B12 ハプテン塗布により誘導される接触

皮膚炎におけるデルマトン硫酸の構造変化

桑葉くみ子¹、野村義宏²、入江伸吉^{1,3}、小山洋一^{1,3}

¹(株)ニッピ バイオマトリックス研究所、

²東京農工大学農学部硬蛋白質利用研究施設、

³(財)日本皮革研究所

【目的】プロテオグリカンの糖鎖であるグリコサミノグリカン (GAG)の構造は、生体の病理状態、年齢や分化程度により変化し、その機能を調節していると考えられている。我々は、マウスで一過性接触皮膚炎のモデルを作製し、デルマトン硫酸 (DS)の変化を解析した。【方法】BALB/cA マウスの背皮膚に0.5% 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB)を塗布した。1, 3, 7, 15, 35 日後に塗布部の皮膚を採取し、組織染色を行った。また、塗布部の皮膚より GAG を抽出し、2 糖分析を行った。【結果】DNFB 塗布 15 日後に、ヘマトキシリン/エオシンによる染色が低下し、アルシアンブルーによる染色の増加が観察された。抽出された GAG を 2 糖分析したところ、DNFB 塗布 15 日後に DS 由来の不飽和 2 糖である Δ Di-4S のモル数が皮膚単位面積当たり約 3 倍に増加していたが、 Δ Di-diS_B の増加は僅かであった。これらの変化は色素による染色性が正常に戻りつつある塗布 35 日後では観察されなかった。【考察】DNFB 塗布後の炎症と組織修復において細胞外マトリックスが一過性に变化した。この変化はイズロン酸の 2-sulfation レベルの低い DS の増加を伴っていた¹⁾。

1) J. Dermatol. Sci. 19, 23-30, 1999

The structural changes of dermatan sulfate in the skin after epicutaneous application of haptens.

Kumiko Kuwaba¹, Yoshihiro Nomura², Shinkichi Irie^{1,3}, Yoh-ichi Koyama^{1,3} ¹Nippi Research Institute of Biomatrix, Nippi Inc., ²Applied Protein Chemistry, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, ³Japan Institute of Leather Research

B13

斑状角膜ジストロフィにおける血清及び角膜の硫酸転移酵素活性の測定

長谷川伸子^{1,2}、鳥居貴佳¹、中安清夫²、宮島宏明²、加藤卓次²、金井淳²、羽瀨脩躬¹

¹愛知教育大学・生命科学、²順天堂大学医学部

【目的】斑状角膜ジストロフィは角膜の混濁を示す常染色体劣性の遺伝性疾患で、患者角膜と血清におけるケラタン硫酸 (KS)の低硫酸化が報告され、硫酸転移酵素の欠損が推測されている。斑状角膜ジストロフィの病因解明の為、患者血清と角膜を酵素源とし、Gal 残基の 6 位と非還元末端 GlcNAc 残基の 6 位を硫酸化する活性を、脱硫酸化 KS (DSKS) と非還元末端に GlcNAc 残基をもつケラタン硫酸由来の非硫酸化 3 糖 (Oligo A) をそれぞれ基質として用いて測定し正常者と比較した。

【対象】血清ケラタン硫酸 3 ng/ml 以下 (正常 152 ± 48 ng/ml) を示した斑状角膜ジストロフィ患者 5 名 (年齢 31-54, 平均年齢 40.1 ± 10.6)。うち角膜移植術を施行した 2 例は、角膜組織片は免疫組織染色 (5D4 抗体) し type I と確定診断後、実験に用いた。対照血清は健常者から提供を受け、対照角膜は剖検眼の角膜を用いた。

【方法】ヒト血清および角膜抽出液を酵素とし、DSKS または GlcNAc-Gal-GlcNAc (Oligo A) を硫酸基の受容体として用いて [³⁵S]PAPS から ³⁵SO₄ の転移反応を行った。³⁵S で標識された生成物をヒドラジンで脱アセチル化し、亜硝酸で分解、NaBH₄ で還元後、分解生成物を濾紙クロマト、HPLC で分析した。

【結果】DSKS を基質とした時には Gal 6 位への硫酸転移活性のみが検出された。DSKS を基質とした時の Gal 6 位への硫酸転移活性は、血清、角膜いずれも患者と対照で差が認められなかった。Oligo A を基質としたときは、非還元末端 GlcNAc の 6 位の硫酸化が検出された。非還元末端 GlcNAc6SO₄ に由来するアンヒドロマンニトール 6 硫酸への取り込みは、血清では患者と対照で差が認められなかったが、角膜では 2 例の正常角膜では 2.23、0.84 pmol/mg/40 h、2 例の患者角膜では 0.07 pmol/mg/40 h 以下であった。

【考察】斑状角膜ジストロフィの角膜ではケラタン硫酸の Gal の 6 位への硫酸転移活性は正常であるが、GlcNAc 残基の 6 位への硫酸転移活性が低下していると考えられる。

Determination of sulfotransferase activities in the serum and cornea obtained from the patients of macular corneal dystrophy
Nobuko Hasegawa^{1,2}, Takayoshi Torii¹, Kiyoo Nakayasu², Hiroaki Miyajima², Takuji Kato², Atsushi Kanai², Osami Habuchi¹

¹Department of Life Science, Aichi University of Education, and ²Juntendo University, School of Medicine