

Title	Carbohydrate Analysis of Immunoglobulin G Myeloma Proteins by Lectin and High Performance Liquid Chromatography : Role of Glycosyltransferases in the Structures
Author(s)	西浦, 哲雄
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37519
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

【140】

氏名・(本籍)	にし	うら	てつ	お
	西	浦	哲	雄
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9	4	9
		4		号
学位授与の日付	平成3年2月4日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Carbohydrate Analysis of Immunoglobulin G Myeloma Proteins by Lectin and High Performance Liquid Chromatography: Role of Glycosyltransferases in the Structures (IgG 骨髄腫蛋白における糖鎖構造の変異に関する研究 - 骨髄腫細胞内糖転移酵素との関連 -)			
論文審査委員	(主査) 教授	垂井清一郎	(副査) 教授	木谷 照夫 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

【目的】

最近 IgG 骨髄腫で血中モノクローナル (M) 蛋白糖鎖組成が変異していることが報告されている。しかしその臨床的意義や成因については未だ明らかでない。

本研究では、骨髄腫における糖鎖変異の臨床的意義を明らかにするために、多発性骨髄腫および非腫瘍性の monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) 患者について、血清 IgG の糖鎖構造をレクチン解析および HPLC 解析により詳細に検討した。さらに糖鎖変異が生じる機序を明らかにするために、骨髄腫細胞内の糖転移酵素活性を測定し、それぞれの血清 M 蛋白糖鎖構造と対比検討した。

【方法】

MGUS 7 例, IgG 骨髄腫 22 例 (I 期 5 例, II 期 7 例, III 期 10 例), 対照 7 例の 36 例について検討した。骨髄腫の病期分類は, Durie と Salmon の分類に従った。

- ① レクチン解析: 患者血清を塩析後 DEAE カラムで IgG を分離精製した。精製 IgG を 10% SDS PAGE で還元下に泳動しニトロセルロース膜に転写後, ビオチン化レクチンと avidin-biotin peroxidase complex で発色した。今回用いたレクチンは galactose (Gal) を認識する Ricinus communis agglutinin (RCA) と mannose を認識する concanavalin A (Con A) で, densitometry によりレクチンでの発色比すなわち RCA/Con A 比を求めた。
- ② HPLC 解析: 精製 IgG をヒドラジン分解により糖鎖を分離精製後, 2-アミノピリジンで蛍光標識し neuraminidase 処理後 HPLC を用いて糖鎖構造を解析した。

③ 骨髄腫細胞内糖転移酵素活性の測定：galactosyl transferase (Gal-T) および N-acetylglucosaminyl transferase III (GnT III) 活性を検討した。患者骨髄より単核球を比重遠心法により分離，その cell lysate を蛍光標識した agalactosyl biantennary 糖鎖を基質として UDP-galactose あるいは UDP-N-acetylglucosamine と反応し，その生成産物を HPLC 解析し酵素活性を算定した。

【成績】

- ① レクチン解析：IgG 分画は正常人では，RCA にも ConA にも強く反応したが，MGUS，骨髄腫症例では，ConA 結合性は一定であったのに対し RCA に対する反応性は多様であった。RCA/ConA 比で定量化すると，正常 IgG では 1.40 ± 0.26 (mean \pm SD)，MGUS，骨髄腫 I 期では正常 IgG と有意差はなかった。一方骨髄腫 II 期では 7 例中 6 例，III 期では 10 例中 5 例で RCA/ConA 比が 1 以下を示し，II 期，III 期では RCA/ConA 比は正常 IgG に比べ有意に低下していた ($p < 0.05$)。
- ② HPLC 解析：正常 IgG 糖鎖は非還元末端の Gal の有無により agalactosyl 糖鎖 (Gal (0))，monogalactosyl 糖鎖 (Gal (1))，digalactosyl 糖鎖 (Gal (2)) に大別され，正常人ではそれらの割合はほぼ一定であるとされている。正常人プール血清 IgG では Gal (0) の占める割合は 24.9% であったが，症例では Gal (0) 糖鎖の割合は RCA/ConA 比と同様に多様 (17.1% ~ 70.3%) であった。RCA/ConA 比と Gal (0) の割合は負の相関 ($r = -0.87$, $n = 10$) を示したことから，骨髄腫進行例で認められた RCA/ConA 比の低下は Gal の欠損した糖鎖の増加 (hypogalactosylation) に基づくことが明らかとなった。
- ③ Gal-T，GnT III 活性：骨髄腫細胞が骨髄単核球中 60% 以上を占める 5 例について，腫瘍細胞内 Gal-T と GnT III 活性およびその血中 M 蛋白糖鎖構造を対比検討した。Gal-T 活性は糖鎖組成とは関連しなかったが，Gal-T/GnT III 比は Gal (2) の多い症例では高く，Gal (0) の多い症例では低かった。従って IgG 糖鎖の Gal 残基は互いに拮抗する Gal-T III の相対的活性比と密接に関連していた。

【総括】

1. IgG 骨髄腫では，その臨床病期が進行するに従って，血中 M 蛋白糖鎖において hypogalactosylation を呈する症例が増加することを明らかにした。
2. 骨髄腫 IgG 糖鎖の hypogalactosylation の成因には骨髄腫細胞内 Gal-T 活性の相対的な低下が関与していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は，多発性骨髄腫及び MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance) 患者において増加している血清モノクローナル IgG の糖鎖構造をレクチン解析，HPLC 解析により詳細に検討し，さらにそれぞれの症例について骨髄腫細胞内糖転移酵素活性を測定し，血中 M 蛋白糖鎖と対比検討したものである。

その結果、IgG 骨髄腫ではその臨床病期が進行するに従って、血中M蛋白糖鎖において hypogalactosylation を呈する症例が増加し、その成因に骨髄腫細胞内 galactosyltransferase 活性の相対的な低下が関与していることを明らかにした。

すなわち、本研究は IgG 骨髄腫におけるM蛋白の糖鎖変異の成因とその臨床的意義について新知見を提供し、骨髄腫の病態解明に貢献するものであり学位に値すると考える。