

Title	Defective Thymocyte Development and Perturbed Homeostasis of T cells in STAT-Induced STAT Inhibitor-1/Suppressors of Cytokine Signaling-1 Transgenic mice
Author(s)	藤本, 穰
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42634
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	藤本 稔
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 16071 号
学位授与年月日	平成13年3月23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	Defective Thymocyte Development and Perturbed Homeostasis of T cells in STAT-Induced STAT Inhibitor-1 / Suppressors of Cytokine Signaling-1 Transgenic mice (SSI-1 / SOCS-1 トランスジェニックマウスにおける胸腺細胞の発達欠損とT細胞の恒常性の異常)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次 (副査) 教授 内山 安男 教授 長田 重一

論文内容の要旨

【目的】

サイトカインの信号伝達においては JAK (Janus kinase) および STAT (Signal transducers and activators of transcription) を介する信号伝達経路 (JAK-STAT pathway) が主要な役割を果たしている。1997年に報告された SSI-1 (STAT-induced STAT inhibitor-1) は、中央の一ヶ所の SH2 領域とその C 末側の SC motif を構造的特徴としており、各種細胞株を用いた実験結果から、JAK ファミリーのキナーゼ作用を阻害しサイトカインの信与伝達を抑制する分子であると報告された。しかしながら、その後の報告では、SSI-1 が JAK 以外の分子に作用する可能性も指摘されてきている。今回、T 細胞系に特異的なプロモーターである lck proximal promoter を利用して、SSI-1 を T 細胞系に強発現させたトランスジェニックマウス (lck-SSI-1 トランスジェニックマウス) を作製し、生体内の T 細胞における SSI-1 のはたらきを検討した。

【方法ならびに成績】

トランスジェニック (Tg) マウス作製後、その遺伝子型を PCR 法にて確認し、transgene の発現をウェスタンブロット法を用いて検討したところ、Tg マウス胸腺における SSI-1 の高発現が確認された。

肉眼的観察にて Tg マウスの胸腺には著明な萎縮がみられ、胸腺の細胞数は正常コントロールの約 6 分の 1 に減少していた。Tg マウスの胸腺細胞減少の原因をフローサイトメトリーを用いて検討したところ、triple negative stage (CD3⁻CD4⁻CD8⁻) における partial developmental block と $\gamma\delta$ T 細胞の減少を認め、幼若 T 細胞分画に異常をきたしていることが明らかとなった。また、Tg マウスでは脾臓も軽度萎縮しており、脾臓の T 細胞数を算出したところ、正常コントロールの約 10 分の 1 にまで減少していた。Tg マウスの末梢 T 細胞における異常についてもフローサイトメトリーにてさらに検討した。Tg マウスの脾臓 T 細胞では、CD44 発現の上昇と CD62L 発現の減少を認め、また、アネキシン-V 結合性細胞の割合が正常コントロールの約 5 倍に増加していた。この結果より Tg マウスでは、末梢 T 細胞の活性化およびアポトーシスの亢進が起きていることが示唆された。

以上の Tg マウスの表現型は、X 染色体伴性重症複合型免疫不全 (X-SCID) のモデルマウスである、共通 γ 鎖 (γ_c) や JAK3 のノックアウトマウスの T 細胞系の異常に極めて類似していた。そこで、 γ_c /JAK3 を介するサイトカインである IL-2、IL-4、IL-7 刺激に対する胸腺細胞の増殖反応を、WST-8 (MTT 改良法) を用いて検討したところ、いずれのサイトカインに対しても Tg マウスの胸腺細胞は低反応を示した。このことから Tg マウ

スで認められた異常は、 γ_c /JAK3を介するサイトカイン信号伝達が阻害されたことによるものと考えられた。

一方、IL-6、IFN- γ といった γ_c /JAK3を介さないサイトカインに対する胸腺細胞の反応をウエスタンブロット法で検討したところ、刺激後のSTAT3、STAT1のチロシンリン酸化レベルがTgマウスでは著明に減弱していた。従ってSSI-1の作用が γ_c /JAK3を介するサイトカインのみに特異的ではないことが示唆された。なお、Tgマウスと γ_c /JAK3のノックアウトマウスの表現型の間には一部一致しない点もみられたが、これは*lck proximal promoter*の活性が末梢T細胞において減少するためと考えられた。

【総括】

今回の解析から、SSI-1が γ_c /JAK3を介するサイトカインやIL-6、IFN- γ といったサイトカインの作用を抑制することが明らかとなった。この結果はSSI-1がJAKファミリーの制御因子であるという概念を強く支持するものであり、SSI-1が生体においてもJAKの作用を阻害し、サイトカインの信号伝達を抑制することが示唆された。さらに今回の結果より、SSI-1の作用は、ある特定のサイトカインに特異的なものではなく、広範な種類のサイトカインに対して抑制的にはたらくものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、サイトカインのネガティブフィードバック因子として報告されたSTAT-induced STAT inhibitor-1 (SSI-1)の生体における作用を明らかにする目的で、T細胞系、特に胸腺細胞にSSI-1を強発現するトランスジェニックマウス (*lck-SSI-1*) を作製し、解析を加えたものである。

Lck-SSI-1 トランスジェニックマウスは共通 γ 鎖 (γ_c)/JAK3のノックアウトマウスと類似したT細胞減少を呈し、その胸腺細胞は γ_c /JAK3を介するサイトカインであるIL-2、IL-4、IL-7の刺激に対して低反応を示した。さらに、このマウスの胸腺細胞では、IL-6やIFN- γ 刺激によるSTATのリン酸化も抑制されていた。この結果は、SSI-1がサイトカインの信号伝達を抑制すること、しかも特定のサイトカインやSTATに対する特異性を持たないことを示しており、SSI-1が生体内においてもJAKの負の制御因子という従来報告のない概念の分子として作用することが示唆された。

生体におけるサイトカインの制御機構を詳細に解明することは、免疫疾患や腫瘍性疾患の病態を理解する上で非常に重要であり、本研究はその端緒として大きな意義を持つと考えられる。よって本論文は学位の授与に値するものと考えられる。