

## Erythrozytenagglutinierende Eigenschaften einiger mitogener Lektine

Erythroagglutinating Properties of some mitogenic Lectins

A. M. LESENEY, J. FONT, R. BOURRILLON\*, I. SPRENGER, R. VOIGTMANN und G. UHLENBRUCK

Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté de Médecine Paris, und Medizinische Universitätsklinik Köln-Lindenthal

(Z. Naturforsch. 26 b, 172—173 [1971]; eingegangen am 28. Oktober 1970)

Bestimmte Agglutinine aus Pflanzen (Lektine) beanspruchen deswegen besonderes Interesse, weil sie neben erythrozytenagglutinierenden Eigenschaften auch die Fähigkeit besitzen, Leukozyten oder Organ- und Tumorzellen erfassen zu können und außerdem noch mitogene und cytotoxische Wirkung entfalten. Diese Eigenschaften können Bestandteil eines einzigen Agglutininmoleküls sein, es ist aber auch durchaus möglich, daß sie sich auf verschiedenen (Agglutinin-)Molekülen befinden. Deshalb haben es sich zahlreiche Arbeitsgruppen zur Aufgabe gemacht, die Assoziation oder Dissoziation dieser biologischen Eigenschaften zu verfolgen<sup>1-12</sup>. Darüber hinaus ist von Bedeutung, ob an der Zelloberfläche getrennte Rezeptoren oder ein einziger Rezeptor zur Ausprägung der oben erwähnten biologischen Effekte erforderlich ist, eine Fragestellung, die ebenfalls noch bearbeitet wird<sup>12-14, 21</sup> ohne daß sich bisher endgültige Schlußfolgerungen schon ziehen ließen.

Eine Möglichkeit, die aufgezeigten Probleme einer Lösung näher zu bringen, bietet sich durch vergleichende Untersuchungen an Lektinen an, denen eine (mitogene) dieser biologischen Eigenschaften gemeinsam ist. Unsere Untersuchungen knüpfen damit an ähnliche Experimente an, welche sich bereits mit dem Vergleich von erythroagglutinierenden, aber gleichzeitig auch mitogenen Lektinen beschäftigt haben<sup>15-17</sup>, und deren Ziel es war herauszufinden, ob die erythroagglutinierenden Fähigkeiten ein paralleles Verhalten wie die mitogenen Wirkungen zeigten<sup>15</sup>, oder ob sich irgendeine

Parallelität hinsichtlich des Erythroagglutinin-Rezeptors zwischen diesen Lektinen ergibt. Dabei wurde unsererseits von kommerziell erhältlichen Pflanzenagglutininen PHA-P (DIFCO) und Concanavalin A (MILES) ausgegangen, während die übrigen eigene Präparationen darstellten<sup>18</sup>.

Die fünf von uns untersuchten Agglutinine zeigen folgendes serologisches Verhalten gegenüber den verschiedenen Erythrozyten (Tab. 1): Sie reagieren bei Mensch alle „inkomplett“, d. h. verstärkt oder überhaupt erst nach Protease- und auch Neuraminidase-Behandlung der Zellen. Das gleiche finden wir bei Huhn, Schwein und Rind. Beim Pferd fällt auf, daß der Robinia-Rezeptor nicht ausgebildet ist, es sei denn als Kryptantigen (nach Neuraminidase-Behandlung). Ein ähnliches Bild zeigt sich bei Meerschweinchen und Kaninchen, während die Agglutinine 3 und 4 bei Taube und Huhn deutliche Titerdifferenzen gegenüber den übrigen aufweisen. Das gilt auch für Schaf, wo alle Agglutinine wiederum „inkomplett“ sich verhalten. Bei Katze und Hund läßt sich beobachten, daß das Agglutinin 2 erneut ein abweichendes Verfahren aufweist.

Insgesamt lassen sich folgende Folgerungen aus diesen Agglutinationsversuchen ziehen: 1. Der Erythroagglutinin-Rezeptor für die einzelnen mitogenen Lektine ist nicht für alle der gleiche, hier bestehen deutliche Differenzen (Robinia beispielsweise).

2. Je nachdem welche Erythrozytenart man benutzt, so zeigt sich, daß oft kein paralleles agglutinatorisches Verhalten dieser mitogenen Lektine vorhanden ist.

3. Die meisten der mitogenen und erythrozytenagglutinierenden Lektine reagieren in der Hauptsache „inkomplett“, wie das auch schon vom sog. Pokeweed Mitogen (*Phytolacca americana*) her bekannt ist<sup>19</sup>, und was bei der Beurteilung der Reaktion mit anderen Zellen berücksichtigt werden muß.

