

Title	コンカナバリンAによる軟骨基質プロテオグリカン合成の促進
Author(s)	顔, 煒群
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37593
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・(本籍)	やん 顔	うえい 煒	ちん 群
学位の種類	歯	学	博 士
学位記番号	第	9 5 1 4	号
学位授与の日付	平成 3 年 2 月 26 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	コンカナバリン A による軟骨基質プロテオグリカン合成の促進		
論文審査委員	(主査)		
	教授	鈴木不二男	
	(副査)		
	教授	浜田 茂幸	助教授 零石 聰 講師 工藤 照夫

論文内容の要旨

(目 的)

植物レクチンはリンパ球の幼若化を引き起こし、かつ増殖を著明に促進するために、細胞増殖機構の研究に古くから用いられてきた。また、ある種のレクチンは、培養脂肪細胞に対してインスリン様作用を発現する。しかし軟骨細胞に対するコンカナバリン A (ConA) の作用は未だ知られていない。本研究では、種々の糖鎖特異性を持つ各種のレクチンを軟骨細胞培養系に添加して、DNA 合成およびプロテオグリカン合成に対する影響を検討した。

(結 果)

① ConA を添加した培養軟骨細胞は、周囲を細胞外基質に囲まれた球形の軟骨細胞へと形態変化した。また ConA はプロテオグリカン合成を濃度依存的に促進した。3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の ConA を添加すると、プロテオグリカンへの [^{35}S] 硫酸の取り込みは 2.5 倍増加した。しかしこの ConA の作用は、10mM のメチルマンノシドの添加により消失した。

次に、プロテオグリカンの分子サイズを測定した。ConA は軟骨に特異的な高分子プロテオグリカンへの [^{35}S] 硫酸および [^3H] グルコサミンの取り込みをそれぞれ 2.4 倍と 3 倍に促進した。しかし高分子プロテオグリカンのモノマーサイズは変化しなかった。高分子プロテオグリカンをコンドロイチナーゼ AC で消化して構成二糖を分析すると、その組成は ConA 非添加群とほぼ同じであった。以上の結果は、ConA は軟骨に特異的なコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成量を増加させることを示唆している。

② レチノイン酸で前処置して脱分化した軟骨細胞の培養系に ConA を添加するとプロテオグリカン合

成は促進されなかった。また、脱分化した細胞に ConA を添加しても軟骨細胞に特徴的な丸い形態に回復しなかった。従って、ConA は明白に分化した軟骨細胞に選択的に作用した。

- ③ 次に、軟骨細胞の分化を促進することが知られている各種ホルモンや成長因子と ConA の作用を比較した。インスリン、インスリン様成長因子-1、トランスフォーミング成長因子ベータ-1、ブチル化環状AMPおよび副甲状腺ホルモンは軟骨細胞の [³⁵S] 硫酸の取り込みを1.4-2.2倍促進した。これに対して、ConA は3.3倍もの最も強い促進効果を示した。
- ④ ConA 以外の植物レクチンを培養軟骨細胞に添加してプロテオグリカン合成に対する影響を検討した。フィトヘماغルチニン-L (PHA-L)、フィトヘماغルチニン-P (PHA-P)、ユレックス・レクチン (UEA I+II)、レンチル・レクチンは20 μg/ml添加してもプロテオグリカン合成をほとんど促進しなかった。小麦胚アグルチニン (WGA) あるいはガーデンピー・レクチンを添加すると軟骨細胞は多角型あるいは球型になったものの、プロテオグリカン合成は増加しなかった。
- ⑤ ConA は軟骨細胞のDNA合成を抑制した。ConA の他に小麦胚アグルチニン、レンチル・レクチン、フィトヘماغルチニン-L、ユレックス・レクチン、ガーデンピー・レクチンもDNA合成を抑制した。シトシンアラビノシドを添加してDNA合成をあらかじめ抑制した軟骨細胞でも ConA はプロテオグリカン合成を促進した。
- ⑥ 軟骨細胞が球形の形態を維持した浮遊培養系において、ConA はプロテオグリカン合成を促進した。

(考 察)

培養軟骨細胞に ConA を添加すると、高分子プロテオグリカンへの [³⁵S] 硫酸と [³H] グルコサミンの取り込みが3-4倍増加した。しかし、モノマーサイズ、硫酸化部位及び硫酸化の程度にはほとんど影響しなかった。さらに、ヒアルロン酸と低分子プロテオグリカンの合成にも影響しなかった。以上の結果は、ConA は軟骨細胞の高分子プロテオグリカンの合成量を選択的にかつ強力に促進することを示唆している。

しかも興味深いことに、ConA の作用は極めて特異的であった。

(1)糖結合特異性の異なる種々のレクチンがリンパ球の増殖を促進するが、ConA のみが軟骨細胞のプロテオグリカン合成を促進した。(2)ConA のほかに各種のレクチンが軟骨細胞のDNA合成を抑制した。(3)ConA、小麦胚アグルチニンおよびガーデンピー・レクチンは軟骨細胞の形態変化を誘導したが、ConA のみがプロテオグリカン合成を促進した。(4)レンチル・レクチンと ConA は同様の糖結合特異性を持つが、ConA のみがプロテオグリカン合成を促進した。(5)ConA のプロテオグリカン合成促進作用は、各種の成長因子とホルモンの作用よりも強力であった。しかも ConA のプロテオグリカン合成促進作用は、10mM のメチルマンノシド添加により消失した。

以上の結果より、ConA は軟骨細胞のプロテオグリカン合成の特異的調節因子であることが明らかとなった。ConA の分子構造とリンパ球での増殖促進作用との関係についてはすでに詳細な研究があるので、ConA 処理した軟骨細胞は細胞分化に関与する糖タンパク質の研究に有用であると期待される。

論文審査の結果の要旨

植物レクチンはリンパ球の幼若化を促すほか、脂肪細胞に作用させるとインシュリン様作用を発現するなど、細胞増殖および分化機構に影響を及ぼすことが知られている。しかし、軟骨細胞に対するレクチンの作用は、これまで全く解明されていなかった。そこで顔君は、この点に着目し、軟骨細胞のDNA合成およびプロテオグリカン合成に対する各種レクチンの作用を詳細に比較検討した。

その結果、コンカナバリンA (ConA)、小麦胚アグルチニン、フィトヘマグルチニン-Pなど数種類のレクチンが幼若ウサギ肋軟骨細胞のDNA合成を抑制することを明らかにした。しかし、軟骨細胞の高分子プロテオグリカン合成に対しては、ConAのみが濃度依存的に促進し、また細胞形態も分化型の球形に変化させることが分かった。以上のようにConAが軟骨細胞のプロテオグリカン合成の特異的な調節因子であることを初めて明らかにした顔君の論文は軟骨細胞の分化機構、ひいては石灰化機構の解明に貢献するところが大きく、歯学博士の学位請求に十分、値するものと認める。