



Title	Essential role of Stat6 in IL-4 Signalling
Author(s)	竹田, 潔
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40731
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 >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	たけだ きよし 竹 田 潔
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 7 2 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	Essential role of Stat6 in IL-4 Signalling (IL-4シグナル伝達における Stat6の役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岸 本 忠 三 (副査) 教 授 平 野 俊 夫 教 授 菊 谷 仁

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

IL-4は、免疫系で重要な役割を担う多彩な機能を持つサイトカインである。例えば、IL-4は生体内において、免疫グロブリンのIgEへのクラススイッチや、寄生虫感染やアレルギーで重要な役割を果たすTh2細胞への分化において必須のサイトカインである。しかし、IL-4がいかにしてこれらの機能を発揮するかは明らかとなっていない。IL-4は、2種のシグナル伝達系を活性化することが知られている。一つは、近年発見された signal transducers and activators of transcription (STAT) ファミリーの Stat6であり、いま一つは、増殖シグナルに関与すると言われている IRS ファミリーの4PSである。そこで、Stat6のIL-4シグナル伝達における役割を解析し、さらに Stat6の生体内での機能を解明することを目的とした。

【方法ならびに成績】

Stat6の生体内での機能を明らかにするため、ジーンターゲティング法により Stat6欠損マウスを作製した。Stat6遺伝子のターゲットベクターは、Stat6の活性化に必要な不可欠な SH2ドメインをネオマイシン耐性遺伝子に置き換えることにより作製した。これを、ES細胞(E14-1)に電気穿孔法により導入し、G418とガンシクロヴィルでセレクトし、相同組み換え体をPCR法でスクリーニングし、さらにサザンブロット法で確認した。その結果、2種の相同組み換え体を得た。これをC57BL/6マウスの胚盤胞に注入しキメラマウスを作製し、さらにヘテロマウスを得た。このヘテロマウス同士の交配合わせによりホモマウス(Stat6-/-)が誕生した。Stat6-/-マウスは、外見上何の異常も見られず、リンパ球の細胞数、分画にも変化は認められなかった。

まず、B細胞のIL-4によるCD23, MHC class IIの発現増強の解析を行った。野生型マウスでは、IL-4刺激でCD23, MHC class IIの発現が増強された。それに対しSTAT6-/-マウスでは、IL-4刺激によるCD23, MHC class IIの発現増強は全く認められなかった。LPS刺激では、野生型、STAT6-/-マウスともに同様のMHC class II発現増強が観察されたため、STAT6-/-マウスのB細胞におけるIL-4特異的なシグナルの障害が示唆された。

IL-4は、T,B細胞に対し他の因子と共に増殖活性を有する。そこで、休止期B細胞を取り出し、IL-4と抗IgM抗体で刺激した。野生型マウスでは、増殖反応が認めらるのに対し、STAT6-/-マウスでは全く反応がなかった。LPS刺激では、野生型、STAT6-/-マウスともに同様の増殖反応が観察された。次に、胸線細胞をIL-4+PMAで刺激し

た。野生型マウスでは、増殖反応が認めらるのに対し、STAT6^{-/-}マウスではほとんど反応がなかった。これも IL-2等の他の反応では、同様の増殖反応があるため、STAT6^{-/-}マウスのリンパ球において、IL-4特異的な増殖シグナル障害が示唆された。

IL-4は、免疫グロブリンクラススイッチの誘導や、Th2細胞への分化を促進する。そこで、*Nippostrongylus Brasiliensis*を感染させたマウスのT細胞のTh2サイトカイン産生を測定した。野生型マウスでは、IL-4、IL-5、IL-10のTh2サイトカイン産生が増強したが、STAT6^{-/-}マウスでは、全く反応がなかった。IFN- γ のTh1サイトカインはどちらも同様に産生していることから、STAT6^{-/-}マウスにおけるTh2反応の欠如が示唆された。次に、*Nippostrongylus Brasiliensis*を感染させたマウスの血清中の免疫グロブリン濃度を測定した。野生型マウスでは、IgEとIgG1の有意な上昇が認められた。それに対し、STAT6^{-/-}マウスでは、感染前からIgEは認められず、感染後もIgEの反応は全く認められなかった。IgG1反応は、認められるものの、野生型マウスに比べ10倍も低かった。

【総括】

以上の結果から、STAT6^{-/-}マウスではIL-4の主要な機能のすべてが障害されていることが証明された。IL-4はStat6と4PSの2種のシグナル伝達分子を活性化する。4PSは、IL-4からの増殖シグナルに必須と言われている。またSTATファミリーは、遺伝子発現には関わるが、増殖シグナルに関与しないと言われていた。しかし、今回の結果から、少なくともIL-4シグナル伝達においては、Stat6活性化が何らかの形で増殖シグナルに関わっていることが示唆された。また、IL-4シグナル伝達においてStat6が必須の分子であることが証明された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ジーンターゲティング法を用いて、Stat6欠損マウスを作製し、Stat6の生体内での機能を明らかにしたものである。サイトカインの機能発現においては、種々の細胞内シグナル伝達分子が重要な役割を果たすことが示唆されてきた。本研究から、Stat6欠損マウスにおいて、IL-4に関わる生体機能のすべてが障害を受けていることが明らかとなった。このことから、IL-4のシグナル伝達においてStat6が必須の分子であることが証明された。以上のような研究は、国際的にも高く評価されるものであり、単に1つの遺伝子の機能を明らかにしただけにとどまらず、サイトカインシグナル伝達系の生体における重要性を解明したものである。よって本研究は、学位論文に値するものと認められる。