

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 中村 哲也

サイトカイン GM-CSF および IL-3 は、造血系幹細胞や種々の血球系細胞などその標的細胞に多彩な生物学的作用を誘導する。本研究では、これらサイトカインが細胞膜上受容体への結合に続き、両サイトカイン受容体に共通の β サブユニット common β (β_c)を介し、標的細胞内で転写因子 NF- κ B の活性化を誘導する機構を明らかにすることを目的として行われ、以下の結果を得ている。

1. IL-3 依存性 proB 細胞の Ba/F3 細胞およびこれに hGM-CSF 野生型レセプターを安定発現させた Ba/F3-wild 細胞を用いて、 β_c 活性化により NF- κ B 依存性転写が誘導されることをレポーター解析により示した。 β_c 下流で活性化されるシグナル伝達経路の特異的阻害剤を用いた解析および β_c 変異レセプターの解析から、NF- κ B 活性化に STAT5 の活性化が関わる可能性を提示し、実際このことを野生型 STAT5 および構成的活性化型 STAT5 の強制発現による NF- κ B 転写活性解析により示した。さらに、STAT5 依存性の NF- κ B 活性化は、例えばサイトカイン IL-6 など内因性の遺伝子発現に寄与する機構であることを明らかにした。
2. β_c のシグナルは NF- κ B の DNA 結合を増強することを EMSA 法で示した。また、 β_c のシグナルは細胞質における抑制性蛋白 I κ B の分解やこれに続く NF- κ B 蛋白の核移行のステップではなく、核に局在する NF- κ B の DNA 結合を変化させることで NF- κ B 転写活性を調節していることを示した。さらに one hybrid assay により、 β_c および STAT5 依存性 NF- κ B 活

活性化は NF- κ B p65 蛋白の転写活性化領域を介する調節機構によっても担われることを明らかにした。

3. STAT5 変異体を用いた解析で、STAT5 の DNA 結合と転写活性化領域の両者が NF- κ B 活性化に必要であることが示され、STAT5 の標的遺伝子産物が 2 次的に NF- κ B 活性化を制御している可能性が示唆された。実際、構成的活性化型 STAT5 を安定発現する細胞の培養上清中に Ba/F3 細胞の NF- κ B 活性を誘導する生理活性が確認された。さらにこの未知の液性因子は、Ba/F3 細胞のみならず、他の血球細胞においても NF- κ B 活性化を誘導しうることを明らかにした。

以上、本論文は、サイトカインレセプター β c の下流で転写因子 NF- κ B が活性化される機構に STAT5 の活性化が必須であることを明らかにした。また、STAT5 による NF- κ B 活性化は、多くの細胞でみられる NF- κ B 活性化機構ときわめて異なる機構を介するものであった。さらにこの機構には、STAT5 活性依存性に発現し分泌される未知の液性因子が介在することが示された。本研究におけるこれら結果は、転写因子 NF- κ B 活性化に至る新規のシグナル伝達経路の存在を提示するとともに、NF- κ B 活性化過程に介在する分子機構が細胞種あるいは上流の刺激の種類により多様に制御されることを示唆するものと考えられる。また、STAT5 が直接の標的遺伝子のみならず、二次的な機構を介して NF- κ B 依存性の転写活性を制御し、生体内においてこれまで知られる以上に多彩な遺伝子の発現調節に関わる可能性が考えられ、未知の液性因子の同定という課題は残されるものの、学位の授与に十分値するものと考えられる。