



| | |
|--------------|--|
| Title | B細胞刺激因子B151-TRF2による多クローン性B細胞分化誘導に於ける糖鎖の役割 |
| Author(s) | 加藤, 佳也 |
| Citation | 大阪大学, 1987, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35301 |
| 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 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | | |
|---------|--|----------|
| 氏名・(本籍) | 加藤 | 佳也 |
| 学位の種類 | 医学 | 博士 |
| 学位記番号 | 第 | 7665号 |
| 学位授与の日付 | 昭和 | 62年3月26日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科内科系専攻 | |
| | 学位規則第5条第1項該当 | |
| 学位論文題目 | B細胞刺激因子B151-TRF2による多クローン性B細胞分化誘導に於ける糖鎖の役割 | |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 西村 健 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 谷口 直之 | |

論文内容の要旨

[目的]

マウスのヘルパーT細胞由来B細胞刺激因子（ここでは、B細胞刺激に関与するT細胞の機能を代替する活性を有する所から、T-cell Replacing Factor (TRF) と呼ぶ）の解析を進めてきたが、最近樹立されたT細胞融合体株B151K12の培養上清中に免疫学的及び物理化学的性質の明らかに異なる2種類のTRF、B151-TRF1及びB151-TRF2の存在を見い出している。B151-TRF1はゲルろ過での分子量約50K、SDS-PAGEでの分子量19K、pI4.9～5.1のシアル酸及びN-acetyl-galactosamine (GalNAc) を有する糖蛋白で、抗原で活性化されたB細胞或いはBALB/cマウス由来慢性B白血病細胞BCL1に作用し抗体産生細胞への分化を誘導する。一方、他の因子B151-TRF2はゲルろ過での分子量約30K、pI4.3～4.5の糖鎖の検出されない蛋白で、抗原非感作B細胞に直接作用し、多クローン性のIgM PFCを誘導する。興味ある事に、B151-TRF1活性発現はB151-TRF1受容体がB151-TRF1分子上のGalNAcを認識する事によりもたらされる事が示されている。本研究ではB151-TRF2による多クローン性B細胞分化に於ける糖鎖の役割に関する解析を行なった。

[方法ならびに成績]

1) B151-TRF2活性はマウス脾臓B細胞をB151-TRF2と5日間培養し、出現してくるIgM PFCをprotein Aと結合した羊赤血球を標的細胞として用いたreverse PFC法により測定した。この系に種々の单糖 (N-acetylglucosamine (GlcNAc), GalNAc, Glucose, Galactose, Mannose, Fucose) を添加しB151-TRF2活性発現の阻害効果を調べた所、GlcNAc, Mannose, Fucoseによ

り著明な活性の阻害が認められたが、B151-TRF1活性発現に抑制効果を示すGlcNAcにはB151-TRF2活性の阻害効果は全く認められなかった。一方、大腸菌由来のlipopolysaccharide (LPS)による多クローン性B細胞分化誘導活性はMannose及びFucoseでは阻害されたがGlcNAcの添加によっては有意な阻害は認められなかった。このことより、B151-TRF2活性発現はGlcNAcにより特異的に阻害される事が示された。

2) B151-TRF1及びB151-TRF2活性は抗原非感作マウス脾臓B細胞により吸収されるが、この時GlcNAc存在下に吸収操作を行なうとB151-TRF1活性の吸収が、GlcNAc存在下ではB151-TRF2活性の吸収がそれぞれ選択的に阻害された。他の单糖ではいづれのB151-TRF活性の吸収の阻害も認められなかった。

3) 1)及び2)の結果よりB151-TRF2とB細胞上のB151-TRF2受容体との結合にGlcNAcが関与していると考えられる。そこで種々の糖鎖構造を認識するレクチン-ゲルへのB151-TRF2の結合性を調べる事により、B151-TRF2分子に糖鎖が存在するか否か検討した所、B151-TRF2は用いた全てのレクチン-ゲルに結合性を示さなかった。

4) 次にB細胞上のB151-TRF2受容体の分子性状を調べる目的で、マウス脾臓B細胞を予めtrypsin或いはglycosidase mixtureで処理を行なったのちB151-TRF2活性の吸収能を調べた所、いづれの酵素処理によってもB細胞のB151-TRF2活性吸収能は消失した。この事よりB151-TFR2受容体は糖蛋白である事が示された。これ迄の実験結果より、B151-TRF2は糖鎖構造を持たないか或いは表面上に糖鎖を露出していない蛋白であるのにも拘わらずB151-TRF2活性発現はGlcNAcにより選択的に阻害される事より、B151-TRF2は糖蛋白から成るB151-TRF2受容体上のGlcNAcを認識してB細胞を結合する可能性が考えられる。そこで脾臓B細胞を種々のglycosidaseで処理した後、B151-TRF2活性吸収能を調べた所、末端GlcNAc残基を開裂する、 β -N-acetylglucosaminidase処理した脾臓B細胞においてのみB151-TRF2活性吸収の消失が認められた。更にここで用いた β -N-acetylglucosaminidaseの酵素特異性を明確にする目的でB細胞を β -N-acetylglucosaminidaseで処理する際に、p-nitrophenyl (PNP) 化した種々の单糖を阻害剤として共存させた。結果としてPNP-GlcNAcを添加した時にのみB151-TRF2活性吸収能の回復が認められた。

5) 以上の結果よりB151-TRF2はGlcNAcに親和性を示すレクチン様のB細胞刺激因子であると考えられる。そこで、GlcNAc-ゲルを用いてB151-TRF2活性の吸収実験を行なった所、B151-TRF2活性は、GlcNAc-ゲルに吸着し、0.2M GlcNAc溶液によって特異的に溶出された。尚、B151-TRF2活性は、GlcNAc-, Fucose-及びMannose-ゲルには全く吸収されなかった。

[総括]

T細胞融合株B151K12により產生されるB細胞刺激因子B151-TRF2による多クローン性B細胞分化の誘導は、B151-TRF2がB細胞上の糖蛋白からなるB151-TRF2受容体の末端GlcNAcを認識し結合する事によりもたらされる事が明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

本論文は抗原非感作B細胞の多クローン性分化を誘導し、自己免疫疾患発症に関与するB細胞刺激因子、B151-TRF2の活性発現に於ける糖鎖の役割に関して解析し、B151-TRF2はB細胞上に存在するB151-TRF2受容体上の末端N-アセチルグルコサミンを認識・結合する事によりB細胞の分化を誘導する事を明らかにしたものである。

B151-TRF2は自己免疫疾患発症に密接に関連しているB細胞刺激因子である事が明らかにされているので、本論文での知見はB細胞刺激因子によるB細胞活性化に於ける分子機構のみならず、自己免疫疾患発症機構の解明に重要な糸口となり得ると思われる。