

平成18年度 学術創成研究費 研究終了報告書（事後評価用）

平成18年3月31日

ふりがな	よしむら あきひこ		所属研究機関・ 部局・職	九州大学・生体防御医学研究所・教授				
研究代表者 氏名	吉村 昭彦							
研究課題名 (英訳名)	サイトカインのシグナル制御機構とその破綻 (Regulation of Cytokine Signaling and its Disorder)							
研究経費 (千円未満切捨)	年度	研究経費(千円)		使用内訳(千円)				
		交付額	支出額	設備備品費	消耗品費	旅費	謝金等	その他
	平成13年度	70,000	70,002	30,290	34,999	340	974	3,398
	平成14年度	65,000	65,000	11,644	41,611	2,149	1,826	7,767
	平成15年度	68,000	68,000	11,492	41,023	1,152	3,164	11,166
	平成16年度	66,000	66,000	3,357	52,791	1,546	4,968	3,335
	平成17年度	62,500	62,500	682	45,692	583	10,927	4,613
	総計	331,500	331,502					
研究組織（研究代表者及び研究分担者）								
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）					
(研究代表者) 吉村 昭彦	九州大学・生体防御医学研究所・教授	分子免疫学	研究計画の総括及び収集データの解析					
(研究分担者) 松崎 吾郎 (平成13年度)	九州大学・生体防御医学研究所・助教授	免疫学	T細胞機能に関する実験疾患との関連					
岸原 健二 (平成13～14年度)	九州大学・生体防御医学研究所・助手	免疫学	シグナル制御分子のクローニングとターゲティング					
箕口 滋 (平成13～14年度)	九州大学・生体防御医学研究所・助手	分子生物学	シグナルの in vivo での可視化、シグナル制御分子の機能解析					

当初の研究目的

サイトカインは主に造血系、免疫系を制御し、細胞の増殖、分化そして機能を調節する一群のタンパク質性ホルモンである。サイトカインは生体のホメオスターシスに必須であるほか免疫系を通じて感染防御に重要な役割を果たしている。またサイトカインはネットワークを形成し、その破綻が自己免疫疾患や炎症性疾患の病態形成に深く関与していることも明らかにされている。したがってサイトカインシグナルの制御機構を分子レベルで解明することはサイトカイン間のクロストークのメカニズムを理解するばかりでなく、自己免疫疾患、慢性炎症性疾患、白血病などの病態を理解し治療法を開発する上で極めて重要であると考えられる。サイトカインシグナルの制御機構に関して、我々のグループは世界にさきがけてサイトカイン誘導性 SH2 蛋白質群である CIS/SOCS ファミリーを発見し、これらの遺伝子がサイトカインの主要経路である JAK/STAT 経路を負に制御し免疫系、造血系を調節していることを示してきた。本研究ではこれらのシグナル制御が生理的にどのようなホメオスターシス維持に寄与するかを明らかにするとともに、疾患や病態にどのように寄与するかを明らかにする。一方これらのメカニズムは制御系の一端にすぎない。本研究では CIS/SOCS によるサイトカインシグナル抑制の分子機構と生理的意義を解明するとともに、新たなシグナル制御分子の同定、およびサイトカイン間のクロストークの分子機構の解明をめざす。これらの制御システムの情報を統合し、免疫応答や疾患のシュミレーション化をめざす。またシグナル制御機構の研究を通してサイトカインの関与する疾患に対して新たな治療への戦略を提示することも本研究の重要な目標としている。

研究成果の概要

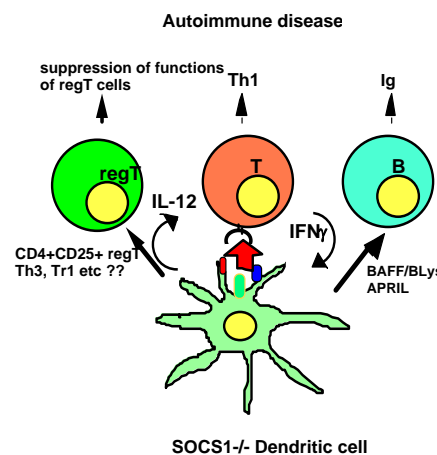
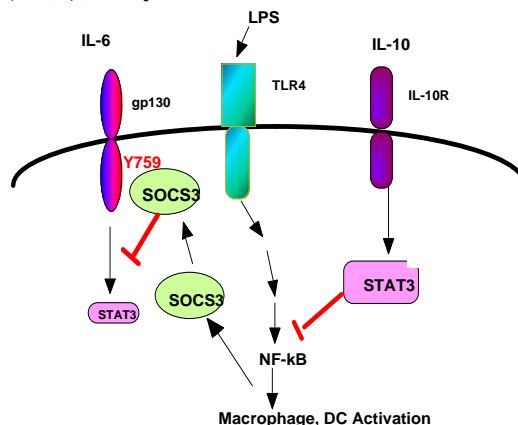
研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。

