



Title	SOCS-1/SSI-1-Deficient NKT Cells Participate in Severe Hepatitis through Dysregulated Cross-Talk Inhibition of IFN- $\gamma$ and IL-4 signaling In Vivo
Author(s)	仲, 哲治
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/43235">https://doi.org/10.18910/43235</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	なか 哲 治
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 5 1 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	SOCS-1/SSI-1-Deficient NKT Cells Participate in Severe Hepatitis through Dysregulated Cross-Talk Inhibition of IFN- $\gamma$ and IL-4 signaling In Vivo (SOCS-1/SSI-1 を欠損した NKT 細胞は、IFN- $\gamma$ と IL-4 シグナル伝達のクロストーク阻害の調整ができなくなり、生体肝において重篤な肝炎を引き起こす)
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】

生体内における SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling)-/SSI (STAT-Induce STAT Inhibitor)-1 の作用の解析

#### 【方法ならびに成績】

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) は、サイトカインの信号伝達において主要な役割を果たしている。1997年にわれわれは、STAT により発現誘導され 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号伝達を抑制する分子、SOCS (Suppressor Of Cytokine Signaling)-/SSI (STAT-Induce STAT Inhibitor)-1 (以下 SOCS-1 に統一) を報告した。SOCS-1 は、中央の一ヶ所の SH2 領域とその C 末側の SC motif を構造的特徴とする分子であるが、その構造的特徴により、現在では 8 個の遺伝子よりファミリーを形成することが判明した。その後、SOCS-1 の生体での機能およびファミリー間の機能の重複を解明するために、われわれは SOCS-1 ノックアウトマウス (KO mouse) を作成し解析した。SOCS-1 KO mice は、加齢とともに著明な成長不全、胸腺、脾臓細胞の減少、肝細胞の脂肪変性を伴う壊死を呈し、生後 3 週間以内に全例死亡することが明らかになった。しかしながら、SOCS-1 KO mice の解析では、SOCS-1 のサイトカインおよび JAK、STAT に対する特異性を十分に解明することはできなかった。今回、われわれは相反する機能を持つサイトカインである IFN- $\gamma$  と IL-4 のそれぞれの下流で働く STAT1、STAT6 と SOCS-1 のダブルノックアウトマウス (SOCS-1/SSTAT1、SOCS-1/STAT6 DKO) を作製し、SOCS-1 のサイトカインおよび JAK、STAT に対する特異性を検討した。

SOCS-1/STAT1 および SOCS-1/STAT6 DKO mice は、SOCS-1 KO mice に比べ明らかに成長不全は改善し、また 50% 以上のマウスが 6 ケ月以上生存した。各組織におけるフェノタイプは、胸腺、脾臓の萎縮および胸腺細胞、脾細胞の減少も完全ではないが明らかに改善していた。しかしながら、興味深いことに SOCS-1 KO mice で認められる脂肪変性を伴った肝細胞の壊死は、それぞれの DKO mice では完全に消失していた。また、SOCS-1 の胎児肝細胞を RAG2 KO mice に移植し、SOCS-1 欠損リンパ球を RAG2 KO mice で再構成させたところ、SOCS-1 KO mice で認められるフェノタイプがほぼすべて再現された。すなわち、SOCS-1 で認められる肝細胞壊死などの臓器傷害は SOCS-1 欠損リンパ球により引き起こされることが明らかになった。ここで、われわれは DKO mice で完全にフェ

