

## 28L-am05

酸化ストレス時における Mrp2 タンパク分解に対するユビキチン様修飾因子の関与  
○三ツ木 香織<sup>1</sup>, 関根 秀一<sup>1</sup>, 堀江 利治<sup>1</sup>(<sup>1</sup>千葉大院薬)

【目的】Multidrug-resistance associated protein 2 (Mrp2)は肝臓の毛細胆管側膜に発現し、胆汁流の生成を担っている。種々の慢性肝疾患時に併発する胆汁うっ滞の一因として、MRP2の胆管側膜での局在性の低下とその後の分解の関与が示唆されている。これまでにラット肝臓に急性の酸化ストレスを負荷した胆汁うっ滞モデルにおいて、主要な抗酸化物質である細胞内グルタチオン(GSH)量に依存した Mrp2 の細胞質への内在化を見出してきたが、その後の細胞内運命については不明である。そこで本研究では過酸化脂質の tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)と GSH 合成酵素阻害剤の buthionine sulfoximine (BSO)により惹起された Mrp2 の内在化とその後の分解について、タンパクの分解に関わるユビキチン様修飾因子(ULMs; ubiquitin, small ubiquitin-related modifier (SUMO))の関与を含めた経時的な検討を行った。

【方法】雄性 Sprague-Dawley ラットに t-BHP (500  $\mu$ M)を 30 分間肝灌流、BSO (1 g/kg B.W. i.p.)を投与した 2~8 時間後の肝臓より胆管側膜画分の調製を行い、Mrp2 の発現量を western blot 法により定量した。また Mrp2 抗体による免疫沈降後、ubiquitin、SUMO 抗体による western blot 法により Mrp2 の ULMs による修飾を検討した。

【結果・考察】t-BHP、BSO 誘発性酸化ストレスモデルにおいて肝臓内 GSH 量の減少に伴った Mrp2 の胆管側膜における発現量減少が見られた。また、BSO 処置 8 時間後では肝臓全体の Mrp2 タンパク発現量が減少する一方で mRNA 発現量には影響が見られず、BSO 処置による Mrp2 タンパク分解の亢進が認められた。さらに、Mrp2 が ULMs の修飾を受けることが確認されたが、t-BHP 処置では、修飾の程度には変化が見られなかった。現在、Mrp2 のタンパク分解が亢進する BSO 処置時の ULMs による修飾の関与についての検討を行っている。