(1) CIS/SOCS ファミリー分子の免疫ホメオスターシスにおける機能の解明

これまでの詳細な SOCS ノックアウト(KO)マウスの研究から、SOCS、特に SOCS1 と SOCS3 の免疫制御機能の大枠が理解された。SOCS1 は STAT1 に SOCS3 は STAT3 に特異性が高く、互いに制御し合って免疫応および免疫寛容を正と負にする実体が浮かび上がってきている。

我々は臓器特異的 SOCS3 コンディショナルノックアウト(cKO)マウスの作製に成功し、SOCS3 が IL-6, G-CSF, LIF, レプチンの重要な負の制御因子であることを明らかにした (*Nature Med.*2004 など)。(a)特にマクロファージにおいて SOCS3 は IL-6 が炎症性サイトカインとして機能するために必須であること、すなわち SOCS3 非存在下では IL-6 は抗炎症性サイトカイン IL-10 様の作用を示すことを見いだした (*Nature Immunol.*2003) (右図参照)。したがって SOCS3 を抑制することで炎症性の IL-6 を抗炎症に転換できる可能性が考えられる。(b)逆に SOCS3 を滑膜細胞に強制発現することで IL-6 のシグナルを抑制し、関節炎モデルの発症を抑制できることを示した (*J.Clin.Inv.* 2001)。(c)さらに神経特異的な SOCS3 欠損マウスはレプチン感受性が高まり肥満抵抗性になることを報告した (*Nature Med.*2004)。(d)また SOCS3 はアトピーや喘息患者 T 細胞で発現が高く Th2 分化を促進することを発見した (*Nature Med.*2003)。逆に SOCS3 欠損 T 細胞は TGF β 産生が亢進し Th3 への分化が亢進していた (*J.Exp.Med.*2006)。すなわち SOCS3 はヘルパー-T 細胞の分化を制御すると同時に、免疫寛容(特に経口免疫寛容)を負に制御することを明らかにした。以上のように SOCS3 は細胞特異的に様々なサイトカインシグナルを制御し生体のホメオスターシス維持に必須の役割を担っていることが明らかとなった。

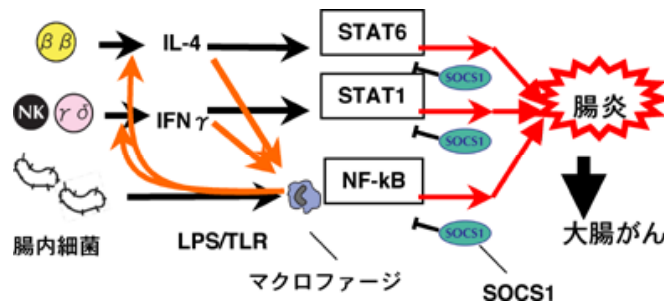
一方 SOCS1 については KO マウスを用いることで SOCS1 がマクロファージや LPS シグナルの制御に関わることを示した (*Immunity.*2002)。また SOCS1 欠損によってサイトカインと腸内細菌に依存した大腸炎が発症することも明らかにした (*Gastroenterol.*2005)。またトランスジェニックマウスとの交配によって抗原提示細胞において SOCS1 を欠損したマウスを作製したところ自己免疫疾患を発症し、SOCS1 が樹状細胞の制御に深くかかわる



研究成果の概要 つづき

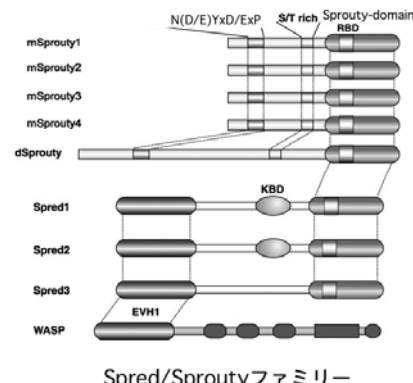
ことが明らかとなった(*Immunity*,2003)。SOCS1 欠損 T細胞および樹状細胞の解析から SOCS1 は SOCS3 とは反対に免疫寛容維持に必須であることを明らかにした。

さらに SOCS1^{-/-}マウスは IFN と IL-4 と腸内細菌に依存した重篤な大腸炎を(ヒト潰瘍性大腸炎に類似)発症することを見出した(*Gastroenterology*, 2006)。多くの腸炎モデルを解析した結果、SOCS1 欠損マウスに限らず、大腸炎の発症には腸内細菌からの TLR シグナルが起因となっていること、その結果サイトカインが誘導されて炎症が始まることを発見した(未発表)。しかしそこにサイトカインシグナルの増強がなければ重篤な腸炎は発症はしない。本研究はこれまであいまいであったサイトカインと腸炎の関係を明快に示した点で意義が大きいと考える。興味深いことに SOCS1 欠損マウスをさらに生存を延長させた場合、大腸がんを自然発症した(*J.Exp.Med.*2006)。この場合 IFN が iNOS や COX2 の発現を誘導し発癌に必須であった。これに関連して SOCS1 はヒト C 型肝炎患者で高頻度に遺伝子メチル化を受け、SOCS1 の発現低下は肝癌の発症と相関することを見出した(*J.Exp.Med.*2004)。すなわち SOCS1 は慢性的な炎症による発癌を抑制する新しいタイプの癌抑制遺伝子である。これは従来のような細胞増殖にかかわる癌抑制遺伝子ではなく、きわめてユニークな癌抑制効果を持つと考えられる。



