

Title	The genomic structure and chromosomal localization of the mouse STAT3 gene
Author(s)	施, 維
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41623
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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	施 維
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 9 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成11年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	The genomic structure and chromosomal localization of the mouse STAT 3 gene. (マウス STAT 3 の遺伝子構造と染色体マッピング)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 菊 谷 仁 教 授 仲 野 徹

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

サイトカインにおける信号伝達は、主にチロシンキナーゼ/Ras/Raf/MAPキナーゼカスケードと JAK-STAT 経路の2つの経路から成っている。その中でも JAK-STAT 経路は、機能の重複性及び特異性というサイトカインの生物学的作用の特徴を最もよく説明できる経路として注目を集めている。この JAK-STAT 経路により活性化される一連の遺伝子群は、サイトカイン特異的な細胞分化や機能発現に関わり、また細胞増殖にとっても必須のものであると考えられている。STATファミリーの分子は、現在までに、STAT1からSTAT6までの6種類が報告されており、我々の研究室においては、STAT3がクローニングされている。STAT3は、IL-6ファミリーサイトカイン(IL-6, CNTF, Oncostatin M, LIF, IL-11, CT-1), G-CSF, EGFなどの刺激でJAKキナーゼを介してチロシンリン酸化を受ける。さらにリン酸化されたSTAT3分子は、そのチロシン残基とSH2 (Src homology 2) ドメインを介してホモダイマーを形成した後、核内に移行し特定の塩基配列に結合することにより種々の遺伝子の転写活性を誘導する。このようなサイトカインの生物学的作用に重要な分子であるSTAT3の機能をさらに解析する上でその遺伝子構造及び染色体上の位置を決定することは必須であると考えられる。そこで、本研究ではSTAT3のcDNAを用いて、STAT3の染色体遺伝子のクローニングを行い、その構造解析を行うとともに、マウスにおける染色体上の位置を決定した。

【方法ならびに成績】

1. マウス STAT3 cDNA をプローブとして、マウス genomic DNA ライブラリーをスクリーニングし、4種類のクローンを得た。次に、制限酵素マッピング、シーケンス、サザンブロットリングなどの方法を利用して、これらのクローンを解析し、以下の事実が明らかになった：(1) STAT3 遺伝子は、全長37kb以上にわたり、24個のエクソンからなる。(2) 最長のエクソンはエクソン1で235bpからなり、最短のものはエクソン12で31bpからなる。(3) SH2ドメインはエクソン19, 20, 21に分れて存在し、リン酸化を受けるチロシン残基はエクソン22に存在している。(4) また同じ STATファミリーである STAT2 とはアミノ酸レベルで約36%程度のホモロジーであるが、STAT2 の genomic DNA の構造との比較を行ったところエクソン数が同数でありかつ、その長さも類似している。
2. 次に、プロモーター部位を同定するため、マウス肝細胞より mRNA を調整し、逆転写酵素伸長法を用いて転写

開始点を決定した。

3. また、転写開始点から上流1200bpまでのプロモーター領域のDNA配列を決定したところ、NF-IL6結合配列、Ebox、CRE、SBE、GATAmotifやSP1結合配列等の幾つかの転写制御にかかわるcis-elementが見いだされた。このことはSTAT3の発現がこれらに結合する転写因子により調節されている可能性を示唆する。

4. 更に、ルシフェラーゼアッセイによりプロモーター活性を検討したところ上流1200bpまでの領域でコントロールと比べて、IL-6刺激前で134倍、IL-6刺激後で370倍の活性を示したことから、この領域がSTAT3の調節に重要であることが示された。

5. マウスSTAT3の染色体上の位置を決定するため、FISHマッピングを行ない、STAT3がマウス11染色体のD-E部位に位置することが明らかとなった。

【総括】

STAT3はIL-6ファミリーサイトカインのシグナル伝達において、最も重要な信号伝達分子の一つである。本研究においてマウスSTAT3の遺伝子構造を明らかとするとともに、そのプロモーター解析を行った。IL-6シグナル伝達にかかわるSTAT3は、またIL-6によって発現がpositiveに制御されている。最近IL-6刺激により誘導されるSTAT3の機能をnegativeにregulateする分子であるSSI-1が同定され注目を集めている。そういった意味からもSTAT3の発現調節機構の解析は、今後、サイトカインのもつ生物学的作用を考える上で重要になると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、Interleukin-6 (IL-6) family cytokine (IL-6, LIF, CNTF, OM, IL-11, CT-1) の信号伝達に必須の分子であるSTAT3に関して、その全genomic DNA構造を決定したものである。本研究によりSTAT3の発現調節機構、STAT family間のgenomic DNA構造の相同性及び染色体上の位置が明らかにされた。本研究をもとに、STAT3ノックアウトマウスも作成されSTAT3の詳細な生物的作用が明らかにされている。このように本研究は、今後もすべてのSTAT分子の研究の基盤となるといっても過言ではない。よって、本研究は学位論文に値するものと考えられる。