

氏名	青山 絵理子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	薬学
学位授与番号	博甲第2918号
学位授与の日付	平成17年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	コンドロイチン硫酸 B の B リンパ球増殖促進作用および分化誘導作用に関する研究
論文審査委員	教授 山本 格 教授 亀井 千晃 教授 山本 重雄

#### 学位論文内容の要旨

グリコサミノグリカン (GAG) の一種であるコンドロイチン硫酸 (CS) は生体中の GAG のうちでも最も産生量が多く、広く組織に分布している。また、CS は細胞外基質に存在するのみならず、活性化した単球などからも産生される。このような CS が全身性エリテマトーデスや関節リウマチなどの自己免疫性疾患と何らかの関連性を有する可能性を示す報告がなされている。

そこで、私は上記の自己免疫疾患における自己抗体産生に重要な働きを担っている B 細胞に及ぼす CS の作用を解明することを目的として、コンドロイチン硫酸 A、B、C (CSA、CSB、CSC)、ヘパリン (Hp) およびヒアルロン酸 (HA) といった GAG に加えて、弱い B 細胞マイトジェンであるデキストラン硫酸 (DxS) を用いてマウス B 細胞に対する作用を比較検討した。

まず、*in vitro*においてマウス脾細胞の増殖に対するこれらの作用について比較した。その結果、これらの GAG のうちで CSB が最も強い増殖促進活性を持つことを見出した。本作用は B 細胞に特異的かつ直接的なものであり、同濃度の DxS の細胞増殖促進作用と比較すると、最大で約二倍もの活性を示した。

続いて、CSB の増殖促進作用のシグナル伝達における PKC、PI3K、および ERK の関与について解析した。ウエスタンブロット法および各々の特異的阻害剤を用いた解析により、CSB の本作用には PKC $\beta$ および PI3K の活性化が必要であることが明らかになった。また、CSB のシグナル伝達経路は B 細胞マイトジェンとして知られる LPS および抗 IgM 抗体のそれとは少なくとも部分的には異なったものであることが示唆された。

さらに、CSB はポリクローナル抗体産生細胞への分化を誘導する作用は弱い、形質細胞の特徴である CD45/B220 発現の低下、細胞径の増大を惹起したことから、プレ形質細胞への分化を促進するのではないかと考えられる。

これらのことから炎症等による生体内での局所的な CSB の産生が B 細胞の増殖、分化を促進し、自己免疫疾患の端緒となる可能性が示された。

## 論文審査結果の要旨

コンドロイチン硫酸はグリコサミノグリカンと呼ばれる一群の酸性多糖の一つであり、他のグリコサミノグリカンメンバーと共にコアタンパク質と結合してプロテオグリカンを形成し、一部は遊離状態でも存在する。軟骨や骨、皮膚、血管壁などの結合組織に豊富に含まれるが、一方では自己免疫疾患との関連性も指摘されているものの、その詳細は明らかではない。本論文で著者は自己抗体産生にも大きく関与するB細胞活性化に及ぼすコンドロイチン硫酸の影響を検討し、コンドロイチン硫酸B (CSB) がマウス脾臓B細胞の増殖を著しく促進することを見出した。このような顕著な作用は他のコンドロイチン硫酸 (A及びC) やヘパリン、ヒアルロン酸では認められず、リポポリサッカライド (LPS) よりは弱かったが、B細胞の弱いマイトジェンであるデキストラン硫酸よりも強く、抗IgM抗体とほぼ同程度であることが示された。また、著者はCSBのシグナル伝達経路について解析し、protein kinase Cやphosphatidylinositol 3-kinaseが関与するがextracellular signal-regulated kinaseは関与しないなど、LPSや抗IgM抗体のシグナル伝達経路とは少なくとも一部は異なることを明らかにした。さらに、ポリクローナル抗体産生はCSBにより見かけ上促進されたが、細胞数も増加しており、B細胞当りの抗体産生量はむしろ低下することが示された。しかしながら、分化B細胞の特徴であるCD45R/B220の低下や細胞体の肥大といった変化がCSB処理B細胞で認められた。このことはCSBによりB細胞はプレ形質細胞へ分化誘導されることを示唆しており、その後、抗原と出会うと速やかに増殖し、多量の抗体を産生する可能性がある。ポリクローナルに活性化されるB細胞の中には自己抗体を産生するものも含まれると思われ、自己抗原との接触により自己抗体の産生が増幅されることが危惧される。以上のように、本論文はCSBによるマウスB細胞のポリクローナルな増殖誘導とそのシグナル伝達経路及びプレ形質細胞への分化誘導を初めて明らかにしたものであり、博士(薬学)の授与に値するものと判断される。