

## 平成 28 年度 徳島大学先端酵素学研究所共同研究報告書

研究代表者

所属機関	宮崎大学医学部
職名	教授
氏名	西頭 英起
照会先	〒889-1692 宮崎市清武町木原5200 宮崎大学医学部機能生化学 電話 0985-85-3127 Fax 0985-85-6503

<b>共同研究項目</b>	共同研究B-1 ゲノム制御学分野
<b>研究課題</b>	生体内亜鉛の機能と病態生理学的意義の解明
<b>研究期間</b>	平成 28 年 9 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

<b>研究報告</b>
<p>我々は、神経変性疾患の一つ筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis: ALS) の病態分子メカニズムが、亜鉛欠乏による小胞体ストレスの分子メカニズムと関係することを見いだしてきた。小胞体ストレスは、小胞体内腔に不良タンパク質が蓄積するストレスである。小胞体ストレスに曝された細胞は、小胞体シャペロンなど様々な遺伝子を発現誘導 (Unfolded protein response: UPR) することで、その機能恒常性を維持する。一方、家族性 ALS において 130 種類以上の SOD1 遺伝子変異が発見されており、その変異型 SOD1 タンパク質は、小胞体品質管理を担うタンパク質 Derlin-1 に特異的に結合し、その機能低下に伴う小胞体ストレス誘導により神経細胞死を惹起することを明らかにしてきた (Nishitoh et al. <i>Genes Dev.</i> 2008)。さらに最近の研究により、ほとんどの変異型 SOD1 が Derlin-1 と結合したことから、その結合様式を検討した結果、SOD1 には Derlin-1 結合領域が存在し、野生型 SOD1 ではこの領域が隠されており、各変異によってこの領域が構造変化により露出し、Derlin-1 と結合するようになることを見いだした。野生型 SOD1 が Derlin-1 結合領域を有することから、何らかのストレスが野生型 SOD1 の構造変化を引き起こし、変異型様 SOD1 となり Derlin-1 と結合すると予想した。この仮説に基づき、様々な細胞ストレスについて検討した結果、これまでに亜鉛欠乏が野生型 SOD1-Derlin-1 結合と小胞体ストレスを誘導することを見いだしている。さらに、siRNA を用いた SOD1 および Derlin-1 ノックダウンにより、亜鉛欠乏依存的な小胞体ストレスが減弱することを確認した。すなわち SOD1 は、「亜鉛欠乏ストレスを小胞体ストレスに変換する分子スイッチ」として機能するのではないかと考えられる。そこで、片桐教授との共同研究により、この分子メカニズムによる小胞体ストレスの下流で発現制御される遺伝子群を同定・解析することで、生体における亜鉛の生理的意義の解明を目指した。</p> <p>本共同研究では、亜鉛欠乏培地で細胞を培養することで、野生型 SOD1 が変異型様 SOD1 に構造変化し、Derlin-1 と結合することで小胞体ストレスが惹起されることを、生化学的実験により明らかにしている。小胞体ストレス応答は、様々な遺伝子発現を誘導することから、リアルタイム PCR により幾つかの遺伝子発現を検討した結果、小胞体シャペロン (BiP)、転写因子 (Xbp1)、亜鉛トランスポーターなどが誘導され、さらにこれらの発現は、SOD1 と Derlin-1 ノックダウンにより抑制されることがわかった。現在は、亜鉛欠乏による小胞体ストレスの生理的意義を理解するため、次の二項目による網羅的遺伝子発現プロファイリングを実施・解析中である。</p> <p>I) 「SOD1-/- および野生型マウスを用いた、亜鉛欠乏食投与による mRNA II) 「細胞およびマウス臓器における miRNA 発現プロファイリング」</p> <p>今後は、得られた発現変動遺伝子群について、亜鉛欠乏ストレス条件下での Derlin-1 依存性を検証し、亜鉛欠乏ストレス環境下での生物学的意義の解明に務める。</p>