(2) 新しい制御分子ファミリーの検索

チロシンキナーゼを bait とした two-hybrid 法によって、ショウジョウバエで知られていた ERK 抑制分子 Sprouty 関連分子 Spred を発見し、これらが哺乳類では大きなファミリーをつくることを報告した(*Nature* 2001)。さらに Spred-1 は好酸球成熟やアレルギーに関わること(*J.Exp.Med.*2005)、Spred-2 は AGM 造血の負の制御因子であること(*J.Exp.Med.*2004)を報告した。現在 Spred1/2-ダブルノックアウト(DKO)マウスの作製を行っており、胎生致死(E12~14程度)であることがわかった(未発表)。DKO マウスは末梢リンパ管の発生異常が認められ、出血により死亡すると思われる。リンパ管新生に必須である VEGF-C/VEGFR-3 シグナルの制御に Spred が関与している可能性が考えられる。



また Sprouty2 が神経成長因子 GDNF シグナルを制御し消化管神経の生存やネットワーク形成を抑制し、適切な神経統御に必要であることを見いだした(*Nature Neuroscience*,2005)、また Sprouty4 は VEGF シグナルのうちフォスホリパーゼ C(PLC)-PKC-Raf-ERK 経路を選択的に抑制することを見出し報告した(*Nature Cell Biol.*2003)。

さらに新規のシグナル制御分子としてプロテオーム技術によって Raft に局在し B 細胞受容体シグナルを制御する分子 Raftlin を発見した(*EMBO J.*2003)。また SOCS1 が TLR シグナルを負に制御することから(*Immunity*, 2002)、TLR の新規制御分子として TRAF6 に会合しこれを負に制御する FLN29 を発見した(*J.Biol.Chem.*2006)。いずれも KO マウスの作成を行っており、近々生理機能が明らかにされるであろう。

(3) シグナル制御の分子イメージング

名古屋大学との共同研究により Ras の一分子イメージングを行った。その結果、増殖因子刺激によって Ras の運動が停止し Raf の活性化を引き起こす時間経過を観察することができた(*ProNAS.USA.*2004)。

(4) シグナル伝達のコンピュータ・シミュレーション

三菱電機先端研との共同研究により JAK/STAT 経路および Ras/ERK 経路のシミュレーションを行なった。このときに SOCS や Sprouty などの負の制御系を組入れることで、さらに詳細にホメオスタシス維持機構が再現できた(*FEBS.Let.*2003, *BBRC.*2004)。さらに Th1/Th2 の分化制御を IL-12,IL-4 などのシグナル伝達経路のシミュレーションによって予想するモデルを作成した(*Int.Immunol.*2006)。このモデルは多くのサイトカインやシグナル伝達分子の KO マウスで報告されている表現型をよく再現することができた。また JAK3 を特異的に抑制すると Th1 よりもむしろ Th2 サイトカインの産生が抑制されるという結果を予想した。よってこのようなシミュレーションモデルが創薬上有用であることを示した。

特記事項

この研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。

(1) SOCS3 が IL-6 と L-10 の差異を決定する重要な因子であることの発見。

IL-6 と IL-10 はともに STAT3 を活性化するが片方は炎症性サイトカイン、片方は抗炎症性サイトカインである。どのような仕組みでこの差が規定されるのかはこれまで明らかではなかった。また IL-6 には炎症性作用と抗炎症作用の 2 面性があることもいくつかの疾患において示唆されていたが、その選択機構も不明であった。我々はこの差が SOCS3 に起因することを証明した。SOCS3 は IL-6 受容体 gp130 を負に制御するために STAT3 の活性化は一過性である。しかし IL-10 受容体に会合しないために STAT3 は強く遷延化する。すなわち STAT3 の時間的な活性化量が炎症性と抗炎症性を規定する。我々は長期間活性化した STAT3 はむしろ NF- κ B や STAT1 を抑制する転写抑制因子として作用することを見出した。その分子機構の解明によって、長らく謎であった STAT3 の抗炎症作用のメカニズムを解明できると思われる。さらに我々は SOCS3 の発現量を調節することで炎症性の IL-6 を抗炎症に転換できる可能性を提示した。マクロファージ選択的に SOCS3 を抑制できれば多くの炎症性疾患を効果的に治療できるであろう。現在この発見を炎症性腸疾患や関節炎モデルに適用できないか検討しているところである。

