

27D-am06S

銅錯体による血管内皮細胞のメタロチオネイン発現誘導機構解析

○藤江 智也¹, 中 寛史^{2,3}, 吉田 映子¹, 藤原 泰之^{3,4}, 山本 千夏^{3,5}, 鍛冶 利幸^{1,3} (1東京理大薬, 2名大物産, 3東京理大総研 BOM, 4東京薬大薬, 5東邦大薬)

【背景】内皮細胞は血管を一層に覆う cell type であり, 血管病変の防御に重要な役割を果たしている。メタロチオネイン (MT) は, その特徴的な構造によって多様な防御機能を持ち, 血管傷害の防御に寄与する。MT の誘導には, 亜鉛の結合による転写因子 MTF-1 の活性化が必須であるとされる。しかしながら, 内皮細胞に亜鉛を曝露しても MT はほとんど誘導されず, その細胞選択的な誘導機構の解析も適当なツールが存在しないことから未解明である。そこで本研究では, 銅錯体である $\text{Cu}(\text{edtc})_2$ (Cu10) を活用して, 内皮細胞における MT 誘導機構を解析した。

【方法】培養ウシ大動脈血管内皮細胞を Cu10 で処理し, タンパク質および mRNA 発現をウェスタンブロット法および real time RT-PCR 法によりそれぞれ解析した。

【結果および考察】内皮細胞を Cu10 で処理したとき, 濃度および時間依存的な MT-1/2 タンパク質および mRNA 発現の誘導が認められた。Luciferase assay により, MTF-1 応答配列 MRE の Cu10 処理濃度依存的な活性化が認められた。MTF-1 の発現抑制により, MT-1/2 アイソフォーム (MT-1A/1E/2A) mRNA 発現誘導は全て抑制された。一方, Cu10 処理により転写因子 Nrf2 およびその応答配列 ARE の活性化も認められた。BPM-labeling assay により, Cu10 の Keap1 への結合が認められた。また, Cu10 処理によりタンパク質のポリユビキチン化が認められた。Nrf2 の発現抑制により, Cu10 による MT-1/2 タンパク質発現は抑制された。このとき, MT-1 mRNA 発現は抑制されていたが, MT-2 mRNA 発現は抑制されなかった。以上より, Cu10 は MTF-1/MRE 経路を活性化するだけでなく, Nrf2/ARE 経路を活性化すること, および MT-1 の誘導にはその 2 経路の活性化が必要であるが MT-2 の誘導には MTF-1/MRE 経路の活性化のみが必要であることが示唆された。