

Title	Signal transduction mediated by growth hormone receptor and its chimeric molecules with the granulocyte colonystimulating factor receptor
Author(s)	池田, 悦子
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39290
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 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	池 田 悦 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 4 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 6 月 3 0 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	Signal transduction mediated by growth hormone receptor and its chimeric molecules with the granulocyte colony-stimulating factor receptor (キメラ受容体を用いた GH 及び G-CSF 受容体の情報伝達機構の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷 口 維 紹 (副査) 教 授 平 野 俊 夫 教 授 高 井 義 美

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) は、好中性顆粒球の増殖、分化、活性化を促進し、成長ホルモン (GH) は、骨の増殖、筋肉の成長、乳汁分泌、マクロファージの活性化などを促進するサイトカインである。G-CSF 受容体および GH 受容体は、単一の膜貫通領域を有し、その構造から、同一のファミリー、サイトカイン受容体ファミリーに属しており、リガンドとの結合において、単一分子の 2 量体 (ホモダイマー) として高親和性受容体を形成することが示唆されている。G-CSF 受容体および GH 受容体を介した細胞の増殖および分化の情報伝達機構を解析することを目的として、GH、G-CSF 受容体、G-CSF 受容体変異体およびそれらのキメラ分子を用いて骨髓球細胞における情報伝達能を解析した。

[方法ならびに成績]

ウサギ GH 受容体 cDNA を IL-3 依存性骨髓球細胞株 FDC-P1 に構成的に発現させ、GH 結合活性、情報伝達機能を調べたところ、GH 受容体は¹²⁵I-GH と結合し、GH 受容体が GH 依存的に 2 量体を形成しうる濃度、すなわち、100nM 以下の GH 存在下で細胞に増殖シグナルを伝達した。次に、G-CSF 受容体と GH 受容体とのキメラ分子を、リコンビナント PCR を用いたエクソン・スワッピングにより作製し、FDC-P1 に導入後、GH 受容体と同様に解析した。GH 受容体由来のサイトカイン受容体相似 (CRH) ドメインと G-CSF 受容体の細胞質ドメインを持つキメラ受容体は¹²⁵I-GH と結合し 100nM 以下の GH で細胞に増殖シグナルを伝達した。一方、GH 受容体由来の N 末半分と G-CSF 受容体由来の C 末半分からなる CRH ドメインを持つキメラ分子では、¹²⁵I-GH と結合せず増殖シグナルの伝達も観察されなかった。さらに、高濃度の GH 存在下で GH 受容体およびキメラ分子のシグナル伝達能を調べたところ、100nM 以上の GH で増殖の抑制が観察された。次に、G-CSF 受容体の分化シグナル伝達能を解析するために、好中球に特異的な酵素であるミエロペルオキシダーゼ (MPO) と白血球エラスターゼ (LE) 遺伝子の発現を G-CSF 受容体を発現させた FDC-P1 細胞で調べたところ、G-CSF の刺激で MPO と LE 遺伝子の発現が誘導された。この G-CSF による MPO 遺伝子の誘導は、IL-3 や GM-CSF により阻害された。さらに、G

- CSF 受容体変異体および GH/G-CSF キメラ受容体を発現させた細胞で、MPO 遺伝子の誘導を調べたところ、G-CSF 受容体の細胞質 C 末欠損変異体および細胞質 box1 変異体では G-CSF による誘導は見られなかった。また野生型 GH 受容体では GH による MPO 遺伝子の誘導は観察されないが、G-CSF 受容体細胞質領域をもつキメラ受容体では GH による MPO 遺伝子の誘導が見られた。

[総括]

IL-3 依存性骨髓球細胞株、FDC-P1 において、G-CSF 受容体ばかりでなく GH 受容体および GH/G-CSF キメラ受容体が増殖シグナルを伝達しえたことは、IL-3、G-CSF および GH の増殖シグナル伝達機構が類似していることを示唆している。また、GH 受容体において 2 量体が形成されないような高濃度の GH 存在下で GH 受容体ばかりでなく GH/G-CSF 受容体においても増殖シグナルの伝達抑制が生じたことは、G-CSF 受容体もリガンドによって誘導されるホモダイマーが活性型受容体として機能していることを示唆している。

一方、FDC-P1 細胞において G-CSF 受容体が MPO や LE のような好中球に特異的な酵素の遺伝子の発現のシグナルを伝達したが、IL-3 や GH 受容体では見られず、むしろ G-CSF による MPO 遺伝子の発現を阻害した。これら遺伝子発現は好中球の分化の過程で生ずることから、G-CSF 受容体は好中球の分化シグナルを媒介する能力をもつことを示している。さらに G-CSF 受容体細胞質ドメインの変異体を用いた解析により、増殖のシグナル伝達には N 末領域 76 アミノ酸で十分であるが、MPO 遺伝子の誘導には N 末と C 末両方が関与していることが示された。また、キメラ受容体を用いた解析から、MPO 遺伝子の十分な誘導には G-CSF 受容体の細胞質領域 C 末ドメイン 121 アミノ酸が必須であり、GH 受容体の細胞質領域の N 末ドメインが G-CSF 受容体細胞質領域の N 末ドメインの機能を代替しうることが示された。

論文審査の結果の要旨

G-CSF および GH 受容体の細胞質領域にはチロシンキナーゼ等の既知の酵素活性部位は存在せず、そのシグナル伝達機能は明らかでない。GH 受容体に関しては、適当な細胞株による発現系が無く、その機能は不明であった。本研究では IL-3 依存性骨髓性細胞株 FDC-P1 において GH 受容体が 2 量体を形成しうる濃度の GH に依存して細胞に増殖シグナルを伝達しうることを示した。さらに、GH と G-CSF 受容体のキメラ分子を作製し、この分子を介した増殖シグナル伝達も GH の濃度依存性を示し、高濃度の GH 存在下で増殖シグナルの伝達抑制が観察されたことは、G-CSF 受容体もホモダイマーが活性型受容体として機能することを示唆するものである。さらに、本研究では、G-CSF による分化のシグナル伝達機構についても検討しており、FDC-P1 細胞において G-CSF 受容体は、ミエロペルオキシダーゼ (MPO) や白血球エラスターゼのような好中球に特異的な酵素の遺伝子の発現のシグナルを伝達することが示され、さらに G-CSF 受容体細胞質ドメインの変異体および GH 受容体とのキメラ受容体を用いた解析により、分化のシグナル伝達には細胞質内 N 末と C 末の両方の領域が必要であることが見いだされた。また、IL-3 や GM-CSF 受容体では MPO 遺伝子の発現誘導は見られず、むしろ G-CSF による MPO 遺伝子の発現を阻害したことから、G-CSF と IL-3、GM-CSF のシグナル伝達機構にはそれぞれに特異的な系を含む可能性を示している。以上、本研究の結果は、好中球の増殖と分化機構の解明において大きな意義をもつものであり、本論文は学位論文として十分価値あるものと認められる。