The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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、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（ならざきまさし）
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　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），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（polAb）を用いてウエ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 polAbによるウエ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 polAb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。