命活動において欠かすことができない。これまでの研究により、亜鉛は細胞に取り込まれ、細胞内セカンドメッセンジャーとして種々の生理機能を制御することがわかってきた。しかし、まだその全容解明にはほど遠い状況である。谷口氏は、博士論文において、B細胞受容体(BCR)のシグナル伝達における亜鉛の作用を研究した。特に、亜鉛トランスポーターの一種であるSLC39A9トランスポーター(ZIP9)に着目し、ニワトリDT40細胞(野生型ならびにZIP9ノックアウト細胞)を用いて細胞内亜鉛レベルの変動とシグナル伝達分子のリン酸化を指標に調べた。その結果、細胞内亜鉛レベルがBCRシグナルを制御していること、細胞内亜鉛レベルはZIP9により制御されていることを見いだした。さらに谷口氏は、それらの制御カスケードも解明した。以上の結果は、セカンドメッセンジャーとしての亜鉛の生理機構解明に新たな知見を与えるものである。一連の実験は、非常に注意深く立案されており、データの解釈と纏め方も適切である。論文自体も論理的にかつ簡潔に記載されている。結果の一つ一つは重厚であり、独創性も高く、多くの示唆を与え、今後の一層の発展が期待できる。大変に素晴らしい博士論文であると、審査員一同、認定した。