

ウサギ角膜上皮細胞の糖鎖生合成に対する外的物理ストレスの影響

○岩本 裕貴<sup>1</sup>, 安井 祐太郎<sup>1</sup>, 岩塚 欣也<sup>3</sup>, 木下 充弘<sup>1</sup>, 鈴木 茂生<sup>1</sup>,  
早川 堯夫<sup>2</sup>, 掛樋 一晃<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大薬, <sup>2</sup>近畿大薬総研, <sup>3</sup>千寿製薬)

角膜上皮は紫外線や浸透圧の変化、異物との接触など、外界から様々な物理的ストレスを受けやすい。一方、種々の眼疾患において涙液や眼組織中の複合糖質糖鎖が質的量的変化をきたす場合がある。本研究では、角膜上皮に対する *in vivo* モデルとして汎用されるウサギ角膜上皮細胞 (SIRC) における、高浸透圧および低湿度ストレス負荷が、SIRC の糖鎖生合成に及ぼす影響について解析した結果を報告する。

【方法】物理的ストレス負荷 SIRC を NaCl 添加 MEM 培地を用いた高浸透圧条件および MEM 培地を用いた低湿度条件下培養した。

糖鎖解析 細胞の総タンパク質分画を、N-グリカナーゼ F により処理して N-結合型糖鎖を遊離し、2-アミノ安息香酸により蛍光標識後、キャピラリー電気泳動法、HPLC、MALDI-TOF-MS を用いて解析した。

【結果】高浸透圧および低湿度条件による細胞培養では、通常の培養法と比べ、Man 残基数の多い高マンノース型糖鎖 (M8, M9) が減少し、一方で還元末端 GlcNAc に Fuc を有する糖鎖や Man5 残基からなる高マンノース型糖鎖 (M5) の存在比が増加した。また、低湿度条件では還元末端 GlcNAc に Fuc を有する複合型 2 本鎖糖鎖 (Fuc<sub>1</sub>Gal<sub>2</sub>GlcNAc<sub>4</sub>Man<sub>3</sub>-2AA) が著しく減少していた。以上の結果から、物理的ストレス負荷は SIRC の糖鎖生合成において、ゴルジ体での高マンノース型糖鎖から複合型糖鎖へのプロセッシングが低下した結果であると考えられた。ドライアイなどにおいて、角膜上皮細胞の糖鎖の変化・異常について明らかにされた例はなく、今後、さらに種々の眼疾患モデルについても糖鎖解析を進めていきたい。