

Title	Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene.
Author(s)	保川, 清
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36961">https://hdl.handle.net/11094/36961</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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)	保 川 清
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8870 号
学位授与の日付	平成元年10月5日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene. (B細胞刺激因子-2 (BSF-2/IL-6) 遺伝子の構造と発現)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 谷口 維紹

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

B細胞分化因子として性状と機能が研究されたBSF-2 (IL-6) は、cDNAが単離され、一次構造が決定された結果、免疫系で生物活性を発揮するだけでなく、標的細胞によって多様な生物活性を示す生理活性因子であることが明らかになった。

種々の免疫異常症をも含めた生命現象の中でのIL-6の役割と、IL-6の分子レベルでの作用機序を解明していく一環として、IL-6染色体遺伝子の構造と発現に関する情報は重要である。

本研究では、5'上流を含むIL-6染色体遺伝子をクローニングし、その全構造を決定し解析した。次にIL-6を産生する細胞種を明確にするために、種々の細胞におけるIL-6 mRNAの発現について検討した。さらに、IL-6遺伝子の転写開始部位を決定し、IL-6遺伝子の発現様式との関係について検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

1. IL-6染色体遺伝子のクローニング ヒト扁桃腺からDNAを抽出し、制限酵素Sau 3 AIで平均20kbpに限定分解し、フェージEMBL-3のBamHI部位に挿入し、ジェノミックライブラリーを作製した。ヒトIL-6 cDNAをプローブとして、約100万クローンをスクリーニングした結果、5個のクローンを単離した。さらにインサートDNAを解析した結果、このうちの1クローン、λGBSF2-2を選び、以下の解析に用いた。
2. IL-6染色体遺伝子の全塩基配列決定 5'上流1200bpを含むIL-6染色体遺伝子6 kbpの全塩基配列をM13法とマキサムギルバート法により決定し、以下の知見を得た。まず、IL-6染色体遺伝

子は、5個のエクソンと4個のイントロンより構成されることがわかった。スプライシング部位はいずれもGT-AG則に従っていた。次に、IL-6とG-CSFは一次構造だけでなく、染色体遺伝子の構造も類似していることが明らかになり、両者が同一の祖先遺伝子に由来することが示唆された。またIL-6遺伝子5'上流(-344~-311)には、IL-2遺伝子上の5'にありエンハンサー様活性を持つ配列との相同性が認められた。さらにIL-6遺伝子5'上流には、IFN- $\beta_1$ 遺伝子上のエンハンサー活性に必要な繰り返し配列と相同性をもつ配列が同定された。ともに機能は明らかではない。

3. IL-6 mRNAの各種細胞での発現 各種細胞からmRNAを抽出し、IL-6 cDNAをプローブとしてノーザンブロットにより解析した。その結果、膀胱癌細胞株T24、HTLV-1形質転換T細胞株Na1、羊膜由来細胞株FLでは恒常的にIL-6 mRNAが産生されていたが、T細胞株HSB、CEM、Jurkat、パーキットリンフォーマDaudi、EBV形質転換B細胞株SKW6-CL4、リンフォーマ細胞株Reh、KM-3、プロミエロサイトーマHL-60、マクロファージ様細胞株U973、アストロサイトーマU373、グリオブラストーマSK-MG-4、ニューロブラストーマSK-N-MCでは、恒常的にはIL-6 mRNAが産生されていなかった。このようにIL-6 mRNAの発現は、細胞種により異なることが示された。さらに、U373、SK-MG-4ではIL-1 $\beta$ 刺激により、IL-6 mRNAの発現が強く誘導された。これは、IL-6が脳神経伝達系でも重要な役割を担っていることを示唆する。

4. IL-6染色体遺伝子の転写開始部位の決定 S1ヌクレアーゼ法とプライマー伸長法により、各種細胞で発現されているIL-6 mRNAの転写開始部位を決定した。その結果、転写開始部位が3か所(C1; -63~-64, C2; -86~-88, C3; ~-176)にて認められ、対応するTATAboxがそれぞれ5'上流領域に認められた。IL-1刺激によりIL-6 mRNAを発現するSK-MG-4はC1から優先的に転写が開始されるが、IL-6を恒常的に産生するT24ではC3から、Na1やマイトジェン刺激を受けたリンパ球ではC1、C2から転写が開始されることが判明した。このように、各転写部位の使用頻度は細胞間で異なり、IL-6発現には複数の機構が存在することが示された。

〔総括〕

IL-6の染色体遺伝子をクローニングし、その全構造を決定した。また、種々の細胞でのIL-6 mRNAの発現を調べた。さらにIL-6遺伝子の転写開始部位を決定した。

## 論文の審査結果の要旨

インターロイキン6 (IL-6/BSF-2)は、cDNAが単離され、一次構造が決定された結果、標的細胞によって多様な生物活性を示す多機能分子であることが明らかになった。免疫異常症をも含めたIL-6の生理的役割と、IL-6の分子レベルでの作用機序を解明していく一環として本論文はIL-6染色体遺伝子の構造と発現についての研究結果をまとめたものである。

IL-6染色体遺伝子の全構造を決定した結果、エクソン・イントロン構成においてG-CSFとの類

似性を示し、IL-6の造血系での活性を示唆した。また5'上流領域に転写制御に関わる種々の塩基配列を見い出した。各種細胞におけるIL-6 mRNAの発現を解析した結果からは、グリオブラストーマ、アストロサイトーマでIL-1刺激によりIL-6 mRNAの発現が誘導されることを示し、IL-6の脳神経伝達系での活性を示唆した。さらにIL-6染色体遺伝子の転写開始部位を決定した結果からは、3つの転写開始部位の存在とその使用頻度が細胞間で異なることからIL-6発現には複数の機構が存在することを示した。これらの研究成果は意義深いものであり、よって本論文は学位論文としてふさわしいものであると結論する。