

Title	Two signals are necessary for cell proliferation induced by a cytokine receptor gp130 : involvement of STAT3 in anti-apoptosis
Author(s)	Fukada, Toshiyuki
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143820
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	深田俊幸
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13705 号
学位授与年月日	平成10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	Two signals are necessary for cell proliferation induced by a cytokine receptor gp130: involvement of STAT3 in anti-apoptosis. (gp130 を介する細胞増殖誘導には2つのシグナルが必要であり、STAT3 は細胞死抑制に関与する。)
論文審査委員	(主査) 教授 平野 俊夫 (副査) 教授 長田 重一 教授 辻本 賀英

論文内容の要旨

【目的】

gp130 は、IL-6ファミリーサイトカインレセプターの共通サブユニットであり、リガンドの刺激により二重体を形成するとともに会合するチロシンキナーゼ JAK (Janus kinase) によりチロシン残基のリン酸化を受ける。細胞内領域のチロシン残基の中で、細胞膜から数えて2番目のチロシン残基 (Y759) のリン酸化が SHP-2 (Src homology 2 protein tyrosine phosphatase-2) のチロシンリン酸化に、さらに3から6番目のチロシン残基 (Y767, Y814, Y905, Y915) にかけて存在する YxxQ モチーフのチロシンリン酸化が、STAT3 (Signal transducer and activator of transcription3) の活性化に必要であることが解明されている。しかし、gp130 を介する細胞増殖におけるこれらの分子の関与と機能、さらに細胞増殖に必要とされる gp130 の細胞内領域は明らかにされていなかった。我々は、細胞増殖における gp130 の機能領域と、SHP-2 および STAT3 の関与及びそれらの細胞増殖における機能を明らかにするために以下に示す実験を行った。

【方法および結果】

方法

gp130 の細胞膜、細胞内領域と G-CSF-R (Granulocyte-colony stimulating factor receptor) の細胞外領域とのキメラレセプター、および gp130 の細胞内領域の欠失変異体・点変異体を作製し、さらに dominant negative 変異種 STAT3 を用いて、IL-3 依存性マウス B 前駆細胞株である BAF-B03 細胞に形質導入して G-CSF 刺激による gp130 からの刺激依存的な増殖誘導を検討した。

結果

①gp130 細胞膜直下の Box1, Box2 を含む領域を持つ欠失変異体キメラレセプター発現させた細胞を用いて検討した結果、Box1, Box2 を含む領域は c-myc の転写誘導に関与しているが、その領域だけでは gp130 からの刺激依存的な細胞増殖の誘導は認められなかった。

②gp130 の細胞内領域の欠失変異体キメラレセプターを発現させた細胞を用いて増殖誘導を検討した結果、gp130 からの刺激依存的な増殖誘導には gp130 の膜から数えて69から133アミノ酸までの領域が必須であることが明らかになった。

③gp130 の膜から数えて133 アミノ酸までの領域を持つキメラレセプターを発現させた細胞と、その領域内にある SHP-2 のチロシンリン酸化に必要とされる gp130 の膜から 2 番目のチロシン残基 (Y759) をフェニルアラニンに置換したキメラレセプターを発現させた細胞を用いて検討した結果、Y759 からのシグナルが MAPK (Erk2) の活性化と細胞周期の S 期から G2/M 期への移行に関与していることが明らかになった。

④gp130 の膜から数えて133アミノ酸までの領域を持つキメラレセプターを発現させた細胞と、その領域内にある唯一の YxxQ モチーフのチロシン残基である Y767 をフェニルアラニンに置換したキメラレセプターを発現させた細胞を用いて増殖誘導を検討した結果、STAT3 の活性化に必要とされる gp130 内の領域が細胞死抑制および bcl-2 の発現に関与していることが明らかになった。

⑤gp130 の細胞内領域の全長を有するキメラレセプターを発現する細胞に、dominant negative 変異種 STAT3 を発現させて増殖誘導を検討した結果、STAT3 の活性化が細胞死抑制および bcl-2 の発現に関与していることが明らかになった。

【総括】

以上の結果から、gp130 を介する細胞増殖誘導には、MAPK (Erk2) の活性化と細胞周期の S 期から G2/M 期への進行に関する gp130 の膜から 2 番目のチロシン残基 (Y759) を介する経路と、細胞死抑制に関する STAT3 を介する経路の少なくともこの 2 つの経路が必要であることが示された。

論文審査の結果の要旨

B リンパ球の抗体産生細胞への分化を誘導する液性因子として同定された IL-6 は、ミエローマやケラチノ細胞等に対して増殖因子として作用することが明らかになっている。IL-6 の受容体は IL-6 レセプター α 鎖と gp130 から構成され、そのシグナルは gp130 を介して伝達される。gp130 は、LIF, CNTF, OSM, IL-11, CT-1 等の IL-6 ファミリーサイトカインの受容体において共有するサブユニットとして存在し、それらのシグナル伝達にも必須であることが示されている。gp130 は、リガンドの刺激により二重体を形成するとともに会合するチロシンキナーゼ JAK によりチロシン残基のリン酸化を受ける。細胞内領域のチロシン残基の中で、細胞膜から 2 番目 (Y759) 及び 3 番目 (Y767) から 6 番目 (Y915) のチロシン残基のリン酸化が、それぞれ SHP2 および STAT3 の活性化に必要であることが報告されていた。申請者は、細胞増殖における gp130 の機能領域と SHP2 および STAT3 の関与及びそれらの機能を明らかにするために、gp130 の細胞膜、細胞内領域と G-CSF-R (Granulocyte-colony stimulating factor receptor) の細胞外領域とのキメラレセプター、および欠失変異体・点変異体を作製し、IL-3 依存性マウス B 前駆細胞株 BAF-B03 細胞に形質導入して G-CSF による増殖誘導を検討した。その結果、gp130 の Y759 が SHP2-MAPK 経路の活性化と細胞分裂誘導に必要であること、Y767 から Y915 に存在する YXXQ モチーフの変異体および dominant negative 変異種 STAT3 を発現させた細胞株を用いた解析から、STAT3 の活性化シグナルが細胞死抑制および bcl-2 の発現に関与していることを見出した。以上の結果から、gp130 を介する細胞増殖には少なくとも gp130 の Y759 を介する細胞分裂誘導の経路と STAT3 を介する細胞死抑制の経路が必要であることが解明された。gp130 を介する細胞増殖誘導の分子機構の解明に寄与したこの研究結果は、今後の臨床レベルでの応用も期待され、博士の学位授与に値するものと認める。