

F9 Herp 欠損細胞を用いた、小胞体ストレス由来細胞死制御の試み

(Prevention of the ER stress-induced cell death in F9 Herp knockout cells)

堀 修

金沢大学・院・医・神経分子標的学（解剖学第3） 助教授

Herp is a membrane bound, ubiquitin-like protein that is located in the endoplasmic reticulum (ER). Although Herp is strongly induced by endoplasmic reticulum (ER) stress, it decays rapidly consequent to proteasome-mediated degradation. We recently reported that targeting disruption of the Herp gene caused F9 embryonic carcinoma cells vulnerable to ER stress, and the ER stress-induced death in F9 Herp null cells was associated with the aberrant ER stress signaling, structural changes in the ER and caspase activation (Genes Cells 2004, 9, 457-469). Using these cell lines, we developed a screening system to find molecules that protect cultured cells from the ER stress-induced cell death. As a pilot study, we have tested approximately 10 well-known reagents, and we will present the results in this meeting. Because the crucial roles of the ER stress response/ER stress-induced cell death have been reported in many pathological conditions including diabetes, arteriosclerosis, ischemia, and neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease, Huntington's disease, and Alzheimer's disease, we speculate that our system could provide novel therapeutic targets to the ER stress-related diseases.

細胞内に存在する小器官のうち、呼吸を司るミトコンドリアは酸化ストレスの産生・制御と深く関わり、その機能障害は、直接、細胞死に結びつくことが、以前より良く知られている。ところが、最近になって、分泌系蛋白の生合成等に必要の小胞体に障害が起こった場合も、unfold な蛋白が小胞体に蓄積してしまい（小胞体ストレス）、やはり細胞死を引き起こすことが明らかになってきた（小胞体ストレス由来細胞死）。そして、いわゆる“生活習慣病”を含む多くの疾患で、小胞体ストレス・小胞体ストレス由来細胞死というものが深く関わっている事が報告されて来ている。Herp は、小胞体に存在する膜蛋白で、その N 末端にユビキチン様ドメインというものを持っており、小胞体ストレスにより、その発現が非常に強く誘導される。Herp の機能については、小胞体での蛋白分解に関与しているという可能性が示唆されているが、未だ不明な点が多い。我々は、これまでに、Herp 遺伝子を欠損した F9 細胞を作製し、Herp 欠損 F9 細胞が、小胞体ストレスに対して極めて弱くなることを報告した(Genes Cells 2004, 9, 457-469)。Herp 欠損 F9 細胞における小胞体ストレス由来細胞死は、小胞体ストレス関連シグナルの増大、小胞体の形態学的変化、カスパーズの活性化を伴い、最終的にアポトーシスの形態を取っていた。

今回、我々は、この Herp 欠損 F9 細胞を用いて、小胞体ストレスから細胞を守るような化合物を発見するような測定系を作製した。この測定系の特徴として、①Herp 欠損 F9 細胞と言う、ク

ローン化された均一な細胞集団を用いているため、結果判定が容易であり、再現性が得られやすいこと、②Herp 欠損 F9 細胞は、通常の培養条件下で安定した増殖を示し、大量の化合物スクリーニングに適していること、③さらに、Herp 欠損 F9 細胞は、取り扱いが比較的簡便であること、等があげられる。基本的な戦略として、この Herp 欠損 F9 細胞を用いた一次スクリーニングと、より実際の疾患に近いモデルでテストする 2 次スクリーニングを考えている。これまで、既知の化合物約 10 種類について、その細胞死抑制効果を測定しており、結果を紹介する。