

Title	Soluble forms of the Interleukin-6 signal-transducing receptor component gp130 in human serum possessing a potential to inhibit signals through membrane-anchored gp130.
Author(s)	楢崎,雅司
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38933
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 楢 崎 雅 司

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学位記番号第 11269 号

学位授与年月日 平成6年3月25日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

医学研究科病理系専攻

学 位 論 文 名 Soluble forms of the Interleukin-6 signal-transducing receptor

component gp130 in human serum possessing a potential to inhibit

signals through membrane-anchored gp130.

(ヒト血清中に存在する可溶性型の interleukin-6信号伝達分子 gp130 は、細胞膜上の gp130を介する信号を阻害する能力を有する。)

論文審查委員

(王査) 教 授 岸本 忠三

(副査) 教 授 平野 俊夫 教 授 田中亀代次

論文内容の要旨

【目的】

Interleukin-6 (IL-6) は多様な細胞に働いて、増殖、分化などを制御する。 IL-6レセプター (IL-6R) は IL-6を結合後、信号伝達分子 gp130に会合することで IL-6の信号が細胞内に伝えられる。この 2 本鎖 IL-6R 複合体のうち IL-6R については、ヒト血清中や尿中に可溶型(sIL-6R)が存在し、又、IL-6と結合したのち細胞膜上の gp130と会合し信号を伝える能力を保有していることが示されている。もうひとつの膜分子 gp130の可溶性型(sgp130)については生体内での存在はこれまで知られていない。人工的なリコンビナント可溶性 gp130(rsgp130)は IL-6、rsIL-6R と共に三者の複合体を形成できることから、sgp130が生体中に存在すれば、その分子は IL-6の作用を制御しうる可能性が考えられる。又、細胞膜上の gp130分子は IL-6のみならず oncostatin M(OSM)、Ieukemia inhibitory factor (LIF)、ciliary neurotrophic factor (CNTF)にも共通の信号伝達分子であることから、sgp130はこれらのサイトカインの生物活性に影響を与えることも予想される。本研究はこれらを明らかにする目的で行なわれた。

【方法ならびに成績】

1. IL-6/sIL-6R複合体と会合する能力を有するヒト血清中のsgp130の存在の証明とその定量化。

健常人血清に IL-6を加え室温 1 時間放置後,抗 IL-6Rモノクローナル抗体(mAb)にて免疫沈降し,抗 gp130ポリクローナル抗体(po1Ab)を用いてウェスタン解析したところ分子量90k と110k のふたつのバンドを検出した。また,このバンドは同血清を抗 gp130mAb により免疫沈降し,抗 gp130 po1Ab によるウェスタン解析でも検出された。従ってヒト血清中には sgp130 分子が存在し,同分子は IL-6存在下で血清中の sIL-6R とともにIL-6/sIL-6R/sgp130 三量体を形成することが示された。次に,抗 gp130mAbを ELISA 用プレートにコートし,抗 gp130 po1Ab を検出に用いた ELISA 法により健常人血清中の sgp130濃度を測定したところ390±72ng/mlであった。

2. 血清中 sgp130の, sIL-6Rを介する IL-6の信号の阻害。

IL-6Rを膜面上に発現していないマウスプロB細胞株にヒト膜型 gp130を発現させた BAF-130細胞株は IL-6には 反応しない。この系にヒト血清を添加すると DNA 合成を開始したが,mAb により sIL-6R を吸収除去した血清では この反応は見られなかった。一方,血清より別の mAb により sgp130を除去すると DNA 合成は増強された。 これら の結果より血清中の sIL-6R は IL-6を結合して膜型 gp130に信号を伝え,逆に血清中の sgp130はこの信号を阻害する ことが明らかになった。さらに rsgp130を用いた場合 rsgp130濃度依存性に阻害効果が高まり, 10^{8} M 濃度の rsgp130

を加えた場合にBAF-130の反応は半減した。

3. gp130を信号伝達鎖として共有するサイトカイン群の生物活性に及ぼす sgp130の効果。

ヒト赤白血病細胞株 TFI は IL-6, OSM, LIF, CNTF/sCNTF-R 複合体の刺激により増殖する。rsgp130の添加により OSM, LIF, CNTF/sCNTF-R 複合体刺激による増殖反応が有意に減少したがその内 LIF については他の 2 者に比べて減少の度合いが少なかった。一方, IL-6R + /gp130 + であるこの TFI 細胞では IL-6刺激による増殖は rsgp130では殆ど阻害されなかった。

【考察ならびに総括】

本研究において以前から報告のある sIL-6R 以外に,sgp130も血清中に存在することを示し健常人でのその濃度を測定した。又,血清中の sgp130は IL-6存在下で血清中の sIL-6R と会合する能力を持ち,BAF-130のような IL-6R/gp130+細胞に対する IL-6/sIL-6R 複合体による DNA 合成促進作用を阻害した。gp130は OSM,LIF,CNTF の共通の信号伝達鎖であるが,rsgp130はこれらの生物活性を有意に阻害した。rsgp130の IL-6を含むこれらのサイトカインへの阻害作用は各々異なるが,これはgp130とそれぞれのサイトカイン固有のレセプターとの会合親和性の違いによる可能性が考えられる。本研究により血清中に存在する sgp130は gp130を信号伝達鎖として共有する複数のサイトカインに対してその効果を制御するという生理的役割を担っている可能性が導かれた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、Interleukin-6(IL-6)、oncostatin M (OSM)、leukemia inhibitory factor (LIF)、ciliary neurotrophic factor (CNTF)などのサイトカインに共通に用いられる信号伝達性膜蛋白 gp130に関して、その可溶型の存在の有無とその作用を検討したものである。本研究から、可溶性 gp130がヒトの血清中に生理的に存在し、血清中の可溶性 IL-6レセプターと IL-6存在下に 3 量体を形成することを示し、さらにこれが IL-6の作用の抑制につながるという知見が得られた。また、可溶性 gp130は OSM、LIF、CNTF の生物作用をも抑制するという新たな事実を示した。これらの知見はサイトカインの生理的作用を考える上で可溶性のレセプター構成蛋白分子の存在を考慮する必要性を示唆するものであり、また、gp130を介するサイトカインの作用を人為的に制御する糸口を与えるものである。よって本研究は学位論文に値するものと思われる。