



Title	Murine interleukin 2 receptor $\beta$ chain : Dysregulated gene expression in lymphoma line EL-4 caused by a promoter insertion
Author(s)	河野, 剛志
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38286">https://hdl.handle.net/11094/38286</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名	河 野 剛 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 4 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 6 月 8 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Murine interleukin 2 receptor $\beta$ chain: Dysregulated gene expression in lymphoma line EL-4 caused by a promoter insertion (マウスインターロイキン2受容体 $\beta$ 鎖：リンパ腫細胞株EL-4細胞における脱制御された遺伝子発現はプロモーター配列の挿入によって起きている) (主査) 教 授 谷口 維紹 (副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 平野 俊夫
論 文 審 査 委 員	

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

インターロイキン2 (IL-2) はT細胞増殖因子として同定され、その生物活性は機能的受容体を介して伝達される。機能的 IL-2 R は少なくとも  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖で構成され、 $\beta$  鎖がシグナル伝達に重要であることが示唆されていた。ヒト IL-2 受容体  $\beta$  鎖 (IL-2R  $\beta$  鎖) の cDNA が単離されたが既存の分子との相同性はみられなかった。機能的に重要な領域は種間で保存されていることが予測され、マウスの IL-2R  $\beta$  鎖の構造を明かにすることは IL-2R  $\beta$  鎖の機能領域や IL-2 によって導かれる現象を in vivo の系で解明するうえで有益であると考えマウス IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA の単離を試みた。

### 〔方法ならびに成績〕

コンカナバリンA (Con A) で刺激したマウス脾臓細胞より cDNA ライブラリーを作製し、ヒト IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA をプローブとしてクロスハイブリダイゼーションを行いマウス IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA を単離しその構造を決定した。得られた cDNA の解析からマウス IL-2R  $\beta$  鎖は539アミノ酸からなり、ヒトとの相同性は58%であった。この cDNA をプローブとして用いた RNA ブロットング解析から骨髓単球性白血病株 M1 細胞、IL-2 依存性 T 細胞株 CTLL-2、リンパ腫細胞株 EL-4 (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup>) で  $\beta$  鎖の恒常的発現がみられた。組織においては脾臓、胸腺において弱いながら恒常的発現がみられ、脾臓においては ConA 刺激で  $\beta$  鎖 mRNA の発現が約25倍に増加した。

単離した cDNA が実際にマウス IL-2R  $\beta$  鎖をコードしているか確かめるためにマウス lck 遺伝子のプロモーターをもつ発現ベクターを構築しマウス IL-3 依存性 pro-B 細胞株 BAF-B03 細胞に遺伝子導入して得られた細胞の IL-2 結合能及び IL-2 応答性を調べた。BAF-B03細胞は内在性の低親和性マウス IL-2  $\alpha$  鎖のみ発現しており IL-2 では増殖できない。それに対して、マウス IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA を遺伝子導入して得られた B0M  $\beta$  3細胞は高親和性 IL-2 結合能も示し、さらに IL-3 非存在下でも IL-2 によって増殖したことから、この cDNA がマウス IL-2R  $\beta$  鎖をコードすることが示された。

EL-4 細胞の IL-2R  $\beta$  鎖 mRNA は脾臓細胞の mRNA に比べ僅かにそのサイズが大きかった。そこで EL-4 細胞由来

の IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA を解析した結果、EL-4 細胞由来の cDNA の 5' 非翻訳領域にはマウス IAP の LTR 配列が挿入されていた。DNA ブロッキング解析および SI マッピング解析の結果から EL-4 細胞では片方の IL-2R  $\beta$  鎖遺伝子領域に遺伝子再編成が起き、挿入 LTR のプロモーター活性により IL-2R  $\beta$  鎖 mRNA の恒常的発現が促されていると考えられた。

[総括]

- 1) マウスとヒトの IL-2R  $\beta$  鎖のアミノ酸配列の相同性は 58% であったが、非常に良く保存された領域が局在しており、さらにマウスエリスロポイエチン (EPO) 受容体との比較から細胞外領域の 4 つの Cys 残基とドメイン I、細胞内領域のドメイン II で示される領域が両受容体間で有意に保存されていることから、これらの領域が受容体の機能に重要であることが示唆された。
- 2) 4 つの Cys 残基及びドメイン I にある Trp-Ser-(X)-Trp-Ser のモチーフはその後相次いで cDNA が単離された IL-3, IL-4, IL-6, EPO, GM-CSF, growth hormone, prolactin の受容体にも存在し、新しい分子ファミリーを構成していることが示唆された。
- 3) BAF-B03 細胞に遺伝子導入によりマウス IL-2R  $\beta$  鎖を発現させることで IL-2R  $\beta$  鎖が内在性の IL-2R  $\alpha$  鎖と会合して高親和性 IL-2 結合部位を形成し IL-2 による増殖シグナルを伝達することが示された。
- 4) リンパ腫細胞株 EL-4 細胞ではプロモーター挿入により IL-2R  $\beta$  鎖遺伝子の恒常的発現が起きていた。IL-2R  $\beta$  鎖は IL-2 の増殖シグナルを伝達する分子であり、通常は CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup> の T 細胞では抗原刺激を受けないと IL-2R  $\beta$  鎖は発現しないことから、リンパ腫の発生に IL-2R  $\beta$  鎖の異常発現が関わっていると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

インターロイキン 2 (IL-2) は T 細胞増殖因子として同定され、その作用は少なくとも  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖の 2 つの分子で構成される高親和性受容体を介して細胞内に伝えられる。そのシグナル伝達は特に  $\beta$  鎖が担っていると考えられるが、そのメカニズムについては未だ不明である。

本論文では、マウス IL-2 受容体  $\beta$  鎖 (IL-2R  $\beta$  鎖) cDNA が単離され、その構造を明らかにしており、ヒトとマウスとの 1 次構造の比較から本分子の機能的に重要な領域を知る上で貴重な情報を提供している。さらに、RNA ブロッキングの解析から、胸腺細胞や骨髓系細胞株においても  $\beta$  鎖が発現していることを示している。一方、リンパ腫細胞株 EL-4 細胞における  $\beta$  鎖の異常な発現は片方の  $\beta$  鎖遺伝子に変異が起き、マウス内在性レトロウイルス、IAP 遺伝子のプロモーター活性によることを明らかにしている。これらの知見はさまざまな血球系細胞の増殖、分化に IL-2/IL-2R システムが関与しうることを示唆しており、さらにシグナル伝達分子である  $\beta$  鎖の異常発現とリンパ腫の発生との関連性が示唆され興味深い。

今回のマウス IL-2R  $\beta$  鎖 cDNA の単離により、トランスジェニックマウスやジーンターゲティングなど *in vivo* における IL-2/IL-2R の役割の解析が可能となり、又、実際に得られたマウス  $\beta$  鎖 cDNA を遺伝子導入によって細胞表面に大量に発現させ、その細胞を免疫原として用いることで、今まで困難であったマウス IL-2R  $\beta$  鎖に対する抗体の作製を可能とし、今後、この分野での研究に大きく役立っている。

以上のことから本論文は学位論文として充分値すると考えられる。