Osaka University Knowledge Archive

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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【38】

氏　　名	李（り）　仁淑（いんすく）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　13004　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－6R）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（JAK1，JAK2，TYK2）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STAT3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 kinae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と結合するか否か，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box1，box2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box1，box2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。