

Title	ヒトインターロイキン6 (IL-6) リセプターをコードするcDNAのクローニングとその発見
Author(s)	山崎, 勝彦
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36078
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	やま 山	きき 崎	かつ 勝	ひこ 彦
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8600	号	
学位授与の日付	平成元年3月24日			
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ヒトインターロイキン6(IL-6)リセプターをコードする cDNAのクローニングとその発見			
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 北村 幸彦			

論文内容の要旨

(目的)

インターロイキン6 (IL-6/BSF-2/IFN β ₂) は、広汎な標的細胞に対して、増殖刺激や抑制、分化誘導と、多様な活性を有するサイトカインである。如何にして、このように多様な活性が細胞の核内に伝達されるのかを解明するには、そのリセプターの構造を知ることが必要である。しかしながら一つの細胞当りの発現量は10²~10³ 個ときわめて少なく、レセプター分子の精製のみならず、この分子に対するモノクローナル抗体の作製も難しい。

そこで我々は、リガンド自身、即ちIL-6自身をプローブに用い、発現ベクターと蛍光染色細胞分別機 (FACS 440) による分離を組み合わせ、IL-6レセプターのcDNAをクローニングし、その構造を決定した。

(方法)

1. ヒトNK様細胞株YT細胞のmRNAよりCDM8発現ベクターに組み込まれたcDNAライブラリー合成し、サルCOS7細胞に形質導入した。
 2. この細胞を、ビオチン化したIL-6 (biIL-6) 並びにFITCを結合したavidin (FITC-A) により染色し、陽性に染色された細胞を、FAC440により選別した。
 3. これらの選別された細胞よりプラスミドDNAを抽出した。
 4. このプラスミドによりE. coli MC1061/P3を形質転換し、増幅後プラスミドを回収した。
- 以上の1-4のステップを繰り返すことにより、IL-6レセプターのcDNAをインサートを持つクローンpBSF2R.236をクローニングした。

(成績)

pBSF 2R. 236を発現効率の高いマウス COP 細胞に形質導入し、FACS 440により解析したところ、IL-6 レセプターの発現を認めた。この染色は、rIL-1やrIL-2により阻害されず、従ってIL-6 特異的であった。

pBSF 2R. 236のインサートcDNAをプローブにNorthern blot解析を行った所、YT、骨髓腫細胞株U266、EBvirus 形質転換株CESS、組織球性白血病細胞株U937では、一様に約5kbのメッセージの発現を認め、T細胞株Jurkat、バーキットリンパ腫細胞株BL29には、メッセージの発現を認めなかった。これらの結果は、放射性ヨードにより標識されたIL-6 による結合試験の結果と一致する。

本クローンを、Jurkat細胞株に形質導入し樹立されたpermanent 形質転換株JBSF 2R. 236について、IL-6 の結合試験を行ったところ、高親和性(解離定数 $K_d=10^{-11}$)並びに低親和性($K_d=10^{-9}$)の2種類の結合部位が発現されていることが明かとなった。U266細胞株において発現されている本来のレセプターも、同様に高親和性並びに低親和性の結合部位を有していた。

pBSF 2R. 236のインサートcDNA、さらにこのcDNAをプローブに用いてライブラリーのスクリーニングにより得られたクローンより塩基配列を決定した。これより予想される受容体分子のアミノ酸配列を解析したところ、468個のアミノ酸よりなる膜貫通型蛋白であることが判明した。又、シグナルペプチド後の約90アミノ酸は、抗体分子のドメイン構造の共通のモチーフを有することが明かとなった。

細胞質領域は約80アミノ酸よりなるが、NBRF data base中には、相同性を有した蛋白は認められない。又、他の増殖因子のレセプターに認めるチロシンキナーゼ領域を有しない。

(総括)

1. ヒトIL-6レセプターのcDNAをクローニングした。
2. レセプターは、468個のアミノ酸よりなる膜貫通型蛋白である。
3. メッセージは1種類(約5 kb)である。
4. 本クローンにコードされるレセプターは、本来のレセプター同様、高低両親和性の結合部位を発現し得る。
5. 第1ドメインは、抗体分子のドメイン構造を有する。
6. 約80アミノ酸よりなる細胞質領域は、チロシンキナーゼ領域を有しない。従って、IL-6 レセプターを介するシグナル伝達には、未知なる生化学的機構が存在している可能性がある。

論文の審査結果の要旨

ヒトIL-6は、免疫応答や急性期反応で重要な役割を演ずるサイトカインであり、様々な標的細胞に対して作用し、増殖の刺激や抑制、或は分化誘導と多様な活性を有する。如何にして、この様に多様な活性が発揮されるのかを解明するため、申請者はIL-6に対するレセプターのcDNAをクローニングし、その一次構造を明らかにした。この場合、レセプターの発現量が一細胞当たり $10^2 \sim 10^3$ 個と低いため、

発現ベクターと FACS（蛍光染色細胞分別機）による選別を組み合わせるという漸新な手法により、これを可能にしている。本リセプターのcDNAのクローニングにより、リセプター分子を自在に用いた実験が可能となり、未だ解明されないサイトカンのシグナル伝達の物質レベルでの探究を一步押し進めたといえる。以上より、本論文は博士号授与に値するものとする。