(2) SOCS1 と SOCS3 が免疫寛容維持機構を正負に制御することの発見。

これまでの 5 年間にわたる詳細な SOCS-KO 関連の研究から、SOCS、特に SOCS1 と SOCS3 の免疫制御機能の大枠が理解された。SOCS1 は STAT1 に SOCS3 は STAT3 に特異性が高く、互いに制御し合って免疫応および免疫寛容を正と負にする実体が浮かび上がってきている。SOCS1 欠損 T 細胞や樹状細胞は STAT1 (ないし STAT6) の高度の活性化を通じて免疫応答を不活化する。これには制御性 T 細胞の機能破綻や経口免疫寛容の破綻も含まれる。一方 SOCS3 欠損 T 細胞や樹状細胞は STAT3 が強くともに免疫応答が減弱ないし抑制されている。また Th3 が誘導されやすいなど免疫寛容が増強されている。すなわち極端に言えば SOCS1 は免疫寛容レベルを上げ、SOCS3 は免疫寛容レベルを下げる。では免疫寛容を制御するサイトカインは何か？またどうすればサイトカインによって寛容のレベル (ないし免疫腑活化レベル) を制御できるか？疾患とどのように関連するか、等を明らかにすることが今後の大きな課題である。その理解はアレルギーや自己免疫疾患の治療、もしくは抗腫瘍免疫の増強に役立てられるであろう。

SOCS は末梢の免疫寛容だけではなく、胸腺での中枢トランスにも関与する。SOCS が正負のセレクション (選択) にかかわることの発見は、これまでの免疫学の定説である、サイトカインはセレクションには関与しないという考えを覆すものである。すなわち胸腺での選択中に T 細胞にサイトカインシグナルが入ると選択機構そのものが影響をうけてしまう。これを防ぐためにこそ SOCS1 が存在するのである。我々は 2003 年にこのことを予想して発表した (Nature Immunology, 2003)。残念ながらその証明は先に Hedrick (Nature Immunol., 2005) や Singer (J. Exp. Med., 2006) らに報告されてしまったが、このような従来にない考えかたを提示できたことは特筆すべき成果であると思われる。

(3) SOCS が炎症と癌化を結ぶ新しい癌抑制因子であることの発見。

免疫系は癌に関しては諸刃の剣であり、免疫監視や CTL によって癌の発生を防いでいる一方で炎症が癌を発生ないし増悪化させる事例も多く知られている。例えば C 型肝炎ウイルスによる肝癌やピロリ菌による胃癌の発生には宿主側の免疫応答、特に長期にわたる慢性炎症が癌の発生や進展に重要であると考えられている。我々は C 型肝炎ウイルス感染患者の多くの肝臓で SOCS1 遺伝子のメチル化が起こっていることを発見した (J. Exp. Med., 2005)。また SOCS1 欠損マウスでは大腸癌が IFN 依存性に発生することを見出した (J. Exp. Med., 2006)。SOCS1 は癌抑制遺伝子として機能するがそれは従来のような増殖を負に制御する因子というよりは炎症を負に制御することで発癌を抑制するというユニークな癌抑制遺伝子である。

(4) Sprouty/Spred の生理機能の解明

Sprouty/Spred ファミリーは最近発見された Ras-ERK 系の抑制因子群であるが、哺乳類における生理機能の解明は十分進んでいない。我々はこのファミリーの解析に関しては世界をリードしており、特に KO マウスを使った生理機能の解明では J. Exp. Med や Nature Neuroscience 誌に論文を発表し、Spred はサイトカインによる Ras-ERK 系の活性化を、Sprouty は FGF や GDNF などの増殖因子による ERK や Akt の活性化を選択的に制御していることを明らかにした。その選別の分子機構の解明は今後の課題であるが、これらの遺伝子群がブロードな抑制因子ではなくサイトカイン / 増殖因子特異性があり、生理的にもそれぞれ重要な機能を持つことの発見は Ras/ERK 経路の生理的あるいは病理的な意義を理解する上でも大きな発見と言える。

研究成果の発表状況

この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限ります。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号） 最初と最後のページ、発表年（西暦）及び国際会議、学会等における発表状況について、3頁以内に収めて記入してください。

2001-2006年に英文原著97編、英文総説10編を発表した。残念ながらすべてを3ページに納めることができないので中間発表で発表した2003年以降の主な論文についてのみ掲載する。この5年間で107編の英文論文を発表した。そのうち34はIF10点以上の雑誌であり、JBCやJIなどの専門誌にも30以上の論文を発表した。

(2006-)

Yoshida T, Hisamoto T, Akiba J, (他10名), Yoshimura A, and Sata M. Spreads, inhibitors of the Ras/Erk signal transduction, are dysregulated in human hepatocellular carcinoma and linked to the malignant phenotype of tumors. *Oncogene* in press

