

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)	檜崎, 雅司
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/38933
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	なら ざき まさ し 榎 崎 雅 司
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 1 2 6 9 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。)
論文審査委員	(主査) 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性型 (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。人工的なり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)、Leukemia 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 $390 \pm 72 \text{ ng/ml}$ 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、その可溶性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。