

論文の内容の要旨

論文題目 抗酸化物質による遺伝子発現制御を介した細胞機能調節

氏名 高部 稚子

動脈硬化は血管に脂質や細胞成分等が蓄積し血流を妨げる現象であり、脳卒中や心筋梗塞などの深刻な疾病を引き起こす。動脈硬化巣の脂質成分は主に酸化変性を受けた血中の低比重リポタンパク (LDL) だと言われており、そのため酸化を防ぐ働きを有する『抗酸化型の抗動脈硬化薬』が開発されてきた。ところが近年、動物種によって薬剤の効果が著しく異なるなど、単なる抗酸化作用だけでは説明できない別の作用があることが示唆されるようになってきた。本研究では抗動脈硬化薬として知られている2種の抗酸化作用を持つ合成薬; プロブコールおよび 2,3-Dihydro-5-hydroxy-2,2-dipentyl-4,6-di-*tert*-butylbenzofuran (BO-653) が、ヒト血管内皮培養細胞に与える影響について検討した。DNA チップを用い、6800個の遺伝子の網羅的解析を行った結果、これらの薬剤が体内の不要なタンパク質を分解する働きを持つプロテアソームの α -サブユニット; PSMA2, PSMA3, PSMA4 の遺伝子発現を抑制することがわかった。

表1 抗酸化剤によって発現が抑制された遺伝子

Gene No.	Name	average difference			fold change (ranking No.)		gene profile
		DMSO	BO	PB	BO	PB	
D00762	Proteasome subunit HC8 (PSMA3)	5573	1411	2492	-4.5(1)	-2.2(4)	protein synthesis / degradation
D00763	Proteasome subunit HC9 (PSMA4)	7425	1973	3619	-3.8(2)	-2.1(5)	protein synthesis / degradation
D00760	Proteasome subunit HC3 (PSMA2)	6568	1792	3396	-3.2(4)	-1.7(17)	protein synthesis / degradation
X05908	Lipocortin I	4276	1469	2167	-2.9(6)	-2.0(8)	
M61916	Laminin B1 chain	2201	805	787	-2.7(9)	-2.8(1)	adhesion
D13630	KIAA0005 gene	3057	1398	2073	-2.7(9)	-1.8(14)	unknown
HG2755-HT2862	T-Plastin	4442	1702	2093	-2.6(11)	-2.1(5)	
D15057	Defender against cell death (DAD-1)	9812	3819	4755	-2.6(11)	-2.1(5)	proliferation / cell death
D30655	Eukaryotic translation initiation factor 4A2 (ELF4A2)	5818	2288	2866	-2.5(14)	-2.0(8)	protein synthesis / degradation
L37042	Casein kinase1 alpha1 (CSNK1A1)	3102	1282	1238	-2.4(16)	-2.5(3)	
D14657	KIAA0101 gene	6375	2643	4163	-2.4(16)	-1.5(24)	unknown
S72008	Cell division cycle 10 (CDC10)	2948	1228	1118	-2.4(16)	-2.6(2)	
HG1103-HT1103	Guanine Nucleotide-Binding Protein Ral, Ras-Oncogene Related	3284	1415	1912	-2.3(20)	-1.7(17)	

プロテアソームは α -サブユニット、 β -サブユニット、ATPase サブユニット、non-ATPase サブユニットから構成されているが、ノーザンブロットおよびウエスタンブロットにより、このような発現抑制を受けるのは α -サブユニットのみであることが明らかになった。

プロテアソームは真核生物の ATP 依存性プロテアーゼであり、主としてユビキチン化されたタンパク質をエネルギー依存的に分解する働きを有している。対象となるタンパクの1つに、動脈硬化の原因と考えられる接着因子発現に関与する転写因子; NF- κ B を不活化している I- κ B α が挙げられる。I- κ B α の分解が起こると、NF- κ B が活性化して核内移行を経て DNA に結合し、vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin 等の様々な接着因子の発現を促すことが知られている。そこで、ユビキチン化タンパク及び I- κ B α についてウエスタンブロットを行った結果、これらの薬剤により、ユビキチン化タンパク及び I- κ B α の分解が抑制されることがわかった。

このことより、

- 1.上記の2種の抗酸化剤が、プロテアソームの特定のサブユニット構成要素の遺伝子、タンパクレベルを減少させること
 - 2.一部のサブユニットの発現レベルが抑制されることで、プロテアソーム全体の機能が抑制されること
 - 3.抗動脈硬化機構の1つとしてプロテアソーム機能制御を介して接着分子発現を抑制すること
- が示唆された。