Ogata H, Kobayashi T, Chinen T, (他7名), and Yoshimura A. Deletion of the SOCS3 gene in the liver parenchymal cells promotes hepatitis-induced hepatocarcinogenesis *Gastroenterology* 2006 in press

Minoda Y, Saeki K, Aki D, Takaki H, Sanada T, Koga K, Kobayashi T, Takaesu G, and Yoshimura A. A novel Zinc finger protein, ZCCHC11 interacts with TIFA and modulates TLR-signaling *Biochem Biophys Res Commun* in press

Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, Takaki H, Koga K, Minoda Y, Sanada T, Yoshioka T, Mimata H, Kato S, and Yoshimura A. IFN γ -dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice. *J. Exp. Med* in press

Kinjo I, Inoue M, Hamano S, Fukuyama S, Yoshimura T, Koga K, Takaki H, Himeno K, Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A. Loss of SOCS3 in helper T cells resulted in reduced immune responses and hyperproduction of IL-10 and TGF- β 1 *J. Exp. Med*, 2006 in press

Ogata H, Chinen T, Yoshida T, Kinjo I, Takaesu G, Shiraishi H, Iida M, Kobayashi T, Yoshimura A. Loss of SOCS3 in the liver promotes fibrosis by enhancing STAT3-mediated TGF- β 1 production. *Oncogene*. 2006 in press

Chinen T, Kobayashi T, (他6名) Yoshimura A. Suppressor of Cytokine Signaling-1 Regulates Inflammatory Bowel Disease in Which Both IFN γ and IL-4 Are Involved. *Gastroenterology* 2006;130: 373-388.

Moriyama M, Matsukawa A, Kudoh S, Takahashi T, Sato T, Kano T, Yoshimura A, Kojima M. The neuropeptide neuromedin U promotes IL-6 production from macrophages and endotoxin shock. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 ;341:1149-1154

Ni R, Ihara K, Miyako K, Takemoto M, Ishimura M, Kohno H, Matsuura N, Yoshimura A, Hara T. Association study of polymorphisms in SOCS family genes with type 1 diabetes mellitus. *Int J Immunogenet*. 2006; 33: 7-10.

Kobayashi T, Takaesu G, Yoshimura A. Mal-function of TLRs by SOCS. *Nat Immunol*. 2006 ;7:123-124.

Yamada S, Tsukada J, Yoshimura A, Kubo M. Computer simulation of the role of SOCS family protein in helper T cell differentiation. *Int Immunol*. 2006;18: 335-345.

Okumura AJ, Hatsuzawa K, Tamura T, Nagaya H, Saeki K, Okumura F, Nagao K, Nishikawa M, Yoshimura A, Wada I. Involvement of a novel Q-SNARE, D12, in quality control of endomembrane system. *J Biol Chem*. 2006 281:4495-4506

Qasimi P, Ming-Lum A, (他5名), Yoshimura A, Mui AL. Divergent mechanisms utilized by SOCS3 to mediate interleukin-10 inhibition of tumour necrosis factor alpha and nitric oxide production by macrophages. *J Biol Chem*. 2006, 281: 6316-24.

Moriyama M, Fukuyama S, (他4名), Kano T, Yoshimura A, Kojima M. The neuropeptide neuromedin U activates eosinophils and is involved in allergen-induced eosinophilia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006 in press

Shouda T, Hiraoka K, Komiya S, (他7名) Yoshimura A. Suppression of IL-6 production and proliferation by blocking STAT3 activation in malignant soft tissue tumor cells. *Cancer Lett*. 2006; 231:176-184.

Inagaki-Ohara K, Sasaki A, (他7名) Yoshimura A. Suppressor of cytokine signalling-1 in lymphocytes regulates the development of intestinal inflammation in mice. *Gut*. 2006; 55: 212-219.

Sekine Y, Yumioka T, (他8名, Yoshimura A, Matsuda T. Modulation of TLR4 Signaling by a Novel Adaptor Protein Signal-Transducing Adaptor Protein-2 in Macrophages. *J Immunol*. 2006; 176: 380-389. (2005)-20

Naka T, Fujimoto M, Tsutsui H, Yoshimura A. Negative regulation of cytokine and TLR signalings by SOCS and others. *Adv Immunol*. 2005; 87: 61-122.

Tanimoto K, Saito Y, (他10名), Yoshimura A, Nakao K. SOCS1/JAB Likely Mediates the Protective Effect of Cardiotrophin-1 Against Lipopolysaccharide-Induced Left Ventricular Dysfunction In Vivo. *Circ J*. 2005 69:1412-1417.

Mashima R, Saeki K, (他6名) Yamanashi Y, Yoshimura A. FLN29, a novel interferon- and LPS-inducible gene acting as a negative regulator of toll-like receptor signaling. *J Biol Chem*. 2005 ;280: 41289-41297.

Tokumaru S, Sayama K, Shirakata Y, (他8名) Yoshimura A, Sugai M, Hashimoto K.: Induction of keratinocyte migration via transactivation of the epidermal growth factor receptor by the antimicrobial peptide LL-37. *J Immunol* 2005;175: 4662-4668.

