

Title	Vav is associated with signal transducing molecules gp130, Grb2 and Erk2, and is tyrosine phosphorylated in response to interleukin-6
Author(s)	李, 仁淑
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40060
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 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	李 仁 淑
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 0 0 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 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	Vav is associated with signal transducing molecules gp130, Grb2 and Erk2, and is tyrosine phosphorylated in response to interleukin - 6 (Vav は信号伝達分子である gp130, Grb2, Erk2 と会合しており, IL-6 刺激によりチロシンリン酸化される)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 菊 谷 仁 (副査) 教 授 岸 本 忠 三 教 授 平 野 俊 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Interleukin - 6 (IL - 6) は種々の細胞に作用し, 増殖・分化等を誘導する。IL - 6 レセプター (IL - 6 R) は IL - 6 と結合した後, gp130 と会合することによって IL - 6 の信号を細胞内に伝える。gp130 は, IL - 6 ファミリー サイトカイン (IL - 6, LIF, OM, IL - 11, CNTF, CT - 1) のおのおのレセプター複合体に共通に用いられる信号伝達分子である。gp130 は IL - 6 刺激によりホモダイマーを形成するとともに, もともと会合している JAK ファミリーチロシンキナーゼ (JAK 1, JAK 2, TYK 2) によるチロシン残基のリン酸化を受ける。チロシンリン酸化された gp130 は種々の信号伝達分子を誘引することでさらに下流に IL - 6 の信号を伝えると考えられる。これまで gp130 の IL - 6 による刺激で細胞質内の STAT 3 が JAK ファミリーによるチロシンリン酸化を受けて活性化されることや, Ras/MAP kinase 経路が活性化されることが明らかになっている。本研究では gp130 の下流における他の信号伝達分子の役割を明らかにする目的で実験を行い, その過程でアダプター分子である Vav が IL - 6 刺激によりチロシンリン酸化されることを見出した。更に, gp130 の細胞内領域のどの部分が Vav のチロシンリン酸化に関わっているか, また gp130 から MAP kinase への経路における Vav の関わりについても検討した。

【方法ならびに成績】

IL - 6 によって増殖が誘導されるヒトのミエローマ細胞株である U266 を IL - 6 で刺激し, その前後の U266 の cell lysate をそれぞれ抗 Vav 抗体にて免疫沈降したのち, 抗リン酸化チロシン抗体を用いてウェスタンブロットを行った。その結果, Vav は IL - 6 刺激後チロシンリン酸化されることが示された。続いて, Vav が gp130 と結合するかどうか, するならば gp130 の細胞内領域のどの部分に結合するのかを検討するために, gp130 の細胞内領域の全域, あるいはサイトカインレセプター間で保存されている box 1, box 2 モチーフよりも C - 末端側を欠く細胞内領域それぞれについて GST との融合蛋白質を作製した。これらの GST - gp130 融合蛋白質を U266 の cell lysate と反応させたところ, 細胞内領域の全域との GST 融合蛋白質の方だけが Vav と結合することが分かった。さらに野生型 gp130 cDNA, あるいは box 1, box 2 モチーフよりも C - 末端側を削除した deletion 型 gp130 cDNA を組み込んだ Vaccinia ウイルスを U266 細胞に感染させてそれぞれの型の gp130 を高発現させたところ, deletion 型の gp130 を高発現する U266 では IL - 6 刺激後の Vav のチロシンリン酸化は認められなかった。

次に他の信号伝達分子と Vav との関わりを検討する目的で IL - 6 刺激前後の U266 の cell lysate を抗 Vav 抗体に

て免疫沈降した後、抗 Erk 2 抗体及び抗 Grb 2 抗体にてウェスタンブロットしたところ、Vav が MAP kinase である Erk 2 及び、信号を Ras へ伝えるアダプター分子である Grb 2 と結合することを見出した。

【総括】

gp130 信号伝達経路に Vav が関与し、IL-6 刺激によりチロシンリン酸化されることを明らかにした。IL-6 による Vav のリン酸化、また Vav と gp130 との結合には、gp130 の細胞内領域の box 2 よりも膜遠位部が重要であることが明らかとなった。更に、Vav と Erk 2 及び Grb 2 との結合が観察されたことより、IL-6 刺激後の gp130 から MAP kinase へ至る経路への Vav の関与が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、interleukin-6 (IL-6) family (IL-6, LIF, CNTF, OM, IL-11, CT-1) に共通に用いられる信号伝達分子である gp130 に関して、その下流にある信号伝達分子らとの関わりを示したものである。本研究から、造血系の proto-oncogene である Vav が IL-6 受容体のシグナル伝達分子である gp130 にその細胞内領域遠位部で会合し、かつ IL-6 刺激に伴いチロシンリン酸化を受けることが証明された。Vav はチロシンキナーゼと Shc, Grb 2, MAPK 等のシグナル伝達分子の間でシグナル伝達を行っていると考えられる他、G-protein の活性化を行うことが示唆されている分子であることから、gp130 からのシグナルの解明の上で重要な知見と考えられる。また、Vav が MAPK 及び Grb 2 と会合することも示しており、あわせて IL-6 受容体を介する MAPK pathway の解明に貴重な知見と考えられる。よって、本研究は学位論文に値するものと認められる。