

25PB-am051

シンデカン-4を過剰発現させたマウス膵臓由来 MIN6 細胞のヘパラン硫酸の構造解析

○加藤 丈子¹, 伊藤 ゆき乃¹, 高橋 巖², 那谷 耕司², 山田 修平¹ (¹名城大薬, ²岩手医大薬)

【目的】ヘパラン硫酸 (HS) は様々な生理活性物質と相互作用することで細胞の分化や増殖等を調節している。インスリン分泌における HS の役割を明らかにするために、ヘテロジニアスな細胞集団であるマウス膵臓ランゲルハンス島β細胞由来 MIN6 細胞株からサブクローンを単離選択し、各サブクローンの HS の解析を行った。さらに、インスリン分泌への関与が予想されているシンデカン4 (sdc4) 及び HS 3-O-硫酸転移酵素 (HS3ST) を過剰発現させた細胞株についても解析した。

【方法】MIN6 細胞株から単離した4種のサブクローン (T3、T5、T9、T16) 及び、ブドウ糖刺激インスリン分泌能が最も高かった T3 及び最も低かった T16 に、sdc4 あるいは/及び HS3ST を過剰発現させたものを用いた。細胞をホモジェナイズした後、酵素消化を行い、HS 多糖を構成二糖単位にまで分解した。除タンパク質後、分解産物の還元末端を蛍光試薬で標識した。陰イオン交換 HPLC で分析し、HS の構成二糖組成および総量を決定した。

【結果・考察】T3、T5、T9、T16 の結果を比べると、硫酸化されていない二糖単位と、グルコサミンの2位のアミノ基が硫酸化された二糖単位を比較的多く含む傾向が見られたが、いずれのサブクローンも多様な構造の HS を含んでいた。sdc4 を過剰発現させた細胞株では、インスリン分泌能が T3 で約7倍、T16 は約3倍に上昇した。また単位タンパク質量あたりの HS 量は、sdc4 を過剰発現させることで、T3 で約4倍、T16 で約9倍に増加した。コアタンパク質の遺伝子を導入したことでより多くの HS 鎖が合成されたことを示唆している。さらに HS3ST の遺伝子を導入した細胞株について、グルコサミン 3-O-硫酸構造の割合の変化を調べた。今後、インスリン分泌能に関わる HS の構造について調べる必要がある。