

平成 26 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	種々の炎症モデルにおける ERM タンパク質およびトランスポーター機能に対する影響	
研究者所属・氏名	研究代表者：薬学部 医療薬学科 講師 川瀬篤史	

1. 研究目的・内容

炎症状態では、いくつかの薬物輸送担体（トランスポーター）発現・機能の変動する。本研究では、近年トランスポーターの膜局在および機能発現において重要な役割を担っていることが報告されている ERM タンパク質 (ezrin/radixin/moesin) 変動を種々の炎症モデルを用い検討し、炎症のトランスポーター機能に対する影響に関する基礎的知見を得る。

2. 研究経過及び成果

アジュバント（結核菌の死菌体）を雌性 SD ラットに皮下投与することで炎症を惹起させるモデル（アジュバント関節炎ラット）を用いた検討では、炎症の進行に伴い胆管側膜に発現しているトランスポーターの総発現量は変化しないものの、膜局在が低下することが明らかとなった。膜局在が低下していることより裏打ちタンパク質である ERM タンパク質の発現または機能の変動している可能性があるのではないかと考え、ERM タンパク質の mRNA、タンパク質、細胞内局在、トランスポーターとの複合体形成について検討を行った。Radixin mRNA 発現量が炎症時に有意に低下していたが、タンパク質発現には大きな変化は見られなかった。次に radixin のトランスポーターとの複合体形成について検討を行ったところ、P-gp と BCRP との複合体形成が低下することが明らかとなった。

次にアジュバント関節炎ラット以外の炎症モデルを用いた検討を行った。急性炎症モデルとしては、アセトアミノフェンを投与し肝障害を起こしたモデルおよび胆管結紮により胆汁うっ滞を起こしたモデルを用いた。慢性炎症モデルとしては、高脂肪食を長期間与えたモデルおよび CCl₄ を長期にわたり投与したモデルを用いた。CCl₄ ラットより肝臓を摘出し、調製した肝ホモジネートにおける radixin および MRP2 発現量をウエスタンブロット法により測定した。Radixin 発現量は control および CCl₄ ラット群間で大きな変化は認められなかった (Fig. 1)。また、MRP2 発現量にも両群間に違いはみられなかった。これまで検討してきたアジュバント関節炎ラットと CCl₄ ラットとも肝ホモジネートでのトランスポーターおよび radixin 発現量に変化はなかったことから、radixin 活性レベルと膜タンパク質を用いたトランスポーター発現量についても今後検討

を行うことが必要であると考えられる。アジュバント関節炎ラットでは、radixin の活性化に関わる肝グルタチオンレベルが低下を示しており、活性型 *p*-radixin 発現の低下がみられた。また、MRP2 と radixin の胆管側膜での共局在の低下が免疫染色法により観察された。

以上のことより、炎症時には radixin およびトランスポーターの発現量には大きな変化はみられなかったが、

radixin 活性の低下によりトランスポーターの膜局在および輸送活性の低下が生じる可能性が示唆された。

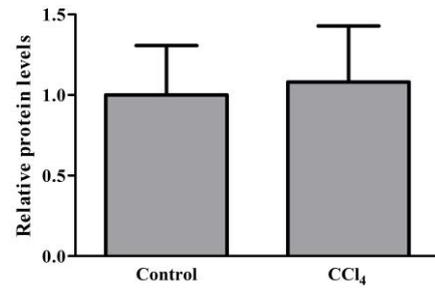


Fig. 1 Relative protein levels of radixin in liver homogenate in CCl₄ rats.

3. 本研究と関連した今後の研究計画

今後、*in vitro*で ERM タンパク質およびその関連分子の機能を抑制または促進した際のトランスポーターに与える影響を評価することで、炎症時のトランスポーター低下改善において ERM タンパク質がターゲット分子となり得るかを検討する予定である。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第 64 回日本薬学会近畿支部総会・大会	口頭	2014 年 10 月 11 日
Global Education Seminar West 2014-1st, Academy of Pharmaceutical Science and Technology, Japan	口頭	2014 年 12 月 12 日
Anti-Aging International Mini-Symposium 2014 Cell Signaling and Therapeutic Targets for Geriatric and Inflammatory Diseases	口頭	2014 年 6 月 7 日