Miyazaki Y, Inoue H, Matsumura M, Matsumoto K, Nakano T, Tsuda M, Hamano S, Yoshimura A, Yoshida H Exacerbation of experimental allergic asthma by augmented Th2 responses in WSX-1-deficient mice.. *J Immunol*. 2005 ;175: 2401-2407.

Nonami A, Taketomi T, (他6名) Kato R, Yoshimura A. The Sprouty-related protein, Spred-1, localizes in a lipid raft/caveola and inhibits ERK activation in collaboration with caveolin-1. *Genes Cells*. 2005 ; 10: 887-895.

Moriyama M, Sato T, Inoue H, Fukuyama S, Teranishi H, Kangawa K, Kano T, Yoshimura A, Kojima M. The neuropeptide neuromedin U promotes inflammation by direct activation of mast cells. *J Exp Med*. 2005;202: 217-224.

Takeda A, Hamano S, (他4名), Yoshimura A, Yoshida H. WSX-1 over-expression in CD4+ T cells leads to hyperproliferation and cytokine hyperproduction in response to TCR stimulation. *Int Immunol*. 2005, 17: 889-897;

Tsukada J, Ozaki A, Hanada T, Chinen T, Abe R, Yoshimura A, Kubo M. The role of suppressor of cytokine signaling 1 as a negative regulator for aberrant expansion of CD8 α + dendritic cell subset. *Int Immunol*. 2005;17:1167-78.

Yoshimura A, Nishinakamura H, Matsumura Y, Hanada T. Negative regulation of cytokine signaling and immune responses by SOCS proteins. *Arthritis Res Ther*. 2005; 7: 100-110.

Taketomi T, Yoshiga D, (他8名) Moriyama M, Nakamura KI, Nishimura J, Yoshimura A. Loss of mammalian Sprouty2 leads to enteric neuronal hyperplasia and esophageal achalasia. *Nature Neurosci*. 2005 8, 855-857

Kobayashi T, Yoshimura A. Keeping DCs awake by putting SOCS1 to sleep. *Trends Immunol*. 2005;26:177-179.

Takatori H, Nakajima H, (他5名), Yoshimura A, Saito Y, Iwamoto I. Stat5a Inhibits IL-12-Induced Th1 Cell Differentiation through the Induction of Suppressor of Cytokine Signaling 3 Expression. *J Immunol*. 2005;174:4105-4112.

Aki D, Mashima R, Saeki K, Minoda Y, Yamauchi M, Yoshimura A. Modulation of TLR signalling by the C-terminal Src kinase (Csk) in macrophages. *Genes Cells*. 2005;10:357-368.

Hanada T, Tanaka K, Matsumura Y, (他6名), Yoshimura A. Induction of hyper Th1 cell-type immune responses by dendritic cells lacking the suppressor of cytokine signaling-1 gene. *J Immunol*. 2005;174:4325-4332.

Ohishi M, Matsumura Y, Aki D, (他5名), Yoshimura A. Suppressors of cytokine signaling-1 and -3 regulate osteoclastogenesis in the presence of inflammatory cytokines. *J Immunol*. 2005 ;174:3024-3031.

Inoue H, Kato R, (他9名), Moon BG, Takatsu K, Nakanishi Y, Yoshimura A. Spred-1 negatively regulates allergen-induced airway eosinophilia and hyperresponsiveness. *J Exp Med*;201:73-82, 2005.

Tokumaru S, Sayama K, (他6名), Yang L, Yoshimura A, Hashimoto K. SOCS3/CIS3 negative regulation of STAT3 in HGF-induced keratinocyte migration. *Biochem Biophys Res Commun*. 327:100-105, 2005

Takahashi N, Saito Y, (他8名) Yoshimura A, Nakao K. Hypertrophic responses to cardiotrophin-1 are not mediated by STAT3, but via a MEK5-ERK5 pathway in cultured cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 38:185-192, 2005

Sekine Y, Yamamoto T, Yumioka T, Sugiyama K, Tsuji S, Oritani K, Shimoda K, Minoguchi M, Yoshimura A, Matsuda T. Physical and functional interactions between STAP-2/BKS and STAT5. *J Biol Chem*. 2005;280:8188-8196.

(2004) -20
Kawaguchi T, Yoshida T, (他12名), Ueno T, Ogata H, Yoshimura A, Sata M. Hepatitis C Virus Down-Regulates Insulin Receptor Substrates 1 and 2 through Up-Regulation of Suppressor of Cytokine Signaling 3. *Am J Pathol*. 165:1499-1508, 2004

Yamagishi S, Inagaki Y, Nakamura K, Abe R, Shimizu T, Yoshimura A, Imaizumi T. Pigment epithelium-derived factor inhibits TNF-alpha-induced interleukin-6 expression in endothelial cells by suppressing NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species generation. *J Mol Cell Cardiol*. 2004 Aug;37(2):497-506.

