

審査の結果の要旨

氏名 MD. GOLAM MOHI

Jak2 は IL-3, GM-CSF の生理活性に必要であることが明らかになっている。IL-3 あるいは GM-CSF 刺激によりレセプターサブユニットは 2 量体化し、それに伴い Jak2 は互いにリン酸化が起り活性化される。さらには、Src チロシンキナーゼ、Ras/Raf/MAPK 経路、PI3K/Akt 経路などさまざまなシグナル伝達分子や経路が活性化される。これらのすべてのシグナル経路の活性化は血球細胞の増殖や生存に関わっている。Jak2 の特意的な役割やサイトカインシグナルへの位置づけを検討するために、増殖因子のシグナル伝達の中から Jak2 の活性化のみを単離することが必要である。このため申請者は GyrB-Jak2 融合蛋白質を作成した。この融合蛋白質はリガンドやレセプターシステムの関与なしにクマイシンを投与することによって人工的に 2 量体化する蛋白質である。このシステムを用いて申請者は Jak2 の下流の標的について検討を加えた。その要約を下記に示した。

1) クマイシン刺激は GyrB-Jak2 融合蛋白質の自己リン酸化を誘導した。従って 2 量体化は Jak2 の活性化に充分であることが明らかになった。

2) クマイシン刺激はレセプター  $\beta c$  のリン酸化を誘導しなかったが、STAT5 をリン酸化した。従って STAT5 はレセプターの関与なしに Jak2 によって直接活性化されることが示唆された。しかしながら STAT5 のリン酸化は BA/F-GIJW 細胞では観察されたが、BA/F-GNJK 細胞では観察されなかった。よって Jak2 の N 末端領域がキナーゼ・キナーゼ様領域に加えて STAT5 のリン酸化に必要とされていることが示唆された。

3) クマイシン刺激は SHP-2 や Shc のチロシンリン酸化を刺激しなかった。さら

に、いずれの細胞においても c-fos プロモーターの活性化は観察されなかった。従って Jak2 の活性化自体は Ras/Raf/MAPK 経路の活性化には不十分であることが示唆された。

4) クママイシンによるトリチウムチミジンの取り込みは BA/F-GIJW 細胞では観察されたが BA/F-GNJK 細胞では観察されなかった。しかしながら、その取り込み強度は mIL-3 刺激のそれよりもはるかに低く、かつ増殖は短期にしか起こらなかった。従って血球細胞の細胞増殖には複数のシグナル経路が働いており、Jak2 依存の経路はその一つであることが示唆された。

5) BA/F-GIJW および BA/F-GNJK 両細胞はクママイシン存在下でも DNA の断片化が観察された。従って Jak2 の活性化はアポトーシスの抑制に充分ではないことが明らかになった。

6) クママイシン刺激は BA/F-GIJW 細胞で c-myc や pim-1, CIS 等の転写を活性化したことから、これらの遺伝子は Jak2 の下流にあることが示唆された。しかし、c-myc, pim-1 が活性化されたにもかかわらず細胞が生存しなかったことから、これらの遺伝子は細胞の増殖に関与するが細胞死の抑制には関与しないことが示唆された。

7) クママイシン刺激は Bcl-2, Bcl-XL, NFIL3 を活性化しなかった。Bcl-XL の活性化には STAT5 が重要な役割を果たすということが報告されている。しかし本研究において申請者は Jak2, STAT5 の活性化が Bcl-XL の活性化には充分でないことを明らかにした。従って Bcl-XL 遺伝子の転写活性化には STAT5 とともに他の転写因子の活性化が必要であることが示唆された。

8) Bcl-XL を発現させるとファクター非存在下あるいはガンマ線誘導性のアポトーシスが抑制された。

以上、本研究から得た知見はシグナル伝達における Jak2 の役割の解明に重要であると考えられる。よって本研究は博士論文に相当するものと判断する。