

学 位 論 文 の 要 旨

所 属	三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 病態制御医学講座	氏 名	宮地 洋英
<p>主論文の題名</p> <p>Effect of suppressor of cytokine signaling (SOCS) on hepcidin production in HCV replicon cells</p> <p>主論文の要旨</p> <p>【目的】C型慢性肝炎（CH-C）の肝臓では高率に鉄の蓄積が認められ、炎症の進展や発癌に影響を与えることが報告されている。Hepcidinは肝細胞から分泌されるペプチドホルモンであり、腸管上皮細胞における鉄の吸収を抑制することにより生体における鉄代謝を調節している。我々は、これまでに臨床検体を用いた解析により、CH-Cでは hepcidinの相対的な分泌不全が存在することを報告し、これが鉄過剰をきたす重要なメカニズムであることを提唱してきた。Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) およびSOCS-3は、Jak/STAT系の活性化を抑制的に制御する蛋白である。本研究では、C型肝炎ウイルス（HCV）感染が SOCS-1 および SOCS-3 の発現にどのような影響を与え、これらの SOCS 蛋白がhepcidin 産生にどのような影響を及ぼすかを、HCV レプリコン細胞を用いたin vitroの系にて検討した。</p> <p>【方法】HCVのfull genome (genotype 1b) を組み込んだレプリコン細胞、およびHCV genomeを組み込んだ後IFNα処理によりHCVを除去したコントロール細胞（Huh7.5 cell, cured cell）を用いた。両細胞においてインターロイキン-6（IL-6）負荷を行ない、hepcidin（HAMP）mRNAの発現量をreal time reverse transcription-polymerase chain reaction（RT-PCR）法にて半定量し、培養上清中の活性型hepcidin蛋白（hepcidin-25）の濃度を4000QTRAP LC-MS/MS アッセイシステムを用いて測定した。また、IL-6投与後、細胞核分画におけるリン酸化STAT3蛋白（p-STAT-3）をウエスタンブロッティング（WB）により検討し、SOCS-1およびSOCS-3の発現変動をreal time RT-PCRおよびWBにより検討した。次に、SOCS-1および SOCS-3 siRNAを用いて遺伝子のサイレンシングを行ない、IL-6負荷によるHAMP mRNA産生への影響を検討した。さらに、SOCS-1の人工遺伝子をpDEST40プラスミドに組み込んでSOCS-1蛋白の過剰発現ベクターを構築し、IL-6負荷によるHAMPの産生への影響を検討した。</p> <p>【結果】細胞質分画におけるHAMP mRNAおよび培養上清中のhepcidin-25は、基礎値およびIL-6負荷時ともレプリコン細胞で有意に高値であった。核分画におけるp-STAT3は、IL-6投与により濃度依存的に増加し、増加の程度はレプリコンの方が強かった。SOCS-1の発現はレプリコン細胞で有意に低下しており、SOCS-1産生はIL-6刺激による有意な変化を認めなかった。これに対し、SOCS-3の発現はレプリコン細胞で有意に増加しており、SOCS-3産生はIL-6刺激に反応して濃度依存性の有意な上昇を認めた。SOCS-1 siRNA（HSS-189479）の導入によるSOCS-1 遺伝子のサイレンシングにより、両細胞ともIL-6刺激による HAMP mRNA発現は増強され、STAT-3活性化は有意に増強した。SOCS-3 siRNA（HSS-113312）の導入により、IL-6刺激後の HAMP mRNA は強力に誘導され、STAT-3活性化も増強していた。さらに、SOCS-1の過剰発現により、IL-6刺激後のレプリコン細胞におけるHAMP mRNA 発現は著明に抑制された。</p> <p>【結語】レプリコン細胞を用いた in vitro の系において、HCV 感染により SOCS-3 の産生は増強し、SOCS-1 の産生は低下した。IL-6 刺激により jak/STAT 系の活性化を介して誘導される hepcidin 産生は SOCS-1 および SOCS-3 により抑制的に制御されていた。HCV 感染による SOCS-1 および SOCS-3 の発現変動は hepcidin 産生に影響を与え、このことは、CH-C における hepcidin の相対的な分泌不全を少なくとも部分的に説明するものと考えられた。</p>			

（注）2，000字以内にまとめて記入すること。