Kuriyama M, Taniguchi T, Shirai Y, Sasaki A, Yoshimura A, Saito N. Activation and translocation of PKCdelta is necessary for VEGF-induced ERK activation through KDR in HEK293T cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 325:843-851, 2004.

Nonami A, Kato R, (他5名), Sasaki A, Yoshimura A. Spred-1 negatively regulates interleukin-3-mediated ERK/mitogen-activated protein (MAP) kinase activation in hematopoietic cells. *J Biol Chem*. 279:52543-52551, 2004.

Inagaki-Ohara K, Chinen T, Matsuzaki G, Sasaki A, Sakamoto Y, Hiromatsu K, Nakamura-Uchiyama F, Nawa Y, Yoshimura A. Mucosal T cells bearing TCR γ delta play a protective role in intestinal inflammation. *J Immunol*. 173:1390-1398, 2004.

Miyoshi K, Wakioka T, (他5名), Komiya S, Yoshimura A. The Sprouty-related protein, Spred, inhibits cell motility, metastasis, and Rho-mediated actin reorganization. *Oncogene*. 23: 5567-5576, 2004.

Kazemi S, Papadopoulou S, Li S, Su Q, Wang S, Yoshimura A, Matlashewski G, Dever TE, Koromilas AE. Control of alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2 (eIF2 alpha) phosphorylation by the human papillomavirus type 18 E6 oncoprotein: implications for eIF2 alpha-dependent gene expression and cell death. *Mol Cell Biol*. 24:3415-34129, 2004.

Mori H, Hanada R, Hanada T, Aki D, (他3名), Yasukawa H, and Yoshimura A SOCS3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity *Nature Medicine* 10: 739-743, 2004

Yoshida T, Ogata H, Kamio M, Joo A, Shiraishi H, Tokunaga Y, Sata M, Nagai, H and Yoshimura A SOCS1 is a suppressor of liver fibrosis and hepatitis-induced carcinogenesis *J Exp Med*. 199: 1701-1707, 2004

Murakoshi H, Iino R, Kobayashi T, Fujiwara T, Ohshima C, Yoshimura A, Kusumi A. Single-molecule imaging analysis of Ras activation in living cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101: 7317-7322, 2004

Yamada S, Taketomi T, Yoshimura A. Model analysis of difference between EGF pathway and FGF pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 314:1113-1120, 2004.

Nobuhisa I, Kato R, Inoue H, Takizawa M, Okita K, Yoshimura A, Taga T. Spred-2 Suppresses Aorta-Gonad-Mesonephros Hematopoiesis by Inhibiting MAP Kinase Activation. *J Exp Med*. 199:737-742, 2004.

Kamio M, Yoshida T, Ogata H, Douchi T, Nagata Y, Inoue M, Hasegawa M, Yonemitsu Y, Yoshimura A. SOCS1 inhibits HPV-E7-mediated transformation by inducing degradation of E7 protein. *Oncogene* 17,3108-3116, 2004

Qu L, Huang S, (他5名), Taya Y, Yoshimura A, Koromilas AE. Endoplasmic reticulum stress induces p53 cytoplasmic localization and prevents p53-dependent apoptosis by a pathway involving glycogen synthase kinase-3 β . *Genes Dev.* 18:261-277, 2004.

Gatto L, Berlato C, Poli V, Tininini S, Kinjyo I, Yoshimura A, Cassatella MA, Bazzoni F. Analysis of suppressor of cytokine signaling (SOCS)-3 promoter responses to interferon. *J Biol Chem.* 279:13746-13754, 2004

Joo A, Aburatani H, Morii E, Iba H, Yoshimura A. STAT3 and MITF cooperatively induce cellular transformation through upregulation of c-fos expression. *Oncogene.*, 23: 726-734, 2004.

Kimura A, Kinjyo I, Matsumura Y, Mori H, Mashima R, Harada M, Chien KR, Yasukawa H, Yoshimura A. SOCS3 is a physiological negative regulator for granulopoiesis and G-CSF receptor signaling. *J Biol Chem.* 297; 6905-6910, 2004

Fischer P, Lehmann U, (他5名), Yoshimura A, Johnston JA, Muller-Newen G, Heinrich PC, Schaper F. The role of the inhibitor of interleukin-6 signal transduction SHP2 and SOCS3 for desensitisation of interleukin-6 signalling. *Biochem J.* 378: 449-460, 2004

Yamanaka A, Hamano S, Miyazaki Y, Ishii K, Takeda A, Mak TW, Himeno K, Yoshimura A, Yoshida H. Hyperproduction of proinflammatory cytokines by WSX-1-deficient NKT cells in concanavalin A-induced hepatitis. *J Immunol.* 2004;172: 3590-3596. (2003) -25

Kubo M, Hanada T, Yoshimura A. Suppressors of cytokine signaling and immunity. *Nat Immunol.* 2003, 4: 1169-1176.

