

Title	MOLECULAR CLONING OF A MURINE IL-6 RECEPTOR-ASSOCIATED SIGNAL TRANSDUCER, gp130, AND ITS REGULATED EXPRESSION IN VIVO
Author(s)	斎藤, 幹良
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41010
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	齋 藤 幹 良
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 3 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 7 月 7 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	MOLECULAR CLONING OF A MURINE IL-6 RECEPTOR-ASSOCIATED SIGNAL TRANSDUCER, gp130, AND ITS REGULATED EXPRESSION IN VIVO (マウス IL-6 受容体に会合する情報伝達分子 gp130 の cDNA クローニングとその生体内での発現の解析)
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】

インターロイキン-6 (IL-6) は免疫系のみならず、血液系、神経系など種々の細胞の増殖や分化を誘導する多機能性サイトカインである。gp130 は IL-6 の信号を細胞内に伝える唯一の膜蛋白である。IL-6 レセプター (IL-6R) は、IL-6 を特異的に結合したのち別の膜蛋白 gp130 に会合する。本研究では、gp130 の構造とシグナル伝達機構についてより詳細な情報を得ると共にマウスを用いた系での解析に道を開くことを目的に、マウス gp130 の cDNA クローニングを行い、構造解析と生体内での発現解析を行った。

【方法ならびに成績】

1. マウス gp130cDNA のクローニング

ヒト gp130cDNA をプローブとして λ gt11 マウスマクロファージ cDNA ライブラリーをクロスハイブリダイゼーション法によりスクリーニングし、マウス gp130cDNA をクローニングした。得られたマウス gp130cDNA の塩基配列の解析から、マウス gp130 の前駆体蛋白質は、917アミノ酸残基からなり、その N 末22アミノ酸残基はシグナルペプチドと考えられた。従って、マウス gp130 の成熟型蛋白質は、895アミノ酸残基からなり、595アミノ酸残基の細胞外領域、22アミノ酸残基の膜貫通領域、278アミノ酸残基の細胞内領域に分かれていた。マウス gp130 は、ヒト gp130 とアミノ酸レベルで77%という非常に高い相同性を示し、特に、膜貫通領域前後の116アミノ酸については完全に一致していた。このことから、gp130 は種を超えて保存された重要な分子であることが示唆された。

2. マウス gp130 の機能解析

得られたマウス gp130cDNA を IL-3 依存性マウス proB 細胞株 BAF-B03 に発現させたところ、BAF-B03 細胞株はヒト可溶性 IL-6R 存在下、IL-6 濃度依存的な増殖を示した。これは今回クローニングしたマウス gp130 がヒト可溶性 IL-6R と IL-6 の複合体と会合してシグナルを伝える機能的な分子であることを示すと同時に、IL-6R システムが種を超えて保存された重要なものであることを示唆している。

3. マウスの各種細胞株、及び臓器における gp130 の発現解析

ノーザンブロットングにより、マウスの各種細胞株、及び臓器における gp130mRNA の発現を調べた。マウスの細胞株においては、IL-6 に対する反応性のない IL-6R 陰性の細胞株をも含め、M1, M12, P3U1, WEHI-3B, NFS-60 の広く造血系細胞株において gp130 の発現が認められた。調べた中では唯一 BAF-B03 細胞株のみに gp130 の発現が認められなかった。マウスの臓器においては、解析した 7 種の臓器(脳, 心臓, 胸腺, 脾臓, 腎, 肺, 及び肝臓)全てにおいて gp130 が発現していることが明らかとなった。

4. マウスの各発生段階における gp130 の発現解析

マウスの胚性幹 (ES) 細胞、及び胚における gp130 mRNA の発現を調べたところ、IL-6R mRNA の検出されない ES 細胞や、初期胚においても gp130 の発現が認められた。

5. IL-6 投与による生体内での gp130 の発現解析

マウスに IL-6 を 10 μ g/匹で静注後、各臓器における gp130mRNA の発現をノーザンブロットングにより調べた。心臓, 脾臓, 腎臓, 肺, 肝臓いずれにおいても gp130mRNA の発現の上昇が認められた。

【総括】

1. マウスとヒトの gp130 は両者の間で非常に高い相同性が保たれており、さらに、ヒト可溶性 IL-6R と IL-6 の複合体がマウス gp130 と会合してシグナルを伝えることから、gp130 は構造的にも機能的にも種を超えて保存されている重要な分子であることが示唆された。
2. マウスの各種細胞株、臓器、ES 細胞、初期胚において gp130 は広範な発現を示した。
3. IL-6 の生体内投与によってマウスの各臓器における gp130 の発現が増強された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、マウスインターロイキン-6 (IL-6) 情報伝達分子 gp130 の cDNA をクローニングし、その構造解析と発現解析を行ったものである。その結果、マウス gp130 がヒト gp130 と非常に高い相同性を示し、ヒト IL-6 とヒト可溶性 IL-6 レセプター (IL-6R) 複合体と会合してそのシグナルを伝えたことから、gp130 が構造的にも機能的にもマウスとヒトの種を超えて保存された重要な分子であることを明らかにした。またノーザンブロットング解析を用いて、gp130 が IL-6R とは対照的に、マウスの各種細胞株、臓器、ES 細胞、及び初期胚において広範に発現していることを明らかにし、gp130 が IL-6 以外のサイトカインのシグナル伝達系においても作用している可能性を示した。さらに、興味深いことに、IL-6 の生体内投与によりマウスの各臓器で gp130 の発現が増強されること、liver においては gp130 と共に IL-6R の発現も増強されることを明らかにした。

以上のように、本研究は gp130 の構造とシグナル伝達機構について有益な知見を与えると共に、マウスを用いた実験系での解析に大きく道を開くものと考えられ、学位の授与に十分値するものと認める。