

PB 刺激による核内レセプター CAR の核移行における微小管の役割

○深山 靖夫¹, 菅野 裕一郎¹, 安藤 美奈¹, 井上 義雄¹(¹東邦大薬)

【目的】核内レセプターConstitutive androstane receptor (CAR)は医薬品などの生体外異物に応答して、生体内の薬物代謝酵素発現の調節に関わる異物センサーとして機能している。CAR は生体内では通常細胞質に局在しており、phenobarbital (PB)などのアクチベーターの刺激やリガンドの結合によって核内に移行し、標的遺伝子の転写調節を行う。しかしながら、刺激に応答して核内に移行するメカニズムは未だ明らかになっていない。本研究では、非刺激下で CAR が細胞質に局在している初代培養肝細胞を用い、PB による CAR の活性化に対する微小管重合阻害剤 Nocodazole (NCZ)の影響を検討した。

【方法】CAR の転写活性への影響は CAR 応答性レポータープラスミド(pPBREM-Luc)を用いて検討した。また、CAR の標的遺伝子である CYP2B mRNA の発現誘導の測定には RT-PCR 法を用いた。PB 刺激による CAR の核移行への影響は、ウェスタンブロットによる核内の CAR タンパク質の測定により検討した。いずれの実験も、PB 処置 2 時間前に培地に NCZ を添加した。

【結果・考察】PB によるルシフェラーゼ活性の上昇は NCZ の前処置により顕著に抑制された。また、PB による CYP2B の mRNA 発現の誘導の NCZ 処置による阻害が確認された。さらに、PB による CAR の核移行が NCZ の前処置により阻害されることが観察された。これまでに、核内レセプター-Glucocorticoid receptor (GR)の核移行は微小管を介して行われていることが知られており、CAR の核移行にも微小管の関与が示唆された。これらの結果から CAR の標的遺伝子の発現誘導には微小管ネットワークを介した核移行が必要である可能性が示唆された。