

(論文内容の要旨)

遺伝子の発現は、さまざまな転写因子の直接的、間接的な相互作用によって誘導される。転写因子 STAT ファミリーはさまざまなサイトカインレセプターのシグナルにより活性化され、細胞の分化、増殖、維持に関与しているが、この STAT ファミリーもさまざまな転写因子と相互作用し、相乗的な転写の活性化や拮抗的な転写の抑制を示す。これまでに、STAT1 と STAT3 が転写因子 Runx2 と結合することが知られている。STAT ファミリーに属する STAT5 はリンパ球の分化や維持に働いているが、同様にリンパ球の発達に深く関与する Runx との関係性についてこれまで報告されていない。そのため、STAT5 と Runx ファミリーの相互作用について、本研究で詳細に解析した。

実際に、HEK293T 細胞での強制発現と免疫沈降法を用いると STAT5 がすべての Runx ファミリーと結合することを見出した。また、内在性の STAT5 と Runx1 が結合することをプレ T 細胞株 Scid-adh 細胞を用いて確認した。この結合には STAT5 の DNA 結合領域と Runx の Runt 領域が必要であった。この結合が細胞内のどの領域で起きているか CHO 細胞に発現させて細胞内局在を解析すると、STAT5 により Runx の核内局在が抑制され、細胞質に再分布した。STAT5 による Runx の細胞内局在変化は Runx の転写活性を抑制させることが HEK293T 細胞を用いたレポーター法で示された。また逆に、Runx によって STAT5 の転写活性も抑制されることがわかった。さらに、プロ B 細胞株 Ba/F3 に Runx を発現させると、サイトカイン刺激による STAT5 の標的遺伝子 CIS1 の転写誘導とプロモーター領域への結合が低下した。最後に、STAT5 が Runx3 による CD4⁺CD8⁺ダブルポジティブ細胞株 DPK 細胞の CD8T 細胞への分化を抑制した。

以上の結果から、転写因子 STAT5 と Runx1、Runx2、Runx3 が細胞質において結合し、相互に転写活性を抑制しあうことが証明された。この相互抑制は T 細胞の初期分化に必要な Runx による CD4 のサイレンシングの解除や STAT5 による増殖やアポトーシスを調節している可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

転写因子の相互作用は、遺伝子の発現制御において重要な役割を担う。転写因子 **STAT5** と **Runx** ファミリーがそれぞれリンパ球の発達において重要な働きをしていることが明らかにされているが、両者の相互作用については不明のままであった。そこで申請者は、これまでに報告されている **STAT1** と **Runx2** の相互作用を参考にし、リンパ球の発達に不可欠な転写因子 **STAT5** と **Runx** ファミリーの物理的および機能的な相互作用について解析した。

申請者は、まず、**STAT5** がすべての **Runx** ファミリーと結合することを、HEK293T 細胞での強制発現系とプレ T 細胞株 Scid-adh 細胞での内在性タンパク質の系で、免疫沈降法で示した。さらに、**STAT5** と **Runx** ファミリーの欠失変異体を作製し、**STAT5** の DNA 結合領域と **Runx** の **Runt** 領域が結合することを証明した。また、免疫蛍光法と細胞分画法にて細胞内のどの分画で **STAT5** と **Runx** が結合しているのかを解析し、**STAT5** によって **Runx** の核内局在が抑制され、細胞質に再分布することを示した。さらに、この局在変化によって **Runx** の転写活性が低下することをレポーター法で明らかにした。また、CD4⁺CD8⁺ダブルポジティブ細胞株 DPK の **Runx3** による CD8 T 細胞への分化誘導が、**STAT5** によって劇的に抑制されることを証明した。一方、申請者は、**Runx** との結合が **STAT5** の転写活性を抑制し、**STAT5** の核移行を減弱させることをレポーター法で示した。さらに、プロ B 細胞株 Ba/F3 において、**Runx** によって **STAT5** の標的遺伝子である **CIS1** プロモーターへの **STAT5** の結合が低下し、**CIS1** の転写が抑制されることを証明した。

よって本研究は、リンパ球の発達に深く関与する転写因子 **STAT5** と **Runx** ファミリーが物理的に相互作用し、細胞内局在を変化させ転写を抑制し合うことを明らかにし、この相互作用がリンパ球の発達を制御する可能性を示唆した。

以上より、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成 20 年 4 月 16 日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。