Hamano S, Himeno K, Miyazaki Y, Ishii K, Yamanaka A, Takeda A, Zhang M, Hisaeda H, Mak TW, Yoshimura A, Yoshida H. WSX-1 required for resistance to Trypanosoma cruzi infection by regulation of proinflammatory cytokine production. *Immunity.* 2003, 19: 657-667.

Hanada T, Yoshida H, Kato S, Tanaka K, Masutani K, Tsukada J, Nomura Y, Mimata H, Kubo M, Yoshimura A. Suppressor of cytokine signaling-1 is essential for suppressing dendritic cell activation and systemic autoimmunity. *Immunity.* 2003; 19: 437-450

Seki Y, Inoue H, Nagata N, (他7名), Cacalano N, O'Garra A, Oshida T, Saito H, Johnston JA, Yoshimura A, Kubo M.: SOCS-3 regulates onset and maintenance of TH2-mediated allergic responses *Nature Medicine* 2003, 9, 1047-1054

Yamamoto T, Yumioka T, Sekine Y, Sato N, Minoguchi M, Yoshimura A, Matsuda T. Regulation of Fc γ receptor-mediated signaling by an adaptor protein STAP-2/BSK in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 ;306:767-773.

Yasukawa H, Ohishi M, Mori H, (他5名), Akira S, Hoshijima M, Hirano T, Chien KR, and Yoshimura A; IL-6 induces an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages *Nature Immunol.* 2003; 4, 551-556

Saeki K, Miura Y, Aki D, Kurosaki T, and Yoshimura A; The B cell-specific major raft protein, Raftlin is necessary for the integrity of lipid raft and BCR signal transduction. *EMBO J* 2003, 22:3015-3026

Hanada T, Kinjyo I, Inagaki-Ohara K, Yoshimura A. Negative regulation of cytokine signaling by CIS/SOCS family proteins and their roles in inflammatory diseases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003; 149: 72-86

Sasaki, A, Taketomi T, Kato R, Saeki K, Nonami A, Sasaki M, Kuriyama M, Saito N, Shibuya M, Yoshimura A. Mammalian Sprouty4 suppresses Ras-independent ERK activation by binding to Raf1 *Nature Cell Biol.* 2003, 5:427-432.

Yasukawa H, Yajima T, Duplain H, Iwatate M, Kido M, Hoshijima M, Weitzman MD, Nakamura T, Woodard S, Xiong D, Yoshimura A, Chien KR, Knowlton KU. The suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1) is a novel therapeutic target for enterovirus-induced cardiac injury. *J Clin Invest.* 2003, 111: 469-478.

Matsumoto A, Seki YI, Watanabe R, Hayashi K, Johnston JA, Harada Y, Abe R, Yoshimura A, Kubo M. A Role of Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3/CIS3/SSI3) in CD28-mediated Interleukin 2 Production. *J Exp Med.* 2003, 197: 425-436.

Minoguchi M, Minoguchi S, Aki D, Joo A, Yamamoto T, Yumioka T, Matsuda T, Yoshimura A. STAP-2/BKS, an adaptor/docking protein, modulates STAT3 activation in acute-phase response through its YXXQ motif. *J Biol Chem.* 2003 278: 11182-11189

Sasaki A, (他6名), Yoshimura A. The N-terminal truncated isoform of SOCS3 translated from an alternative initiation AUG codon under stress conditions is stable due to the lack of a major ubiquitination site, Lys-6. *J Biol Chem.* 2003 278:2432-2436

Wollberg P, Lennartsson J, Gottfridsson E, Yoshimura A, Ronnstrand L. The adapter protein APS associates to the multifunctional docking sites Tyr568 and Tyr936 in c-Kit: possible role in v-Kit transformation. *Biochem J.* 2003, 370 1033-1038

Yamada S, Shiono S, Joo A, Yoshimura A. Control mechanism of JAK/STAT signal transduction pathway. *FEBS Lett.* 2003 ;534:190-196. (2002)

Kinjyo I, Hanada T, Inagaki-Ohara K, Mori H, Aki D, Ohishi M, Yoshida H, Kubo M, and Yoshimura A SOCS1/JAB Is a Negative Regulator of LPS-Induced Macrophage Activation. *Immunity*;17: 583-591,2002.

Flodstrom M, Maday A, Balakrishna D, Cleary MM, Yoshimura A and Sarvetnick N; Antiviral defenses expressed by the pancreatic b cell govern the development of type 1 diabetes after Coxsackievirus B4 infection. *Nature Immunology*;3 : 373-382, 2002. (2001)

Wakioka T, Sasaki A, Kato R, Shouda T, Matsumoto A, Miyoshi K, Tsuneoka M, Komiya S, Baron R and Yoshimura A; Spred, a Sprouty-related suppressor of Ras signaling. *Nature*;412 : 647-651, 2001.