

23N-am05

SMS2 過剰発現による GPx4 欠損新規細胞死抑制機構における膜局在の重要性の検討

○熊谷 剛^{1,2}, 平澤 星蘭^{1,2}, 大矢 梨里香^{1,2}, 部坂 由衣¹, 河合 美侑¹, 今井 浩孝^{1,2} (1北里大薬・衛生化学, 2AMED-CREST)

【背景・目的】GPx4 は、酸化リン脂質のひとつであるリン脂質ヒドロペルオキシドをグルタチオン依存的に直接還元できる唯一の酵素である。これまでに我々は GPx4 欠損により誘導される酸化脂質依存的な新規細胞死が、SMS2 の過剰発現により抑制されることを見出し、さらに SMS2 が過酸化脂質である PCOOH を代謝できることを明らかにしている。SMS2 は細胞膜及びゴルジ体に局在するが、SMS2 がどこで過酸化脂質を代謝して細胞死を抑制しているのかは不明である。本研究では、主に細胞膜に存在する SMS2 が、細胞膜に生成した過酸化 PC を代謝除去することで、細胞障害を抑制しているのではないかと考え、細胞膜へ局在しない SMS2 変異体を作成し、SMS2 の細胞膜局在の重要性の検討を行った。

【方法】実験には、タモキシフェン誘導型 GPx4 欠損 MEF 細胞を用いた。SMS2 膜局在変異体は細胞膜局在に重要な 4 つのシステイン残基をアラニン残基に置換して作成した。Flag 融合野生型 SMS2 及び膜局在変異型 SMS2 過剰発現細胞はレトロウイルス発現ベクター感染系を用いて作成した。細胞死はタモキシフェン処理後、経時的に顕微鏡により観察して評価した。

【結果と考察】野生型 SMS2 及び膜局在変異型 SMS2 の過剰発現細胞を構築し、SMS2 変異体の局在を蛍光免疫染色によって確認したところ、野生型では SMS2 が細胞膜に局在していたのに対し、SMS2 膜局在変異体では細胞膜への局在性が失われていることが確認された。そこで SMS2 膜局在変異体での細胞死の影響を検討した結果、野生型 SMS2 発現細胞では細胞死に対して抑制効果を示したが、SMS2 局在変異体では細胞死抑制効果が低下した。このことから、SMS2 による GPx4 欠損新規細胞死抑制機構には、SMS2 の細胞膜への局在が重要であることが推察された。