



Title	Modulation of N-acetylglucosaminyltransferase III, IV and V activities and alteration of the surface oligosaccharide structure of a myeloma cell line by interleukin 6
Author(s)	中尾, 浩久
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37583
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

氏名・(本籍) 中 尾 浩 久
 学位の種類 医 学 博 士
 学位記番号 第 9568 号
 学位授与の日付 平成3年3月5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 Modulation of N-acetylglucosaminyltransferase III, IV and V activities and alteration of the surface oligosaccharide structure of a myeloma cell line by interleukin 6
 (骨髓腫細胞の細胞内糖転移酵素と細胞膜糖鎖組成に対するinterleukin 6の影響)
 論文審査委員 (主査) 教授 垂井清一郎
 (副査) 教授 谷口 直之 教授 木谷 照夫

論文内容の要旨

(目的)

細胞表面の糖鎖変異や細胞内糖転移酵素活性の変化が癌化と密接に関連することが明らかにされつつある。特に、N-linked 糖鎖の伸長および分枝に関与する一連の糖転移酵素である N-acetylglucosaminyltransferase (GnT) の活性変化と発癌との関連が注目されている。このような糖鎖変異の過程に、細胞増殖・分化を制御する各種サイトカインも深く関与していることが推測されるがその詳細は明らかでない。本研究は、サイトカインによる細胞増殖と、細胞内の糖転移酵素活性および膜糖鎖組成の関連を明らかにするために、我々の樹立したヒト骨髓腫細胞株OPM-1に骨髓腫細胞増殖因子であるIL-6を作用させ、細胞増殖時におけるGnT III, IV, Vおよび β 1-4 galactosyltransferase (gal-T) の活性を測定し、さらに酵素活性変化に基づく細胞表面の糖鎖変異の有無について N-acetyllactosamine に特異性を有する Datura stramonium lectin (DSL) を用いて検討した。

(方法および成績)

- (1) 骨髓腫細胞株OPM-1に0~200u/mlの濃度のIL-6を添加しOPM-1の細胞濃度と³H-thymidineの取り込みの変化を検討した。100u/mlのIL-6を添加することによりOPM-1の細胞濃度は非添加controlの1,000/ μ から1,300に増加し、また³H-thymidineの取り込みも増加傾向を認めた。
- (2) OPM-1にIL-6を加え3日間培養した後、細胞を超音波破碎し酵素活性を測定した。今回検討対象とした酵素はGnT III, IV, VおよびGal-Tで、共通の基質としてGlcNAc β 1-2 Man α 1-6 (GlcNAc β 1-2 Man α 1-3) Man β 1-4 GlcNAc β 1-4 GlcNAcの構造を持つ糖鎖

の還元末端を 2-aminopyridine で蛍光標識して用い、反応条件および供与体をそれぞれ変えることにより生じた反応生成物を、HPLC で分離同定し酵素活性を求めた。100 u/ml の IL-6 を添加した OPM-1 の GnT III 活性は非添加 control の 0.61 nmol/mg/h から 0.36 に低下し、GnTV 活性は 68 pmol/mg/h から 100 に増加した。GnT IV 活性は control では検出感度以下であったが、IL-6 の添加により活性を 2 pmol/mg/hr と検出できるようになった。Gal-T 活性は 2.11 nmol/mg/h から 1.76 に低下した。

(3) IL-6 添加培養後の膜糖鎖変異の有無を調べるために、FITC 標識 DSL の OPM-1 細胞表面への結合を FACS を用いて解析した。100 u/ml の IL-6 を添加した OPM-1 では細胞表面の DSL が増加した。また DSL の cytotoxicity を利用して、DSL と培養後の viability の変化により、IL-6 添加時の OPM-1 の膜糖鎖組成変異の有無を検討した。DSL を添加したときの OPM-1 の viability は control では 50% であったのに対し、IL-6 添加培養系では 29% と有意に低下した。DSL は N-acetyllactosamine 構造を繰り返す Asn 結合型の tri および tetra-antennae の糖鎖を認識することから、IL-6 添加により OPM-1 の細胞表面には GnT IV と GnT V の反応生成物に galactose が付着した構造を持つ糖鎖が増加したと考えられる。

(総括)

- (1) IL-6 は骨髓腫細胞株 OPM-1 の増殖を軽度促進するとともに、この細胞株の GnT III と Gal-T の活性を低下させ GnT IV と GnT V 活性を増加させることを示した。
- (2) IL-6 添加により OPM-1 の細胞膜表面への DSL の結合が増加することを明らかにし、膜糖鎖変異が細胞内の GnT IV と GnT V の活性の上昇を反映していることを示した。
- (3) IL-6 が OPM-1 の細胞内糖転移酵素の活性を調節し、その活性変化により細胞膜糖鎖組成が変化することを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究はサイトカインがリンパ系細胞における細胞内糖転移酵素活性および膜糖鎖組成に影響を及ぼすか否かを解析したものである。ヒト骨髓腫細胞株 OPM-1 に骨髓腫細胞増殖因子である Interleukin 6 (IL-6) を作用させ、細胞増殖時における N-acetylglucosaminyltransferase (GnT) III, IV, V および β 1-4 galactosyltransferase (Gal-T) の活性を測定し、さらに細胞表面の糖鎖変異について N-acetyllactosamine に特異性を有する Datura stramonium lectin (DSL) を用いて検討した。

その結果、IL-6 の添加により OPM-1 の GnT III と Gal-T の活性は低下し、GnT IV と V の活性は上昇した。また、OPM-1 細胞表面への DSL 結合性も増加し、この糖鎖変異は GnT IV と V 活性の上昇に対応していた。すなわち本研究は、サイトカインにより細胞内の糖転移酵素活性が調節され、その活性変化が細胞表面の糖鎖構造を変化させることを明らかにしたものである。これは従来知られていなかった新知見であり、学位に値すると考える。