

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 17 日現在

機関番号：34509

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20590268

研究課題名（和文） 免疫抑制薬の副作用発現に關与する遺伝子の同定と機能解析

研究課題名（英文） Genomic analysis of immunosuppressant effect-related genes using fission yeast as a model system

研究代表者 春藤 久人（SHUNTOH HISATO）

神戸学院大学・総合リハビリテーション学部・教授

研究者番号：70206259

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：受容体・チャネル・輸送系・シグナル情報伝達系

1. 研究計画の概要

(1)モデル生物である分裂酵母を用いて免疫抑制薬の副作用発現に關する原因遺伝子を同定しそのメカニズムを明らかにする。

(2)免疫抑制薬の標的であるカルシニューリンが分裂酵母にも存在する点に着目して、免疫抑制薬感受性変異体を取得する。その原因遺伝子を同定し、その遺伝子産物の機能解析により副作用発現のメカニズムを明らかにする。

(3)複数の免疫抑制薬感受性変異体の原因遺伝子の相互作用を解析することにより、カルシニューリンのシグナル伝達系ネットワークを明らかにする。

2. 研究の進捗状況

研究代表者はこれまでに分裂酵母免疫抑制薬感受性変異体を数種類取得し、その原因遺伝子の機能解析を行っている。その結果から、カルシニューリンが細胞内輸送、細胞質分裂、細胞形態形成などのアクチン細胞骨格のダイナミックな再構成に關与することを見出している。アクチン細胞骨格制御に關わる遺伝子を解析する過程で、Wiskott-Aldrich 症候群の原因遺伝子の分裂酵母ホモログである *wsp1* 遺伝子の変異体が Cl イオン感受性かつ免疫抑制薬感受性であることを見出した。そこで、カルシニューリンの機能及び免疫抑制薬の副作用発現のメカニズムを明らかにすることを目的に *wsp1* 遺伝子産物の機能解析を行った。これまでに、以下のような成果を得ている。

(1)*wsp1* 遺伝子破壊株は細胞増殖が著しく遅くなり、免疫抑制薬感受性を示した。また、細胞質分裂、細胞壁 integrity 及びアクチンの細胞内局在に異常を認めた。

(2)*wsp1* 遺伝子破壊株の細胞質分裂異常のメカニズムについて解析した結果、収縮環の位置を正しく決定するために、Wsp1 とカルシニューリンが協同的に働いていることが示唆された。

(3)*wsp1* 遺伝子産物は F 型アクチンと共有し、*wsp1* 遺伝子破壊株ではアクチンの局在異常が認められた。また、*wsp1* 遺伝子破壊株では v-SNARE の局在異常、分泌機能異常、エンドサイトーシス及び液胞融合の障害が見られた。

(4)*wsp1* 遺伝子破壊株の Cl イオン感受性の表現型の抑圧変異体である *swd* (suppressor of *wsp1* deletion) 変異体を数種類、取得した。*swd* 変異体のうち、*swd1* はエンドサイトーシスに關連する遺伝子であり、このことから、Wsp1 とカルシニューリンがエンドサイトーシスにおいても協同的に働いていることが示唆された。

3. 現在までの達成度

<区分> 遅れている

(理由) 免疫抑制薬感受性変異体のうち、*wsp1* 変異体については解析が進み、抑圧変異体の取得も行き、Wsp1 とカルシニューリンの協同的な機能を示唆する一定の成果が得られている。しかし、他の免疫抑制薬感受性変異体の原因遺伝子の解析が遅れており、カルシニューリンのシグナル伝達系ネットワークを明らかにするまでには至っていない。

4. 今後の研究の推進方策

(1)細胞内輸送に關与する遺伝子産物と *wsp1* 遺伝子産物との機能的關連の遺伝学的解析を行うことにより、カルシニューリン、*wsp1* 遺伝子産物、及び細胞内輸送關連分子の相互

作用を明らかにし、カルシニューリンのシグナル伝達系ネットワークを明らかにする。
(2)成果公表 論文作成し、学術論文として成果を公表する。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計1件)

高田将司、春藤久人、分裂酵母を用いたアクチン細胞骨格の解析、2010年度神戸学院大学総合リハビリテーション学部卒業研究発表会、2010年12月27日、神戸学院大学