

ヒト胃癌由来 MKN45 細胞内に蓄積する糖タンパク質由来糖鎖の細胞外分泌
○神末 和哉¹, 大河原 周平¹, 岩塚 欣也¹, 山田 桂太², 木下 充弘¹, 早川 堯夫³,
掛樋 一晃¹(¹近畿大薬, ²香川大医, ³近畿大薬総研)

【目的】我々はヒト胃癌細胞中に糖タンパク質に由来する糖鎖が遊離型として大量に蓄積されることを報告している(1)。一方、種々の動物血清中には糖タンパク質糖鎖由来の遊離糖鎖が観察され、遊離糖鎖を細胞外に排出する機構が存在すると考えられる。本研究では細胞内に遊離糖鎖を蓄積するヒト胃癌細胞 MKN45 および MKN7 を用いて、細胞外へ分泌される遊離糖鎖を詳細に解析した。

【方法】MKN45、MKN7 を無血清培養し、回収した培養液を透析(MWCO 1000)後濃縮し、ODS 固相抽出カートリッジに吸着しない分画を遊離糖鎖分画として回収した。遊離糖鎖は 2-アミノ安息香酸 (2AA) により蛍光標識し、順相 HPLC と MALDI-TOF-MS を組み合わせて解析した。

【結果および考察】MKN45 および MKN7 の培養液中の遊離糖鎖を解析した結果、還元末端に GlcNAc を 1 残基のみ持つ遊離糖鎖がすべての細胞で観察され、アスパラギン結合型糖鎖がコアタンパク質から切断された後、キトビアーゼ活性を受け、細胞外へ排出された糖鎖であると考えられた。また、細胞内外の遊離糖鎖を比較すると、細胞内では多くのハイマンノース型糖鎖とアシアロ糖鎖が多く観察されたのに対し、細胞外の遊離糖鎖は全てシアル酸を有する糖鎖であった。以上の結果から、非還元末端にシアル酸を有する糖鎖を細胞外へ特異的に排出する何らかの機構が存在すると考えられた。さらに、培養液中にはムチン型糖鎖由来と考えられる遊離糖鎖や糖脂質由来と考えられる遊離糖鎖も観察され、それらの分泌機構に興味を持たれた。

(1)A. Ishizuka., et al. *Biochem. J.*, 413, pp227-237 (2008)