

研究成果報告書の概要

講座等名	薬理学講座	事業推進者名	中邨 智之
所属部門	代謝部門		
分担研究課題	細胞外マトリックス線維形成の加齢変化に関する研究		
キーワード	弾性線維、架橋構造、Fibulin-4、LOX		
講座内の本プロジェクト参加研究者数	3名		
研究組織（本プロジェクトに参加する研究者、大学院生等のリストおよびそれぞれの役割）	<p>中邨智之（教授）プロジェクトの統括 赤間智也（准教授）遺伝子変異マウスの作成 村部知里（技師）実験補助</p>		
研究成果の概要（令和元（2019）・令和2（2020）年度の研究成果について）	<p>肺や大動脈といった伸び縮みする組織の弾性は弾性線維と呼ばれる特殊な細胞外マトリックスの線維によって構築されている。本研究では生体内において弾性線維構築に重要な役割を担う細胞外マトリックスタンパク質群の機能を明らかにするべく、その遺伝子改変マウスを作成して表現型の解析を行っている。</p> <p>フィブリン 4(Fibulin-4)と呼ばれる細胞外マトリックスタンパク質の遺伝子変異マウスはコラーゲン線維や弾性線維の形成が不完全であり大動脈や横隔膜の断裂により新生仔致死の表現型を示す。このことからフィブリン 4 は線維形成やその成熟化に重要な役割を担っていることが考えられているが、その機能的役割は完全に解明されていない。コラーゲン線維や弾性線維の成熟化には lysyl oxidase (LOX) によるタンパク質間の架橋構造形成が必須であり、本研究にて我々は活性型 LOX の形成にフィブリン 4 が関わっていることを明らかにした。</p> <p>フィブリン 4 欠損マウスの胎児線維芽細胞(MEF)から分泌される LOX は正常マウスの MEF から分泌される LOX に比べ SDS-PAGE での移動度が小さく、その架橋活性も著しく減弱していたことからフィブリン 4 の欠損は LOX の構造に何らかの影響を与えることが示唆された。LOX の活性中心には LTQ と呼ばれる酵素活性発現に必須である特殊な分子内架橋構造が形成されるが、質量分析による解析によりフィブリン 4 欠損マウスの MEF から得られた LOX にはその構造が形成されていないことがわかった。LOX 内の LTQ はコファクターとして分子内に配位した銅イオンにより形成されることが知られており、細胞内で LOX に銅イオンを受け渡すのは ATP7A と呼ばれる膜タンパク質であることがわかっている。我々は ATP7A 遺伝子に変異の入った MEF から分泌された LOX を調べ、フィブリン 4 欠損 MEF に由来する LOX と同様に SDS-PAGE での移動度が小さくなっていることを確認した。またフィブリン 4 欠損マウス MEF 由来の LOX は銅イオンの含有量が激減していたことから、フィブリン 4 の機能は LOX への銅イオンの供与に関係することが示唆された。そこで組換え体フィブリン 4 と ATP7A との結合を調べたところ、両タンパク質は会合体を形成することがわかり、さらにはフィブリン 4 欠損 MEF の培養液に組換え体フィブリン 4 を添加することで活性のある LOX が形成されることが明らかとなった。これらの結果から、フィブリン 4 は細胞内で合成されて ATP7A の局在するゴルジ装置に移行、あるいは細胞外から細胞内に取り込まれてゴルジ装置に移行し、そこで ATP7A によってゴルジ装置内に取り込まれる銅イオンを LOX に受け渡す機能があることを証明した。</p> <p>本研究はコラーゲン線維や弾性線維の成熟化に必須である架橋酵素 LOX の活性化にフィブリン 4 が深く関わっていることを報告した初めての研究であり、弾性線維の形成およびその成熟化ステップの完全解明に向けてさらに一步前進したといえる。</p>		