



Title	IFN- $\alpha$ / $\beta$ シグナルに関する Stat 2 alternative form の研究
Author(s)	杉山, 哲也
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39724">https://hdl.handle.net/11094/39724</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	杉山哲也
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第12450号
学位授与年月日	平成8年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	IFN- $\alpha$ / $\beta$ シグナルに関する Stat2 alternative form の研究
論文審査委員	(主査) 教授 三村務 (副査) 教授 真弓忠範 教授 馬場明道 教授 田中慶一

### 論文内容の要旨

サイトカインは、血球細胞の分化増殖や免疫系細胞の機能を制御する細胞間のシグナル伝達分子である。最近、サイトカインの細胞内のシグナル伝達を担う経路として、Ras-MAPK カスケードの他に Jak (Janus kinase)-Stat (signal transducers and activators of transcription) という経路が明らかにされた。著者は新たな Stat ファミリーをクローニングする目的で、Stat1 をもとに作成した SH2 近辺の degenerative プライマーを用いてマウス肝臓由来 mRNA を RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 法により解析した結果、Stat2 には SH2 domain に相当する位置でスプライシングの異なる isoform が存在することを発見した。本研究では、その alternative スプライシングによる isoform type c mRNA を同定し、解析した。

Stat2 mRNA には alternative スプライシングによってマウスでは 3 種類の isoform (type a, b, c) が、ヒトでは 2 種類の isoform (type a, c) が存在した。これらの新たに発見された isoform, type b, c は read through した領域でどちらも translation stop codon を含み翻訳が終了することが示された。マウス Stat2 type c mRNA の発現は type a 同様に多くの組織において認められたが、type a mRNA の方がかなり多量に発現していた。

ヒトとマウスのゲノム DNA を比較した結果、マウスでは 2 つのスプライシング donor site (gt) が、ヒトでは 1 つのスプライシング donor site (gt) が存在していることが確認された。これらのスプライシング部位の違いから、マウス Stat2 では 3 種類の、ヒト Stat2 では 2 種類の isoform を生じることが説明された。また、マウスとヒトにおけるエクソン 20 と 21 近辺の推定アミノ酸配列を比較した結果、Stat2 type a ではヒト、マウス間において、一次アミノ酸配列は非常によく保存されていたが、Stat2 type c で置き換えられた部分の配列が全く異なっていた。

Stat のアミノ酸配列は Stat ファミリーメンバー間においてホモロジーをもつが、ヒト Stat2 とマウス Stat3 で比較した結果、アミノ酸配列のみならずエクソン/イントロンの境界の位置が類似していた。Stat2 mRNA において alternative スプライシングが存在したエクソン 20 と 21 の境界も全く同じ位置に存在したが、Stat3 mRNA では alternative スプライシングは認められなかった。

最初に IFN のシグナル伝達を担う Stat1 と Stat2 は常に細胞質内に存在しており、type I IFN 刺激後数分以内に ISGF 複合体を形成して核に移行し ISG (IFN stimulated genes) の転写を開始させる。Stat2 のプロモーター領域にも ISGF3 の結合配列である ISRE (IFN-stimulated response element) が存在するため、IFN- $\alpha$  刺激により Stat2 自身も誘導されると考えられる。そこで、Stat2 type a と type c mRNA が IFN- $\alpha$  刺激により誘導され、

それらの誘導に違いが認められるか調べた。IFN- $\gamma$  前処置しておき IFN- $\alpha$  刺激した場合 (super induction), または IFN- $\alpha$  のみによって刺激した場合, Stat 2 type a と type c mRNA はともに誘導された。IFN- $\gamma$  前処置の有無によって type a と type c mRNA の誘導には若干の差異が認められた。

本研究において新たに同定されたヒト Stat 2 c と Stat 2 e は, これまでに報告されている Stat ファミリーメンバーの isoform が C 末端で alternative スプライシングを受けるのとは異なり, Stat の内部領域で alternative スプライシングを受けていた。その結果, Stat 2 c は C 末端領域 231 アミノ酸が 32 アミノ酸に置き換えられ, Stat 2 e は 405 アミノ酸が 23 アミノ酸に置き換えられた short form を生じると推定された。Stat 2 short form は Stat の転写因子としての機能に必須な SH 2 domain の半分, チロシンリン酸化部位, さらに転写活性化領域を欠くため転写因子として機能することができないと予想された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はインターフェロン (IFN)- $\alpha$  /  $\beta$  (type I) のシグナル伝達に重要な役割を果している JAK-Stat の内, Stat 2 について特に詳しく検討したもので, 以下の知見を得ている。

1. Type I IFN のシグナル伝達に関与する Stat 2 mRNA には alternative スプライシングによって生じる isoform が存在した。
2. Stat 2 type c mRNA は, 通常の Stat 2 type a mRNA と同様に様々な組織において発現が認められ, かつ IFN- $\alpha$  によって誘導された。
3. Stat 2 type a mRNA 発現量は多くの組織において Stat 2 type c mRNA 発現量よりかなり多かったが, type a mRNA 発現量の少なかった筋組織, 精巣では type a と type c mRNA 発現量は同じ程度であった。
4. ヒト Stat 2 type c form は C 末端 231 アミノ酸が 32 アミノ酸に置き換えられ, SH 2 domain の半分, チロシンリン酸化部位, 転写活性化領域を欠くと推定された。また, type e (type f) form は C 末端 405 アミノ酸が 23 アミノ酸 (type f では 51 アミノ酸) に置き換えられ, SH 3 domain を含む C 末端すべての領域を欠くことが示された。

以上のように本論文はインターフェロンのシグナル伝達について重要な新知見を得ており, 博士論文として価値あるものと認める。