



Title	Requirement for distinct Janus Kinases and STAT proteins in T cell proliferation vs IFN- $\gamma$ production following IL-12 stimulation
Author(s)	安, 賢鍾
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41642">https://hdl.handle.net/11094/41642</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=" <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</a>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	安 賢 鍾
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 5 4 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 医学系研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Requirement for distinct Janus Kinases and STAT proteins in T cell proliferation vs IFN- $\gamma$ production following IL-12 stimulation (IL-12によるT細胞のIFN- $\gamma$ 産生及び増殖応答へのシグナル伝達機構)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 濱岡 利之
	(副査) 教 授 平野 俊夫 教 授 宮坂 昌之

## 論文内 容 の 要 旨

【目的】 IL-12はT細胞に作用してIFN- $\gamma$ 産生を誘導するのみならず、活性化T細胞の増殖も支持することが報告されている。そしてIL-12によってJAK 2, TYK 2のprotein kinaseが活性化され、STAT 3, STAT 4のリン酸化を誘導することが知られている。しかし、IL-12によって活性化されるJAK/STATの内どの分子がIFN- $\gamma$ 産生及び増殖応答に関与するのかは不明のままである。そこで本研究ではIL-12依存性T細胞株2D6とC57/BL6マウス脾臓細胞のConA blastを用いて、IL-12によるIFN- $\gamma$ 産生と増殖応答誘導のシグナル伝達機構を解析した。

【方法】 2D6はIL-12依存性T細胞株として樹立されたが、IL-2にも増殖応答性を示す。IL-12, IL-2それぞれで維持した2D6を2F6<sup>IL-12</sup>, 2D6<sup>IL-2</sup>両亜株として用いた。IL-12レセプターの発現はFACS及びRNase protection assayで検出した。T細胞クローンの増殖応答は<sup>3</sup>H-TdRの取り込みにより、IFN- $\gamma$ はELISA法により測定した。JAK-STATファミリーのリン酸化はWestern Blot法で、DNA-binding activityはゲルシフトアッセイを用いて解析した。

【成績】 (1) 2D6<sup>IL-12</sup>, 2D6<sup>IL-2</sup>両亜株はIL-12レセプター(IL-12R)をほぼ同等に発現している。従ってこの両亜株のIL-12に対する増殖応答には差がなかった。(2)しかしながらIL-12刺激を行なうと、2D6<sup>IL-12</sup>では強いIFN- $\gamma$ 産生及びTYK 2によるSTAT 4のリン酸化を示した。一方、2D6<sup>IL-12</sup>ではTYK 2/STAT 4のリン酸化及びIFN- $\gamma$ 産生はほとんどみられなかった。(3)IL-12による増殖応答へのシグナル伝達を解析する為、IL-12刺激によるTYK 2, STAT 4以外のJAK/STAT系の活性化をみた。JAK 2とSTAT 5のリン酸化が観察され、両亜株でのこれら二つの分子のリン酸化はほぼ同等であることが分かった。(4)T細胞をIL-2で刺激した時STAT 5のリン酸化はJAK 3によって引き起こされることが知られている。そこで2D6細胞のIL-12刺激においてみられたSTAT 5のリン酸化がJAK 3によって誘導されているのか否かについて検討した。2D6<sup>IL-12</sup>及び2D6<sup>IL-2</sup>ではIL-12刺激後、JAK 3の活性化が惹起されないにもかかわらずSTAT 5がリン酸化されていた。更に興味深いことに、JAK 2がSTAT 5に結合していることが分かった。B6マウスのConA blastにおいてもIL-12によるJAK 2とSTAT 5の活性化と両分子の結合が認められた。即ち、2D6<sup>IL-12</sup>及び2D6<sup>IL-2</sup>におけるIL-12の増殖誘導は、IL-3依存性細胞株において働くことが報告されているJAK 2-STAT 5の増殖誘導システムを利用している可能性が示唆された。(5)更

に、両亜株を IL-12刺激した際に観察されたリン酸化STAT4とリン酸化STAT5がDNA binding能を示すことがゲルシフトアッセイで確認された。

【総括】IL-12によって刺激されたT細胞はIFN- $\gamma$ 産生と増殖応答を誘導するが、両応答に関与するシグナル伝達分子が異なる。即ち、前者のシグナル伝達にはTYK2とSTAT4が関与し、後者にはJAK2とSTAT5が関与していることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

IL-12はT細胞に作用してIFN- $\gamma$ 産生誘導及び活性化T細胞の増殖応答をもたらすことが知られている。更にその機構としてはprotein kinaseであるTYK2, JAK2とtranscription factorであるSTAT4が関与していることが報告されている。しかしながらTYK2, JAK2, STAT4の各分子がどのような組み合わせでIL-12によるIFN- $\gamma$ 産生の増殖応答を惹起するのかは不明のままであった。そこで本論文ではIL-12によるIFN- $\gamma$ 産生と増殖応答にJAK/STATの内、どのような分子が協同で働くのかについて検討した。その結果、IL-12によるIFN- $\gamma$ 産生にはTYK2-STAT4が関与していることが示され、増殖応答にはJAK2-STAT5が重要な役割を担っていることが示唆された。今回明らかにされた結果はIL-12によるシグナル伝達経路におけるJAK/STATの位置づけを初めて示したものである。従って、本研究はIL-12によるIFN- $\gamma$ 産生と増殖応答を制御する手段を考察し、そのメカニズムを解析していく上で重要な知見を提供するものと考えられる。