

Title	Suppressor of cytokine signaling-1 selectively inhibits LPS-induced IL-6 production by regulating JAK-STAT
Author(s)	木村, 彰宏
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47390">https://hdl.handle.net/11094/47390</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名 木 村 彰 宏

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 20934 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 19 年 3 月 23 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科分子病態医学専攻

学 位 論 文 名 Suppressor of cytokine signaling-1 selectively inhibits  
LPS-induced IL-6 production by regulating JAK-STAT  
(SOCS-1 は JAK-STAT を制御することにより LPS 誘導性の IL-6 産生を  
選択的に抑制する)

論 文 審 査 委 員 (主査)  
教 授 川 瀬 一 郎

(副査)  
教 授 平 野 俊 夫 教 授 金 倉 讓

#### 論 文 内 容 の 要 旨

##### [ 目的 ]

Suppressor of Cytokine Signaling-1 (SOCS-1) は Janus kinase (JAK) の活性を抑制することによりサイトカインのシグナル伝達を負に制御していることが知られている。これまでに SOCS-1 がさまざまなサイトカインシグナルを抑制していることが報告されてきたが、最近自然免疫においても重要な働きをしていることが明らかとなってきた。Toll-like receptor 4 (TLR4) のリガンドである lipopolysaccharide (LPS) はエンドトキシンとしてさまざまな細胞を強く活性化することが知られており、以前われわれは SOCS-1 が LPS シグナルに関与していることを報告したが、その詳しい制御機構は不明であった。本研究では LPS シグナルにおける SOCS-1 の詳細な制御機構を明らかにするために解析を進めた。

##### [ 方法ならびに成績 ]

マクロファージは LPS 刺激により IL-6 や TNF- $\alpha$  などのサイトカインを産生することが知られている。マウスのマクロファージ様細胞株 (RAW 細胞) に SOCS-1 を安定発現させ (RAW/SOCS-1)、コントロールである RAW/Neo とともに LPS で刺激しサイトカインの産生について RT-PCR 法や ELISA 法を用いて解析した。その結果、SOCS-1 は LPS による TNF- $\alpha$  や GM-CSF などの産生は抑制しておらず、IL-6 の産生のみを抑制していた。次に JAK タンパクは SOCS-1 の標的因子であることから LPS シグナルにおける JAK-STAT の関与について解析を進めた。RAW 細胞や腹腔マクロファージに LPS で刺激した後、JAK-STAT のリン酸化についてウェスタンブロッティング法を用いて検出したところ刺激後 1 分から 15 分で Jak2 および Stat5 がリン酸化されていることが確認された。一方 SOCS-1 を発現させた細胞株ではこれらリン酸化は抑制されていた。さらに JAK 特異的阻害剤である AG490 で処理した細胞や dominant negative 型 Stat5 (Stat5/DN) を発現させた細胞株においても LPS による IL-6 の産生のみが抑制されていた。LPS による IL-6 の産生には p50 と LPS シグナルにおいて myeloid differentiation factor 88 (MyD88) 依存経路により誘導される I $\kappa$ B $\zeta$  が複合体を形成することが重要であると報告されているが、これまでに SOCS-1 は I $\kappa$ B $\zeta$  の産生は抑制しないことが確認されている。ここで Stat5 と p50 との相互作用について免疫沈降法および

ウェスタンブロッティング法を用いて解析した。COS7細胞に野生型 Stat5 (Stat5/WT)、恒常活性型 Stat5 (Stat5/1\*6)、Stat5/DN、そして p50 を共発現した後、各 Stat5 と p50 の結合を調べたところ Stat5/WT と Stat5/1\*6 はそれぞれ p50 と結合していたが Stat5/DN は p50 と結合していなかった。Stat5 が LPS シグナルにおいて IL-6 の産生を特異的に制御している機構を明らかにするためにクロマチン免疫沈降法を用いて解析を進めたところ、LPS 刺激後 Stat5 が IL-6 のプロモーター領域に結合していることが確認された。

#### [ 総括 ]

本研究において SOCS-1 は LPS シグナルにおいて IL-6 の産生のみを選択的に抑制していることが明らかとなった。その機序としてまず LPS 刺激により Jak2 および Stat5 が直接的に活性化され、SOCS-1 はこれらの活性を抑制することが明らかになった。また、活性化された Stat5 が LPS による IL-6 の産生に必要な p50- I $\kappa$ B $\zeta$  と複合体を形成することにより IL-6 のプロモーター領域に結合しその産生を促進することが示された。これら研究結果の総括として SOCS-1 は LPS の下流で作用する JAK-STAT の活性化を阻害することにより LPS 刺激で誘導される IL-6 の産生を選択的に抑制し、自然免疫応答を制御していることが明らかにされた。

### 論文審査の結果の要旨

生体には細菌やウイルスなどの異物が体内に侵入した際それを排除するためのメカニズムとして免疫システムが存在している。今回免疫システムの中でも自然免疫における新しい制御機構が示された。LPS はグラム陰性菌の外膜を構成する成分であり、LPS によりさまざまな炎症性サイトカインが産生されることが知られている。この LPS シグナルにおいて JAK-STAT が直接関与しており、さらに IL-6 の産生を選択的に制御していることが示された。また JAK の制御因子である SOCS-1 はこの JAK を制御することで LPS シグナルにおいて重要なはたらきをしていることが証明された。以上のように SOCS や JAK-STAT における自然免疫シグナルとの関連が明らかにされた。今後の更なる解析を通して細菌感染によって引き起こされるエンドトキシンショックなどの致命的な障害の治療への応用が期待され、非常に意義深いものである。審査の結果、この論文は学位の授与に値すると考えられる。