

29【P2】Ⅲ-254

変異型アンチトロンビンによる Russell body 様構造体形成の分子機構

○田中 幸¹, 小澤 哲夫², 横田 貞記³, 今中 常雄¹(¹富山医薬大薬,²富山医薬大医,³山梨大医)

【目的】アンチトロンビン (AT) は、分子内に3つのジスルフィド (SS) 結合をもつ血漿プロテアーゼインヒビターである。我々は AT の SS 結合を担う Cys95 が Arg に置換した AT は、細胞内で分解されず、Russell body (RB) 様構造体を形成することを発見した。今回、SS 結合形成を担う Cys 残基の変異と RB 形成との関連性ならびに RB の形成過程について解析したので報告する。

【方法】各 Cys 残基を Arg に置換した AT、SS 結合を担うペアの Cys を Arg に置換した AT 安定発現する CHO 細胞ならびに Tet-On システムにより AT (C95R) の発現を制御する CHO 細胞を作製した。各 AT の細胞内動態は、^[35S]メチオニンによるパルス-チェイス法や通常電顕、免疫電顕で解析した。さらに細胞内に蓄積した AT の分子サイズをシヨ糖密度勾配遠心と immunoblotting で解析した。

【結果および考察】各 Cys 残基単独の変異 AT は、細胞外への分泌速度が野生型 AT の約 1/5-1/20 に低下し RB 様構造体を形成した。一方、ペアの Cys 残基の変異では、分泌速度が野生型 AT の約 1/20 に低下した AT (C21-95R)、AT (C247-430R) は RB 様構造体を形成したが、約 1/2 までしか低下しなかった AT (C8-128R) では RB 様構造体は観察されなかった。シヨ糖密度勾配遠心法で細胞内 AT の分子サイズを比較すると、野生型、AT (C8-128R) はモノマーとして存在したが、他の変異 AT はダイマー以上の多量体を形成していた。また、いずれの AT も high mannose 型糖鎖をもち、細胞内での分解はみられなかった。Tet-On 細胞を用い、ドキシサイクリン添加により RB 様構造体の形成過程を経時的に解析すると、RB 様構造体は小胞体の局所的拡張を経て形成された。以上の結果から、変異 AT の多量体形成と小胞体内での蓄積により、RB 様構造体が形成されることが示唆された。