ノタイプが消失する肝臓に焦点を絞り解析した。コントロールマウスに比べ、SOCS-1 KO mice の肝臓では活性化された NKT 細胞の数が増加していた。さらに、SOCS-1 KO mice の肝リンパ球を同じ遺伝背景を持つマウスの肝細胞と共培養し、肝細胞に対する傷害性を解析したところ、SOCS-1 KO mice のリンパ球は著明な肝細胞傷害性を示した。この肝細胞傷害性は、NK1.1抗体でリンパ球を処理すると著明に抑制されるが、anti-asialo GM1 で処理しても抑制されなかった。この結果から、肝細胞傷害性は NKT 細胞に起因するものであることが示唆された。また、SOCS-1 KO mice の抹消リンパ球を IFN- $\gamma$  であらかじめ刺激し IL-4 刺激による STAT6 活性化を western blot により解析したところ、IFN- $\gamma$  による STAT6 活性化抑制が SOCS-1 欠損リンパ球では認められなかった。NKT 細胞は IFN- $\gamma$  および IL-4 の両方の受容体を発現しており、両方のシグナルを同時に伝達しうる。これらの結果から、SOCS-1 欠損 NKT 細胞は IFN- $\gamma$  および IL-4 の両方のシグナルを同時に伝達されることにより、異常に活性化され肝細胞傷害性を持つようになることが示唆された。実際、発病前の生後 3 日の SOCS-1 KO mice に、IFN- $\gamma$  および IL-4 の両方のサイトカインを同時に腹腔内投与することにより、肝細胞の変性壊死が再現された。

#### 【総括】

今回の結果は SOCS-1 がサイトカインにより誘導され、JAK を制御することにより次のサイトカイン刺激が細胞内に伝達されないように制御する因子であることを支持する結果である。すなわち、SOCS-1 は、生体でサイトカインのクロストーク阻害に重要な作用をもつ分子であることが明らかとなった。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、サイトカインの negative feedback factor として報告された STAT-Induced STAT Inhibitor-1 (SSI-1/SOCS-1) の in vivo における作用を明らかにする目的で、IFN- $\gamma$  の下流で作用する STAT1 と IL-4 の下流で作用する STAT6 のそれぞれと SSI-1/SOCS-1 の double KO マウスを作成し、解析を加えたものである。

SOCS-1 KO マウスは、加齢とともに胸腺、脾臓の萎縮、肝細胞の脂肪変性および肝細胞壊死などの多彩な病変を示し、生後 3 週間以内に全例死亡する。また、SOCS-1 KO マウスに認められる各病変は RAG2 KO マウスに SOCS-1 KO マウスのリンパ球を移植することでほぼ再現できる。すなわち、SOCS-1 KO マウスの多彩な病変は SOCS-1 を欠損したリンパ球により引き起こされていることが示唆された。SOCS-1/STAT1 DKO マウスおよび SOCS-1/STAT6 DKO マウスは、ともに寿命が延長し、胸腺、脾臓における病変も部分的に改善した。しかし、肝臓の病変は SOCS-1/STAT1 DKO マウスおよび SOCS-1/STAT6 DKO マウスのどちらのマウスにおいても、完全に回復した。すなわち、この結果は肝病変には STAT1 と STAT6 の両方の活性化が必要であることを示唆するものである。また、SOCS-1 KO マウスの肝臓では、活性化した NKT 細胞が数多く認められた。in vitro で SOCS-1 KO マウスの hepatic lymphocytes は、自己と同じ遺伝背景をもつ肝細胞に対して細胞傷害性を示す。しかし、その hepatic lymphocytes を anti-asialo GM1 で処理しても変化を示さないが、NK1.1細胞を除去すると細胞傷害性を示さなくなった。そして、SOCS-1 KO マウスの T cells は IFN- $\gamma$  による IL-4 誘導性の STAT6 のリン酸化の抑制が認められなくなっていた。以上から、SOCS-1 は IFN- $\gamma$  の IL-4 抑制作用に重要な役割を持つ分子であり、この分子が欠損すると、その抑制作用が消失し IFN- $\gamma$  と IL-4 のシグナルが、両方のサイトカインレセプターをもつ NKT 細胞などの細胞内に同時に伝達されることが示唆される。これらの結果から、SOCS-1 KO マウスの肝病変は、SOCS-1 を欠損した NKT 細胞が、相反する生理作用をもつ IFN- $\gamma$  と IL-4 のシグナルが同時に作用することにより、異常に活性化されて自己の肝細胞に対して傷害活性をもつようになり、肝臓の脂肪変性、肝細胞死などの肝病変を引き起こすことが示唆された。すなわち、SOCS-1 は in vivo で IFN- $\gamma$  と他のサイトカインシグナル伝達との cross-talk inhibition に重要な分子であると考えられた。

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る。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。