4. Neuraminidase zerstört die Rezeptoren nicht, sondern führt sogar noch zu vermehrter Reaktion dieser Lektine, wobei möglicherweise auch neue Rezeptoren freigelegt werden können.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. G. UHLENBRUCK, Abt. Immunbiologie der Med. Univ. Klinik, D-5000 Köln 41, Kerpenerstr. 15.

\* Prof. Dr. R. BOURRILLON, Laboratoire de Chimie Biologique, Paris, 45 Rue Des Saints-Pères, Paris VI<sup>e</sup>, Frankreich.

<sup>1</sup> F. ULBRICH, J. SCHMITT u. H. LUDWIG, Zbl. Bakteriol. I. **202**, 267 [1967].

<sup>2</sup> M. KRÜPE, Die Blutgruppen des Menschen, Selbstverlag, M. KRÜPE, Fulda 1969.

<sup>3</sup> C. K. NASPITZ and M. RICHTER, Progr. Allergy **12**, 1 [1968].

<sup>4</sup> T. H. WEBER, Scand. J. clin. Invest. **24**, Suppl. 111 [1969].

<sup>5</sup> M. LANDY and L. N. CHESSIN, Antibiot. et Chemother. **15**, 199 [1969].

<sup>6</sup> D. A. RIGAS and C. HEAD, Biochem. biophysic. Res. Commun. **34**, 633 [1969].

<sup>7</sup> M. L. GOLDBERG, W. ROSENAU, and G. C. BURKE, Proc. Nat. Acad. Sci. **64**, 283 [1969].

<sup>8</sup> L. W. ALLEN, R. H. SVENSON, and S. YACHNIN, Proc. nat. Acad. Sci. USA **63**, 334 [1969].

<sup>9</sup> A. PUSZTAI and W. B. WATT, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **207**, 413 [1970].

<sup>10</sup> G. BRITTINGER u. E. KÖNIG, Klin. Wschr. **47**, 1307 [1969].

<sup>11</sup> P. PERLMANN, H. NILSSON, and M. A. LEON, Science [New York] **168**, 1112 [1970].

<sup>12</sup> G. UHLENBRUCK, G. WINTZER, B. SALFNER, K. SCHUMACHER, H. OERKERMANN, W. D. HIRSCHMANN, and G. ALZER, Klin. Wschr. **48**, 1369 [1970].

<sup>13</sup> G. UHLENBRUCK, U. REIFENBERG u. R. OYEN, Z. Naturforsch. **24b**, 147 [1969].

<sup>14</sup> R. KORNFELD and S. KORNFELD, J. biol. Chemistry **245**, 2536 [1969].

<sup>15</sup> W. G. JAFFE, M. MONTBRUN, A. CALLEJAS u. M. JAFFE, Z. Immunforsch. **129**, 196 [1965].

<sup>16</sup> M. KRÜPE, W. WIRTH, D. NIES u. A. ENSGRABER, Z. Immunforsch. **135**, 19 [1968].

<sup>17</sup> I. KRASIEJKO, Bull. Acad. Pol. Sci. **18**, 21 [1970].

<sup>18</sup> R. BOURRILLON et J. FONT, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **154**, 28 [1968].

Agglutinin	Human			Huhn			Schwein			Rind		
	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE
1. PHA (Difco)	4	128	64	4	2048	32	16	128	32	∅	512	∅
2. Robinia	16	128	256	8	1024	128	64	256	500	∅	1024	∅
3. Lens large blonde	32	256	256	∅	8	4	128	256	256	∅	16	∅
4. Lens Anicia	32	256	512	∅	16	8	128	1024	2048	∅	16	∅
5. Concanavalin	∅	256	64	∅	512	64	∅	512	8	∅	2048	∅
Agglutinin	Pferd			Kaninchen			Meerschweinchen			Tauben		
	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE
1. PHA (Difco)	256	128	500	16	128	64	128	256	500	1000	1000	500
2. Robinia	∅	∅	8	∅	1	1	∅	1	4	256	500	256
3. Lens large blonde	128	128	256	2048	8000	1000	256	4000	2048	1	4	2
4. Lens Anicia	256	500	500	500	4000	1000	2000	4000	8000	1	128	∅
5. Concanavalin	32	500	500	16	128	32	16	128	128	32	1000	256
Agglutinin	Katze			Hund			Schaf					
	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE	N	Pr	RDE
1. PHA (Difco)	64	256	64	128	1024	128	∅	8000	256			
2. Robinia	∅	16	4	∅	8	32	∅	2048	2			
3. Lens large blonde	16	64	500	256	2048	4000	∅	8	∅			
4. Lens Anicia	2	128	64	256	4000	2000	∅	64	2			
5. Concanavalin	16	256	256	16	128	128	∅	∅	1			

Tab. 1. Erythroagglutinatorisches Verhalten einiger mitogener Lektine gegenüber normalen (N), pronase-behandelten (Pr) sowie neuraminidase-behandelten (RDE) Blutzellen verschiedenster Herkunft. PHA = *Phaseolus vulgaris* Agglutinin.

