



Title	Differential effect of a novel IFN- $\zeta$ /limitin and IFN- $\alpha$ on signals for Daxx induction and Crk phosphorylation that couple with growth control of megakaryocytes
Author(s)	石田, 尚子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45387">https://hdl.handle.net/11094/45387</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	石田 なお 子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19296 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Differential effect of a novel IFN- $\zeta$ /limitin and IFN- $\alpha$ on signals for Daxx induction and Crk phosphorylation that couple with growth control of megakaryocytes (巨核球前駆細胞における新規インターフェロン IFN- $\zeta$ /limitin の生理活性とシグナルに関する特徴)
論文審査委員	(主査) 教授 金倉 譲  (副査) 教授 青笹 克之 教授 下村伊一郎

## 論文内容の要旨

## 「目的」

インターフェロン(IFN)- $\zeta$ /limitin は、IFN- $\alpha$  とアミノ酸配列相同性を有すること、IFN- $\alpha/\beta$ 受容体と結合すること、抗ウイルス作用を有することから、新しい I 型 IFN として the Nomenclature Committee of the International Society for Interferon and Cytokine Research により認められた。IFN- $\zeta$ /limitin は、IFN- $\alpha$  と異なり骨髓球系細胞や赤芽球系細胞の増殖抑制作用を持たない特徴を有し、骨髓抑制作用が少ない新種の IFN としてその臨床応用が期待されている。本研究では、IFN- $\zeta$ /limitin の巨核球前駆細胞増殖に及ぼす作用とそのシグナル伝達経路を解析した。

## 「方法ならびに成績」

1. IFN- $\zeta$ /limitin の巨核球前駆細胞に及ぼす影響

IFN- $\zeta$ /limitin と IFN- $\alpha$  の巨核球前駆細胞増殖に及ぼす影響を CFU-Meg コロニー形成にて解析した。IFN- $\zeta$ /limitin・IFN- $\alpha$  とともに巨核球前駆細胞(CFU-Meg)コロニー形成を濃度依存性に減少させたが、CFU-Meg コロニー形成抑制には IFN- $\alpha$  と比較してより高濃度の IFN- $\zeta$ /limitin が必要であった。マウス骨髓細胞を Thrombopoietin と Interleukin-11 存在下無血清培地で約 5 日間培養すると、80% の培養細胞が  $\alpha$  IIb/CD41 陽性となり巨核球が出現する。この培養系に IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  を添加すると、IFN- $\zeta$ /limitin による細胞増殖抑制作用は IFN- $\alpha$  と比較して軽微であった。しかし、IFN- $\zeta$ /limitin・IFN- $\alpha$  とともに巨核球出現や  $\alpha$  IIb/CD41 発現には影響を及ぼさなかった。以上より、IFN- $\zeta$ /limitin は IFN- $\alpha$  と比較して巨核球系細胞増殖抑制作用が少ないことが明らかとなった。

## 2. 巨核球前駆細胞増殖抑制に関わるシグナル伝達経路

IRF-1, Tyk2, Stat1 各欠損マウス由来骨髓細胞の CFU-Meg コロニー形成を IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  存在下で検討した。Tyk2 や Stat1 を欠損すると、IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  による CFU-Meg コロニー形成抑制作用がほぼ消失した。一方、IRF-1 の欠損は、CFU-Meg コロニー形成抑制作用には影響を及ぼさなかった。さらに、C57BL/6 マウス由来骨髓細胞をアンチセンスオリゴで処理し Tyk2 下流分子である Daxx や Crk の蛋白発現を消失させると、IFN-

$\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  による CFU-Meg コロニー形成抑制作用が有意に減弱した。以上より、Tyk2 や Stat1 を介するシグナルが、特に Tyk2 下流分子の Daxx や Crk を介するシグナルが、IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  による巨核球前駆細胞増殖抑制に重要であることが明らかとなった。

### 3. 巨核球系細胞における IFN- $\zeta$ /limitin と IFN- $\alpha$ のシグナルの相違

培養巨核球を IFN- $\zeta$ /limitin と IFN- $\alpha$  で刺激した後、種々のシグナルを解析した。IFN- $\zeta$ /limitin と IFN- $\alpha$  の刺激後の Stat1 リン酸化誘導や SOCS-1 遺伝子発現誘導は、ほぼ同等に認められた。一方、Tyk2 と Crk のリン酸化誘導や Daxx 遺伝子発現誘導は、IFN- $\zeta$ /limitin では弱かった。以上より、IFN- $\zeta$ /limitin は、IFN- $\alpha$  と比較して、Tyk2 を介するシグナル伝達経路 (Daxx や Crk) の活性化が弱いことが明らかとなった。

#### 「総括」

IFN- $\zeta$ /limitin は、IFN- $\alpha$  と比較して巨核球細胞増殖抑制作用が少なかった。その機序として、IFN- $\zeta$ /limitin では巨核球細胞増殖抑制に関わる Crk や Daxx に至るシグナル経路の活性化が IFN- $\alpha$  と比較して弱いことが考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

Limitin は、IFN- $\alpha$  とアミノ酸配列相合性を有する事実、IFN- $\alpha/\beta$  受容体と結合する事実、抗ウイルス作用を有する事実から、IFN- $\zeta$  と命名された新しい I 型 IFN である。IFN- $\zeta$ /limitin の生理活性の特徴として、抗ウイルス作用や免疫調節作用を持つものの、IFN- $\alpha$  と異なり骨髄球系細胞や赤芽球系細胞の増殖抑制作用を持たないことが既に知られている。本研究により、巨核球前駆細胞コロニー形成や巨核球無血清培養 (Thrombopoietin と Interleukin-11 存在下)において、IFN- $\zeta$ /limitin は IFN- $\alpha$  と比較して巨核球前駆細胞増殖抑制作用が少ないことが明らかとなった。また、IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\alpha$  による巨核球前駆細胞増殖抑制作用には、Tyk2 や Stat-1 依存性のシグナル伝達経路が重要であり、特に Tyk2 下流では Crk や Daxx 分子が関与することを見出した。さらに、IFN- $\zeta$ /limitin と IFN- $\alpha$  のシグナルの違いとして、IFN- $\zeta$ /limitin では Tyk2 を介するシグナル伝達経路 (Daxx 誘導や Crk リン酸化) の活性化が減弱していることが明らかとなった。本研究による成果は、IFN 治療による血小板減少の一因を解明するだけでなく、ヒト型 IFN- $\zeta$ /limitin や IFN- $\zeta$ /limitin 類似人工的サイトカインの臨床応用の可能性を示唆するものと考えられる。新規サイトカイン IFN- $\zeta$ /limitin を用いた本研究は、IFN 研究分野において新しい知見をもたらし、学位に値すると思われる。