

【目的】核内レセプターCARは、医薬品や環境化学物質などの生体外異物によって活性化され薬物代謝酵素を誘導する異物センサーとして知られている。しかしながら、継代培養細胞に発現させた CAR はリガンドの非結合状態においても活性化状態にあるために、リガンドによる活性化はほとんどみられない。したがって、医薬品開発に欠かせない CAR の活性化能を調べる継代培養細胞スクリーニング系は未だ確立されていない。我々は、CAR リガンドのスクリーニング系の確立を目指して、継代培養細胞内で発現させても転写活性が弱くリガンドの結合による転写活性化がみられる CAR の変異体を構築した。本発表では、CAR 変異体も用いたリガンドのスクリーニング系の有用性についてさらに検討したので報告する。

【方法】GAL4 DNA binding domain に hCAR の ligand binding domain を融合させた GAL4-hCAR WT(対照)及び LBD の AF-2 領域に連続するアラニン 3 残基を挿入した変異体(GAL4-hCAR/3a.a.) 発現ベクターを HEK293 細胞に導入し、被験物質による転写活性化をレポーターアッセイにより評価した。被験物質による hCAR の局在に与える影響は、GFP 融合 hCAR を発現させたラット初代培養肝細胞を共焦点レーザー顕微鏡で観察することで検討した。

【結果・考察】pp'-Dichloro-diphenyl-trichloroethane(pp' DDT)により hCAR 変異体発現細胞でのみレポーター遺伝子の活性化が認められ、リガンドの候補である可能性が示唆された。さらに、GFP-hCAR を発現させた初代培養肝細胞では、hCAR のリガンドとして知られている CITCO と同様に pp' DDT 処置による CAR の核への局在が認められた。以上より、hCAR 変異体を継代培養細胞に発現させることにより hCAR リガンドの簡便な in vitro のアッセイが可能となったものと考えられる。