

|         |   |         |          |
|---------|---|---------|----------|
| 氏 名（本籍） | あか<br>赤                                       | いし<br>石 | ひろし<br>洋 |
| 学位の種類   | 博 士 （医 学）                                     |         |          |
| 学位記番号   | 医 博 第 1 5 5 2 号                               |         |          |
| 学位授与年月日 | 平 成 11 年 3 月 25 日                             |         |          |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当                                  |         |          |
| 研究科専攻   | 東北大学大学院医学系研究科<br>（博士課程）外科学系専攻                 |         |          |
| 学位論文題目  | T細胞特異的 Stat3 欠損マウスにおける IL-2 依存性の T 細胞増殖の障害の解析 |         |          |

（主 査）

|        |            |   |            |
|--------|------------|---|------------|
| 論文審査委員 | 教授 里 見     | 進 | 教授 菅 村 和 夫 |
|        | 教授 佐 竹 正 延 |   |            |

## 論 文 内 容 要 旨

Signal transducers and activators of transcription (Stat) は様々なサイトカインによって引き起こされるシグナル伝達経路において重要な役割を果たしている。それぞれの Stat タンパク質欠損マウスの解析から、サイトカインが誘導する生体内の反応における Stat の役割の重要性というものが明らかにされてきた。Stat3 欠損マウスは胎生初期に致死となる。そこでリンパ球における Stat3 の役割を解明するために、Cre-loxP システムを利用して作製した T 細胞特異的 Stat3 欠損マウスの脾臓 T 細胞を用いて、IL-2 が誘導する T 細胞増殖における Stat3 が作用するメカニズムについて解明を試みた。

Stat3 欠損 T 細胞では、Stat3 タンパク質は現れているが、生理学的に活性を有しない Stat3  $\Delta$  タンパク質が産生されるために、IL-2 が誘導する Stat3 の活性化は完全に阻害される。一方で、Stat3 欠損 T 細胞においては IL-2 が誘導する Stat5 の活性化には変化が認められなかった。このことは、Stat3 が不活性であっても、Stat5 タンパク質の発現量または IL-2 依存性の Stat5 の活性化には影響しない、ということを示している。IL-2 誘導による T 細胞増殖反応の実験では、Stat3 欠損 T 細胞は低濃度の IL-2 に対して増殖能が阻害されていた。しかし高濃度の IL-2 とともに培養すると、Stat3 欠損 T 細胞は野生型に匹敵する増殖能を示した。つまり Stat3 欠損 T 細胞は IL-2 が誘導する T 細胞増殖能に異常が認められるが、高濃度の IL-2 にはほとんど正常に反応して増殖する、ということが判明した。また、IL-2 が誘導する IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現を評価した実験では、Stat3 欠損 T 細胞において IL-2 濃度が低値のときは IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現が障害されており、高濃度の IL-2 刺激により野生型と同等のレベルまで IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現が認められた。これらのことは、Stat3 欠損 T 細胞においては、IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現が部分的に障害されていることにより、IL-2 依存性の T 細胞増殖が阻害されていることを示唆している。

すなわち、IL-2 依存性の IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現誘導を介した T 細胞の増殖には、IL-2 が誘導する Stat3 の活性化が必要となることを示している。

## 審査結果の要旨

近年の研究から、さまざまなサイトカインの刺激により遺伝子発現や細胞増殖が起こる際に、Signal transducers and activators of transcription (STAT) がサイトカインのシグナル伝達において欠くべからざる役割を担っていることが明らかになってきている。特に免疫反応におけるサイトカインの働きを知る上で、STAT の作用メカニズムの解明は重要なテーマとなっている。STAT の生体内での役割を知る上で、これまでそれぞれの Stat 欠損マウスが作製されたが、Stat3 欠損マウスは胎生初期に致死となるため、Stat3 の生体内での働きは不明のままであった。

本研究では Cre-loxP システムを利用することにより、T 細胞特異的に Stat3 の発現を欠損させたマウスを作製し、サイトカインが T 細胞増殖を誘導する際の、Stat3 の作用について検討している。

まず、ウエスタンブロッティングにより T 細胞特異的 Stat3 欠損マウスの脾臓 T 細胞において STAT3 タンパク質の活性が消失していることを確認している。この T 細胞において抗 CD3 抗体または細胞分裂誘導物質であるコンカナバリン A の存在下に、さまざまな IL-2 濃度で培養して T 細胞の増殖能を、<sup>3</sup>H-サイミジンの取り込みを測定することによって検討したところ、低濃度の IL-2 では増殖抑制が認められたが、200ng/ml の IL-2 濃度においては対照と同等の増殖能を示しており、IL-2 刺激による T 細胞増殖に Stat3 が部分的に関わっていることが示唆された。

ついで、T 細胞特異的 Stat3 欠損マウスの脾臓 T 細胞における IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現を、細胞膜に表出している CD25 をフローサイトメトリーにより測定することで検討している。対照において IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現が最大になった条件下では Stat3 欠損 T 細胞の IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現が抑制されていたが、IL-2 濃度を増加させると Stat3 欠損 T 細胞の IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現は対照と同等になっており、Stat3 は IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現に部分的に関与していることが示された。

興味深いことに、T 細胞特異的 Stat3 欠損マウスで認められた IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現の部分的な阻害および T 細胞増殖能の部分的な障害は、Stat5a 欠損マウスの T 細胞においても類似の報告がなされており、このことは Stat5a 同様 Stat3 は、IL-2 受容体  $\alpha$  鎖の発現と、それに伴う高親和性 IL-2 受容体の形成に重要な要因として関わっていることを示唆している。T 細胞増殖のメカニズムに IL-2 およびそのシグナルを伝達する Stat3 が関与する役割について明らかにしたことは、免疫学におけるサイトカインの作用機構の研究において非常に意義深く、本研究は十分に学位に値するものである。