

# 31E20-am09

Ube2d ファミリーの遺伝子発現と p53 の蓄積に及ぼす重金属の影響

○徳本 真紀<sup>1,2</sup>, 菊地 雄基<sup>2</sup>, 藤原 泰之<sup>2</sup>, 内山 真伸<sup>1,3</sup>, 佐藤 雅彦<sup>2</sup>(<sup>1</sup>理研,<sup>2</sup>愛知学院大薬,<sup>3</sup>東大院薬)

【目的】我々は、カドミウム (Cd) がユビキチン転移酵素の一つである Ube2d ファミリー (Ube2d1, Ube2d2, Ube2d3 および Ube2d4) 遺伝子の発現抑制を介して p53 を過剰蓄積させ、アポトーシスを誘導することをラット腎近位尿細管上皮細胞を用いて見いだした。この一連の現象が Cd に特異的であるかを確認するため、亜鉛 (Zn)、銅 (Cu)、無機ヒ素 (As[III]) および無機水銀 (Hg[II]) が Ube2d ファミリーの遺伝子発現並びに p53 の細胞内蓄積に及ぼす影響を検討した。

【方法】ラット腎近位尿細管上皮細胞を Zn 150  $\mu$ M, Cu 250  $\mu$ M, As[III] 20  $\mu$ M あるいは Hg[II] 50  $\mu$ M で 6 および 24 時間処理し、MTT assay により細胞毒性を評価した。各金属 6 時間処理後の Ube2d ファミリー各 mRNA レベルをリアルタイム RT-PCR 法で測定した。また、各金属 24 時間処理後の p53 をウェスタンブロット法にて検出し、アポトーシスを断片化 DNA のアガロース電気泳動により確認した。

【結果および考察】各金属 24 時間処理により細胞生存率が有意に低下した。Zn はわずかに p53 を蓄積させ、弱いアポトーシスを引き起こしたが、Cu 処理では p53 の蓄積およびアポトーシスは認められなかった。また、Zn および Cu は Ube2d ファミリー遺伝子の発現レベルに影響を及ぼさなかった。As[III]は Ube2d1, 2 および 4 の mRNA レベルを有意に抑制し、p53 の蓄積並びにアポトーシスを引き起こした。したがって、As[III]は Cd と同様に Ube2d ファミリー遺伝子の発現抑制を介した p53 依存적アポトーシスを誘導することが明らかとなった。Hg[II]処理した細胞では Ube2d1 mRNA レベルが減少したものの、Ube2d3 mRNA レベルは上昇した。さらに、Hg[II]は p53 を蓄積させることなく強いアポトーシスを発生させたことから、Cd とは違う経路によってアポトーシスを誘導している可能性が示唆された。