Unsere Versuche sprechen daher eher für eine Dissoziation von erythrozytenagglutinierenden und mitogenen Eigenschaften, was den zellulären Rezeptor anbetrifft. Diese Vermutung wird auch durch von uns durchgeführte Hämagglutinations-Hemmversuche untermauert: Die Agglutination von Erythrozyten durch PHA wird durch A Blutgruppensubstanz aus Pepton nicht gehemmt, wohl hingegen gut durch das Mucoïd aus Schweineerythrozyten<sup>12, 13, 21</sup>. Concanavalin A verhält sich genau umgekehrt, während die übrigen drei mit beiden reagieren. Die Frage bleibt allerdings noch offen, ob Pflanzenextrakte ohne meßbare Agglutininaktivität mitogene oder cytotoxische Wirkung entfalten können<sup>20</sup>.

Wesentlich für die mitogene Wirkung scheint uns allerdings — aufgrund unserer Versuche mit monosaccharidspezifischen Lektinen<sup>21</sup> — zu sein, daß von dem betreffenden Agglutinin der Strukturbereich eines „Rezeptors“ auf der Zelloberfläche erfaßt wird, der weit über eine Mono- oder Disaccharid-Einheit, wie sie normalerweise von Lektinen aus Pflanzen (und auch Schnecken) umgriffen wird, herausgeht. Da jedoch nicht völlig geklärt ist, ob die mitogene Wirkung ausschließlich durch die Kombination eines Agglutinins oder Antikörpers mit einem solchen Makrorezeptor an der Zelloberfläche und der dadurch vielleicht allosterisch bedingten Information zur Zellteilung zustande

kommt, haben wir auch getestet, ob Zellkerne durch solche Lektine agglutiniert werden.

Dabei haben wir vor allem das Verhalten des PHA-Agglutinins studiert, welches zytoplasmafreie Zellkerne von Hühnererythrozyten stark agglutiniert (Titer 1 : 250,000), ein Phänomen, welches durch Adsorption mit Schweineerythrozyten nicht vollständig aufgehoben werden kann. Andererseits läßt sich mit diesen Kernen die Erythroagglutininaktivität restlos entfernen. Die Frage dieses PHA-Rezeptors, die an anderer Stelle schon ausführlich diskutiert worden ist<sup>12, 14, 21</sup>, soll nun weiterhin durch Inhibitionsversuche bzw. Isolierung des Rezeptors geklärt werden. Wie wir durch spezifische Hemm- und Absorptionsversuche zeigen konnten<sup>22</sup>, kann jedoch kein Zweifel daran bestehen, daß eine ganze Reihe von Pflanzenagglutinin-Rezeptoren auch an Kernmembranen vorkommt (*Triticum vulgare*, *Ricinus communis*, *Solanum tuberosum*). Das gleiche gilt für verschiedene Agglutinine von Avertebraten (*Limulus polyphemus*, *Helix pomatia* u. a.)<sup>22</sup>.

Frau MARLIES HEGGEN danken wir für ihre ausgezeichnete Mitarbeit. Die Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft und im Rahmen des Deutsch-Französischen Kulturabkommens ermöglicht.

<sup>19</sup> J. BÖRJESON, R. REISFELD, L. N. CHESSIN, P. D. WELSH, and S. D. DOUGLAS, *J. exp. Med.* **124**, 859 [1966].

<sup>20</sup> O. BRÜCHER, M. WECKSLER, A. LEVY, A. PALOZZO, and W. G. JAFFE, *Phytochemistry* **8**, 1739 [1969].

<sup>21</sup> G. UHLENBRUCK, G. WINTZER, K. SCHUMACHER, H. OERKMANN, G. I. PARDOE, W. D. HIRSCHMANN, G. ALZER u. R. GROSS, Kongreßband XIII Internat. Hämatologenkongreß, München, Springer-Verlag, 1971.

<sup>22</sup> R. VOIGTMANN u. G. UHLENBRUCK, noch unveröffentlicht.