

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06560

研究課題名(和文) 微小管結合蛋白質の意外な機能：繊毛細胞の脂質を酸化から守る原理の解明

研究課題名(英文) Elucidation of a mechanism that protects lipid from oxidative stress in ciliated cells

研究代表者

篠原 恭介 (Shinohara, Kyosuke)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20527387

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では気道繊毛細胞に発現する微小管結合蛋白質をコードする遺伝子の欠損マウスで見出された予想外の表現型を解析した。電子顕微鏡による観察から欠損マウスでは不飽和脂肪酸の過酸化により生じるリポフスチンが多数認められる事を確認した。リポフスチンが形成する理由について細胞内環境の還元化を担う酵素群の観点から解析を実施したが手掛かりは得られなかった。一方、研究開始前には気付いていなかった観点として欠損マウスにおいて粘液顆粒を有する気道繊毛細胞の割合が野生型マウスに比べて増加している事が判明した。共焦点顕微鏡観察からもこの点が裏付けられ、欠損マウスでは気道繊毛細胞の分化に異常をきたしている事が分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題の成果により、当初の目的とは異なる方向性にはなったが哺乳類の気道繊毛細胞がどのような分子の働きで成熟するかについてその一端が明らかとなった。今回得られた知見を利用する事により、加齢や喫煙により呼吸器の繊毛細胞の数が減少し発症する病気の治療法の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this project, we have analyzed unexpected phenotype of tracheal ciliated cells in a microtubule binding protein-deficient mouse (KO mouse). In the KO mouse, we observed lipofuscin in tracheal ciliated cells. Although we examined mechanism of this phenotype, any evidence was not obtained during the project. Alternatively, we have found another phenotype on the mucus secretory granule. In the KO mouse, ciliated cells harbored mucus secretory granule, suggesting that proportion of cilia-secretory hybrid cell increased compared with that in the wild type mouse. Further, we have validated this phenotype using immunofluorescence and RNaseq analysis.

研究分野：細胞生物学

キーワード：繊毛 微小管 酸化ストレス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究はマウス気道において発現する微小管結合タンパク質をコードする遺伝子の欠損マウスにおける予備データが元となっている。研究開始前の予備実験データとして欠損マウスの気道繊毛細胞内部において酸化した脂肪酸の集合体構造であるリポフスチンが多数認められる事、および当該の微小管結合タンパク質が複数の **Peroxioredoxin** と相互作用する事、を観察していた。この事からこの微小管結合タンパク質は微小管の制御とは別に細胞内の酸化・還元環境の御に関わる予想外の機能を持つという仮説をたてた。

2. 研究の目的

『当該微小管結合タンパク質が細胞内の酸化還元環境の制御にも関わる』という仮説を検証する事を目的とした。

3. 研究の方法

野生型マウスと遺伝子欠損マウスの気管組織を用いて研究を実施した。酸化した脂質を検出する蛍光プローブによるイメージング、免疫染色法による微小管結合タンパク質の細胞内局在解析、免疫沈降法による微小管結合タンパク質と Peroxioredoxin の相互作用の解析により微小管結合タンパク質が細胞内のどの部位に存在し酸化・還元環境の制御を担う可能性があるかを調べた。

4. 研究成果

野生型マウスと遺伝子欠損マウスにおける気管繊毛細胞を比較すると遺伝子欠損マウスの酸化した脂質の量が増えている事が観察された。免疫染色の結果では微小管結合タンパク質は細胞質全体に存在し、当初期待していた Peroxioredoxin が働くミトンドリア、ペロオキシソーム、小胞体・核などへの共局在は観察されなかった。また、免疫沈降の実験結果では微小管結合タンパク質と Peroxioredoxin の相互作用が検出できず研究開始前の予備データの再現性が得られない

状況となった。これらの結果から細胞内の酸化・還元環境の制御に関する機能解析は行き詰まったが、その一方で遺伝子欠損マウスの気管繊毛細胞において粘液顆粒が多数認められる事に気付いた。野生型マウスに比べて遺伝子欠損マウスの気管繊毛細胞では粘液分泌細胞と繊毛細胞の両方の性質を併せ持つ細胞の割合が増えていた。この事は粘液分泌細胞の分子マーカーと繊毛細胞の分子マーカーそれぞれの免疫染色および気管組織の RNAseq 解析からも裏付けられ、このタンパク質は気管繊毛細胞の分化/成熟化に関わる事が示唆された。今後はこの表現型が微小管と関係があるのか否かを明らかにする予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------