

## 29【P2】Ⅱ-415

初代培養神経細胞における MTF-1 を介した Metal Response Element の活性化

○原 宏和<sup>1,2</sup>, Aizenman Elias<sup>1</sup>(<sup>1</sup>ピッツバーグ大医,<sup>2</sup>岐阜薬大)

【目的】酸化ストレスによりメタロチオネイン(MT)などの金属結合タンパクから解放されたフリー-Zn<sup>2+</sup>が神経細胞死を引き起こすことから、Zn<sup>2+</sup>の恒常性の破綻は神経細胞死に深く関与している。Metal response element (MRE) binding transcription factor-1 (MTF-1)は、Zn<sup>2+</sup>による MT 遺伝子の発現誘導に関与する転写因子として知られている。MTF-1 は、Zn<sup>2+</sup>存在下で核内に移行し、MRE に結合することにより、MT 遺伝子の発現を調節している。今回、我々は、神経細胞における MT など Zn<sup>2+</sup>の恒常性に維持に関わる遺伝子の発現調節に重要な MRE の活性化機構について検討した。【方法】ラット胎児(E16)から調製した初代培養神経細胞や内因性の MTF-1 が欠損している dko7 細胞に、MTF-1 発現ベクターおよび MRE レポーターベクターを導入した後、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>を添加し、5 時間後のルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果および考察】Cd<sup>2+</sup>は金属結合タンパクに対して Zn<sup>2+</sup>より強い親和性を有していることから、これらのタンパクから Zn<sup>2+</sup>を解放させるための試薬として Cd<sup>2+</sup>を用いた。MTF-1 cDNA を導入した神経細胞に Zn<sup>2+</sup> や Cd<sup>2+</sup>を作用させたとき、MRE の活性化が認められた。MTF-1 が欠損している dko7 細胞では、MTF-1 依存的に Zn<sup>2+</sup>による MRE の活性化が認められた。Zn<sup>2+</sup> 以外の重金属は MTF-1 の MRE への結合を誘導しないことから、Cd<sup>2+</sup>による神経細胞内フリー-Zn<sup>2+</sup>の増加が MTF-1 を介した MRE の活性化を引き起こしているのではないかと考えられた。また、MTF-1 cDNA を導入していない神経細胞においても Zn<sup>2+</sup>や Cd<sup>2+</sup>による MRE の活性化が認められたことから、神経細胞で内因性の MTF-1 が発現している可能性が考えられた。