



Title	Requirement for distinct Janus Kinases and STAT proteins in T cell proliferation vs IFN- γ production following IL-12 stimulation
Author(s)	安, 賢鍾
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41642
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	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- γ production following IL-12 stimulation (IL-12によるT細胞の IFN- γ 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- γ 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- γ 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- γ 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^{IL-12}, 2D6^{IL-2} 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 ³H-TdR の取り込みにより, IFN- γ 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^{IL-12}, 2D6^{IL-2} 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^{IL-12}では強い IFN- γ 産生及び TYK 2 による STAT 4 のリン酸化を示した。一方, 2D6^{IL-2}では TYK 2/STAT 4 のリン酸化及び IFN- γ 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^{IL-12}及び 2D6^{IL-2}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^{IL-12}及び 2D6^{IL-2}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 STAT 4 とリン酸化 STAT 5 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- γ 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 TYK 2 と STAT 4 が関与し、後者には JAK 2 と STAT 5 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- γ 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 TYK 2, JAK 2 と transcription factor である STAT 4 が関与していることが報告されている。しかしながら TYK 2, JAK 2, STAT 4 の各分子がどのような組み合わせで IL-12 による IFN- γ 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- γ 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- γ 産生には TYK 2-STAT 4 が関与していることが示され、増殖応答には JAK 2-STAT 5 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- γ 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。