

Title	Functional analysis of Fyn tyrosine kinase and b-adducin in the mammalian central nervous system
Author(s)	後藤, 仁志
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47690">https://hdl.handle.net/11094/47690</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	後藤 仁志
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20878 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Functional analysis of Fyn tyrosine kinase and $\beta$ -adducin in the mammalian central nervous system (哺乳類中枢神経系における Fyn チロシンキナーゼ及び $\beta$ -adducin の機能解析)
論文審査委員	(主査) 教授 長谷 俊治  (副査) 教授 岡田 雅人 教授 八木 健 部長 永井 克也 助教授 奥村 宣明

#### 論文内容の要旨

Fyn は Src ファミリーチロシンキナーゼに属するチロシンキナーゼであり、中枢神経系に高発現している。これまでに *fyn* 遺伝子欠損マウスが概日リズムに影響を及ぼすことが発見され、概日リズムの中枢である視床下部視交叉上核において重要な働きをすと考えられていた。Fyn の視床下部における働きを解析する目的で、これまでに Fyn に結合するタンパク質として細胞骨格タンパク質である  $\beta$ -adducin が同定されていた。

本研究ではまず、Fyn による  $\beta$ -adducin のリン酸化部位を探索した。その結果、Fyn は  $\beta$ -adducin の 489 番目のチロシン残基をリン酸化することを明らかにした。この残基のチロシンリン酸化は *fyn* 遺伝子欠損マウスの脳抽出物で減弱していることから、実際に生体内で起こりうる反応であることを示した。更に、この部位におけるリン酸化は両者の相互作用及び細胞膜近傍へのアクチンの局在に寄与することを明らかとした。Adducin ファミリーに異常が認められる高血圧モデルラットでは Na,K-ATPase 活性に異常が認められる事から、 $\beta$ -adducin のチロシンリン酸化がその活性に与える影響を検討した。その結果、 $\beta$ -adducin はチロシンリン酸化依存的に粗膜画分における Na,K-ATPase の活性を上昇させる事を明らかとした。これらの事から  $\beta$ -adducin のチロシンリン酸化は膜近傍での Na,K-ATPase の活性化に影響を与えるものと考えられる。

次に、このチロシンリン酸化残基を特異的に認識する抗体を作成し、成体ラットの脳切片を用いた染色を行った。その結果、大脳皮質、海馬のニューロンや視床下部第三脳室近傍の細胞に免疫陽性像が認められた。これらのうち、視床下部第三脳室近傍の細胞はマーカーとの二重染色からタニサイトという特殊なグリア細胞であることが明らかとなった。また、非リン酸化型  $\beta$ -adducin もまたタニサイトに存在する事から  $\beta$ -adducin が実際にこの細胞においてリン酸化されている事を示唆する。このタニサイトが存在する部位は様々な神経核が存在する事から、どのような生理的条件下においてチロシンリン酸化が変化するかを検討した。その結果、48 時間絶食条件下でチロシンリン酸化  $\beta$ -adducin の陽性像の亢進が認められた。また、2-deoxy-D-glucose (2DG) の投与による一時的な糖欠乏によっても同様の変化が認められた。これらの事からチロシンリン酸化の変化は糖濃度依存的にタニサイトというグリア細胞で起こる可能性が示唆される。また、視床下部ではこれらの糖質欠乏に反応し、Na,K-ATPase の活性が増強する事

が既に報告され、タニサイトが摂食調節に関与する神経細胞を取り巻く微細環境を調節する可能性が考えられる。

更に、2DG は摂食を亢進する刺激である事から Fyn や  $\beta$ -adducin が糖欠乏状態をグリア細胞を通じて様々な神経細胞に伝達する機構に関与する新規の可能性を示唆する。

### 論文審査の結果の要旨

哺乳類の体内恒常性維持において、視床下部は中心的な役割を果たす。学位申請者は、Src ファミリーに属する Fyn チロシンキナーゼとこれと結合する  $\beta$ -adducin の視床下部におけるはたらきを明らかにする目的で、培養細胞およびラット脳を用いて両蛋白質の生化学的、細胞生物学的解析を行った。その結果、Fyn により  $\beta$ -adducin の 489 番目のチロシン残基がリン酸化されることを同定し、このリン酸化が細胞膜の Na,K-ATPase の活性化をもたらすことを見出した。次に、このリン酸化特異的抗体を作製して、免疫組織染色法にて脳内での  $\beta$ -adducin の挙動を調べたところ、視床下部第三脳室近傍のタニサイトと呼ばれるグリア細胞で  $\beta$ -adducin のリン酸化、非リン酸化型の分子種が発現していることを突きとめた。ここでのリン酸化は絶食や 2-deoxy-D-glucose による糖欠乏状態で亢進することを明らかにし、摂食調節に関わるシグナル伝達で機能している可能性を提唱した。これらの結果は、Fyn や  $\beta$ -adducin の中枢神経系における機能について新たな知見を加えるものである。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。