The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Murine interleukin 2 receptor β 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	https://hdl.handle.net/11094/38286
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 30 】

氏　　名	河　野　剛　志（こう の たけ し）
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 β 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β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）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授　谷口　維紹 （副査） 教 授　濱岡　利之　　教 授　平野　俊夫

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-2Rは少なくともα鎖とβ鎖で構成され，β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β鎖（IL-2Rβ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-2Rβ鎖の構造を明かにすることはIL-2Rβ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-2Rβ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-2Rβ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-2Rβ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-2Rβ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ブロッティング解析から骨髄単球性白血病株M1細胞，IL-2依存性T細胞株CTLL-2，リンパ腫細胞株EL-4（$CD4^+$，$CD8^-$）でβ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β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-2Rβ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-2α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-2Rβ鎖cDNAを遺伝子導入して得られたB0Mβ3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-2Rβ鎖をコードすることが示された。

EL-4細胞のIL-2Rβ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-2Rβ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ブロッティング解析およびSIマッピング解析の結果からEL-4細胞では片方のIL-2Rβ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-2Rβ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-2Rβ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, prolaction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-2Rβ鎖を発現させることでIL-2Rβ鎖が内在性のIL-2Rα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-2Rβ鎖遺伝子の恒常的発現が起きていた。IL-2Rβ鎖はIL-2の増殖シグナルを伝達する分子であり，通常は$CD4^+$，$CD8^-$のT細胞では抗原刺激を受けないとIL-2Rβ鎖は発現しないことから，リンパ腫の発生にIL-2Rβ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α鎖とβ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β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β鎖（IL-2Rβ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ブロッティングの解析から，胸腺細胞や骨髄系細胞株においてもβ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β鎖の異常な発現は片方のβ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β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-2Rβ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β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-2Rβ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。