

Title	Functional activation of Jak1 and Jak3 by selective association with IL-2 receptor subunits
Author(s)	宮崎, 忠昭
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39254
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	宮崎 忠昭
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11956 号
学位授与年月日	平成 7 年 3 月 23 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	Functional activation of Jak 1 and Jak 3 by selective association with IL-2 receptor subunits (Jak 1 および Jak 3 はインターロイキン 2 受容体サブユニットに選択的に会合し, 機能的に活性化される)
論文審査委員	(主査) 教授 辻本 賀英 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 高井 義美

論文内容の要旨

【目的】

T細胞増殖因子インターロイキン 2 (IL-2) のシグナルは, 少なくとも 3 つの α , β および γ 鎖よりなる IL-2 受容体 (IL-2 R) を介して伝達されるが, その下流のシグナル伝達機構には不明な点が多い。これまでの研究により IL-2 R β 鎖に *src*-family キナーゼ p56^{lck} が物理的に会合し, IL-2 刺激により活性化されることが知られていた。しかし, IL-2 R β 鎖の細胞内の酸性アミノ酸に富む領域 (“acidic” 領域) の欠失変異体は, 増殖シグナル伝達能を有するが, p56^{lck} の会合および活性化能力を持たないことから, p56^{lck} の増殖シグナル伝達における役割は不明である。本研究では, *src*-family 以外のチロシンキナーゼ Jak キナーゼの IL-2 シグナル伝達への関与および役割を明らかにする目的で, IL-2 R β および γ 鎖との会合, 活性化および機能を調べ, 増殖シグナル伝達における役割を解析した。

【方法ならびに成績】

最近, IL-2 刺激により Jak 1 および Jak 3 のチロシンリン酸化および活性化がおこることが報告された。そこで, まず, これら Jak キナーゼの IL-2 R との会合をマウスプロ B 細胞 BAF-BO 3 を用いて検討した。BAF-BO 3 に CD 4 キメラ受容体 (CD 4- β , CD 4- γ) を発現させた細胞を抗 CD 4 抗体で免疫沈降後, 各抗 Jak 抗体を用いて検出した。その結果, Jak 1 および Jak 3 はそれぞれ IL-2 R β および γ 鎖に選択的に会合していた。Jak 2 と β あるいは γ 鎖との会合はともに殆ど認められなかった。次に IL-2 R β および γ 鎖の細胞内領域の欠失変異体を用いて Jak キナーゼとの会合部位について調べた。Jak 1 との会合には IL-2 R β 鎖の “serine-rich” 領域, そして Jak 3 との会合には γ 鎖の C 末 48 アミノ酸よりなる領域が必要であった。これらの領域はいずれも IL-2 の細胞増殖シグナル伝達に必須の領域であることが知られており, 加えて γ 鎖のこの領域は多くの XSCID 患者で欠失していることが報告されている。次にこれらの会合の Jak キナーゼ活性化への重要性を検討した。マウスプロ B 細胞 BAF-BO 3 にヒト IL-2 R β および γ 鎖を発現させた細胞株 FWT 2 は IL-2 依存性の細胞増殖を示す。この細胞株を用いて IL-2 による Jak キナーゼの活性化を調べたところ, IL-2 刺激により Jak 1 および Jak 3 の活性化は認められたが, Jak 2 は殆ど活性化されなかった。すなわち, IL-2 刺激により Jak 1 および Jak 3 が選択的に活性化され, この活性化と IL-2 R との会合能とに相関があることが認められた。さらに, 線維芽細胞 NIH 3 T 3 に IL-2 R を再構成した細胞系 (3T3 $\alpha\beta\gamma$) では IL-2 に応答しての DNA 合成および細胞増殖は認められないこと, また, NIH 3 T 3 には Jak 1 と Jak 2 の発現が認められるが Jak 3 の発現は認められないことから 3T3 $\alpha\beta\gamma$ に Jak 3 を発現させその機能を解析した。その結果, Jak

3を発現させた3T3 $\alpha\beta\gamma$ はIL-2に応答し、FCS刺激による場合と同等のチミジンの取り込み増加が認められ、Jak 3のIL-2による細胞増殖シグナル伝達における重要性が示された。

【総括】

1) Jak 1およびJak 3はそれぞれIL-2 R β および γ 鎖に選択的に会合しており、その会合部位はいずれもIL-2の細胞増殖シグナル伝達に必須の領域であった。また、IL-2刺激によりJak 1およびJak 3が選択的に活性化され、この活性化とIL-2 Rとの会合能とに相関が認められた。

2) 線維芽細胞NIH 3 T 3にIL-2 Rを再構成した細胞系を用いることにより、Jak 3のIL-2による細胞増殖シグナル伝達における重要性が強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

T細胞増殖因子インターロイキン2 (IL-2) のシグナルは、 α 、 β および γ 鎖よりなるIL-2受容体 (IL-2 R) を介して伝達されるが、その下流のシグナル伝達機構には不明な点が多い。本研究では、src-family 以外のチロシンキナーゼ Jak キナーゼのIL-2シグナル伝達への関与および役割、特にIL-2 R β および γ 鎖との会合、活性化および機能を調べ、増殖シグナル伝達における役割を明らかにしている。その要点は1) Jak 1およびJak 3はそれぞれIL-2 R β および γ 鎖に選択的に会合しており、その会合部位はいずれもIL-2の細胞増殖シグナル伝達に必須の領域であること、また、IL-2刺激によりJak 1およびJak 3が選択的に活性化され、この活性化とIL-2 Rとの会合能とに相関が認められたこと。2) 線維芽細胞NIH 3 T 3にIL-2 Rを再構成した細胞系を用いることにより、Jak 3のIL-2による細胞増殖シグナル伝達における重要性が強く示唆されたことである。これらの研究によりJak キナーゼがIL-2のシグナル伝達に働いており、特に増殖シグナルに重要であることが示されており、本研究は学位に値すると考える。