The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Differentiation and growth arrest signals are generated through the cytoplasmic region of gp130 that is essential for Stat 3 activation
Author(s)	山中, 庸次郎
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40072
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

【34】

氏　　名	山　中　庸次郎（やま なか よう じ ろう）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　13000　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	Differentiation and growth arrest signals are generated through the cytoplasmic region of gp130 that is essential for Stat 3 activation （gp130の Stat 3 活性化領域が分化誘導，増殖抑制シグナルを伝達する。）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　平野　俊夫 （副査） 教　授　長田　重一　　教　授　米田　悦啓

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

IL－6は免疫系，神経系など，多種の細胞に増殖，分化，生存維持等，多彩な機能を持つサイトカインとして知られている。その受容体はα鎖とgp130の2つのサブユニットからなり，シグナル伝達にはgp130の細胞内領域が重要であることが明らかとなっている。gp130はIL－6の他に白血病抑制因子（LIF），毛様体神経栄養因子（CNTF），IL－11，オンコスタチンM，Cardiotropin－1（CT－1）の受容体／情報伝達分子としても働き，これらサイトカインが共通の作用をしめす要因となっていると考えられる。gp130を介するシグナル伝達系の解析は，Jak－STAT系の発見により近年急速に進んだ。IL－6が受容体と結合するとgp130の細胞内領域に会合しているJakファミリーチロシンキナーゼが活性化され細胞内へとシグナルを伝達する。IL－6により活性化される細胞内情報伝達分子は，Jak－STAT系の他にもRas－MAPK系やSrcファミリーチロシンキナーゼが報告されているが，gp130を介する多彩な作用に対し，各情報伝達系がどのような役割を担っているかは明らかとなっていない。そこで本研究では，IL－6により誘導される増殖，分化誘導にどのシグナル系が重要であるか，とくにJak－STAT情報伝達系のIL－6シグナルにおける重要性を明らかとするための解析を行った。

【方法】

IL－6によりマクロファージへと分化するマウス白血病細胞M1細胞を用い，解析を行った。M1細胞には内在性のgp130が発現しているため，細胞外領域がウサギ成長ホルモン受容体（GHR），膜貫通領域と細胞内領域がヒトgp130であるキメラ受容体を作製した。さらに分化誘導にgp130のどの領域が必要であるかを検討するため，様々な欠失およびチロシン点変異体をPCR法を用いて作製しM1細胞へと導入した。これらのキメラ受容体を発現した細胞を成長ホルモンで刺激し，増殖の抑制，分化マーカー遺伝子の発現，最初期遺伝子群の変化等をIL－6刺激の場合と比較検討した。

【結果】

gp130を含むキメラ受容体を発現したM1細胞を成長ホルモンで刺激すると，IL－6刺激と同様マクロファージへと分化誘導した。これまで急性期蛋白質の誘導やSTAT3のリン酸化にはgp130の二量体形成で充分であることが示されていたが，IL－6による分化誘導もgp130のホモ二量体形成で引き起こされることが明らかとなった。gp130のC末側からアミノ酸を欠失させた場合には，細胞内領域133アミノ酸までは全長の場合と同様に分化誘導能を認めた

が，さらに欠失させた108アミノ酸では増殖停止，分化誘導能ともに見られなかった。このときのSTAT 3の活性化，および*c−myb*，*c−myc*遺伝子の発現抑制は，増殖停止，分化誘導できる133アミノ酸まででのみ認められた。欠失変異体による解析ではSTAT 3の活性化と分化誘導能に関連が見られたため，さらに詳細な検討を行った。gp130の細胞内領域277アミノ酸中には6つのチロシン残基がある。このうちC末側4つのチロシン残基はYXXQの共通なモチーフ中にあり，STAT 3の活性化に重要であることが示されている。これらのチロシン残基をフェニルアラニンに置換すると，キメラ受容体中のYXXQのチロシン残基を全て置換した場合にのみ，STAT 3を活性化できなかった。これらのSTAT 3を活性化できないキメラ受容体では，*c−myb*，*c−myc*遺伝子の発現抑制が認められず，増殖抑制，分化誘導能を示さなかった。

【総括】

これまでに，STAT 3活性化に受容体のチロシン残基が重要であることが報告されているが，それらのチロシン残基を欠失，もしくは変異させることによりSTAT 3を活性化できないキメラ受容体では，gp130を介した増殖抑制，分化誘導がみられなくなった。さらにSTAT 3優性劣性変異体を用いた解析によっても同様な結果を得ている。以上のことから，JAK−STAT 3の情報伝達経路がIL−6による増殖抑制，分化誘導に深く関与していることが示された。

論文審査の結果の要旨

高等生物では個体の恒常性を維持するため，免疫系や神経系等の高次生体機能が備わっている。これらの機能は個々の細胞が相互に作用しあい，細胞の増殖，分化，死を調節することにより制御されている。この高次機能を理解するためには，各細胞間でどの様に情報を伝達しているのか，その情報がどの様に細胞内に伝達され，遺伝子の発現調節や酵素の活性調節をしているのかを知ることが不可欠である。これまでに多くの細胞間情報伝達分子（growth factor, cytokine etc,）が発見されその情報伝達経路の解析がなされてきたが，各伝達経路の役割は不明な点が多く残る。本研究はサイトカインの1つであるinterleukin−6の分化誘導能に着目し，分化誘導に重要な情報伝達経路を明らかとしたものである。

本研究では，interleukin−6の刺激によりマクロファージへと分化するM 1細胞に，gp130細胞内領域に様々な変異を導入したgrowth hormone受容体／gp130キメラ受容体を強制発現させ，growth hormoneに対する応答性を検討している。その結果，STAT 3活性化と分化誘導能とが一致していたことから，STAT 3の分化誘導に対する重要性を示唆した。さらにdominant negative STAT 3をM 1細胞に発現させ，実際にM 1細胞分化誘導が抑制されることを示した。以上の結果からinterleukin−6による分化誘導にJAK−STAT情報伝達経路，とくにSTAT 3が重要な役割を果たすことを明確とした。

本研究は，interleukin−6の分子レベルでの情報伝達経路解析とその多彩な生理機能をつなげる意義あるものである。分子レベルでの結果と表出する生命現象との関わりを示す解析は，今後ますます重要になってくるが，その点からみても本研究は高く評価される。よって学位を授与するに値するものと認められる。