

## P-15

### カチオニックリポソームによるマクロファージアポトーシスに DR5 は関与するか？

東京薬科大学 薬学部 薬物送達学教室

○佐藤かおり、新楨 幸彦、根岸 洋一、多田 壘

リポソームはリン脂質を主要構成成分とする閉鎖小胞であり、生体適合性や生分解性が高く、また、さまざまな物質の内封が可能であることから DDS キャリアーとして期待されている。中でも、正電荷脂質を構成成分とした正電荷リポソームは負電荷を有する核酸医薬と静電的相互作用により容易に複合体を形成することから、非ウイルス性ベクターとして期待されているが、常に細胞毒性の問題が懸念されている。我々は正電荷リポソームの細胞毒性の一因がアポトーシス誘導であることを明らかとし、その誘導機構の詳細に関して検討を加えてきた。正電荷リポソームは細胞表面上に発現しているプロテオグリカンと相互作用して、reactive oxygen species (ROS) の産生を誘導し、ROS による p38 MAP kinase の持続的な活性化、caspase-8 の活性化に伴う bcl-2 family の一つである Bit の活性化、引き続きミトコンドリアへのトランスロケーションを誘導し、チトクロム c の放出を促進しアポトーシスが誘導される経路を提唱した。さらに、最近、正電荷リポソームはリピッドラフトに集積し、PKC  $\delta$  を活性化し、引き続き ROS の産生を誘導することを明らかとした。

今回、正電荷リポソームによるマクロファージのアポトーシス誘導のより詳細な機構を明らかにする目的で TRAIL に対するレセプターとして知られている DR5 に注目した。

正電荷リポソーム処理後、DR5 とリピッドラフトの共局在が観察され、正電荷リポソームによるマクロファージのアポトーシス誘導に DR5 の関与が強く示唆された。

## P-16

### 細胞の生死を制御するストレス応答性 MKK7 の神経系における生理的役割の解明

<sup>1</sup>東京医科歯科大学、<sup>2</sup>東京大学

○仁科 博史<sup>1</sup>、山崎 世和<sup>2</sup>、河崎 洋志<sup>2</sup>、堅田 利明<sup>2</sup>

ストレス応答性キナーゼ MKK7 は JNK を活性化し、標的基質のリン酸化を介して様々な生理応答を引き起こす。これまでに本シグナル伝達系は、損傷、虚血、神経変性疾患や脳発生などで細胞死誘導シグナルとして機能することが報告されている。しかしながら JNK シグナル系は、胎生期から成体にいたるまで脳内で恒常的に活性化されており、この活性化を細胞死誘導シグナルとして考えることはできない。そこで本研究では、この JNK 系の恒常的活性化の生理的役割の解明を目的とした。

実験方法は、*mkk7*<sup>fl/fl</sup> マウスを作出し、Cre マウスとの交配により条件付 *mkk7* 遺伝子破壊を行い、表型系の解析を行った。これまでに Nestin-Cre マウスを用いて、神経幹細胞特異的に *mkk7* 遺伝子を破壊したマウスが、①自発呼吸ができず生後直後に致死となること、②脳室が拡大し線条体が縮小すること、③軸索路が消失すること、④細胞移動が遅延すること、⑤オートファゴソームやファイバー構造が異常蓄積すること、⑥ TAG-1 陽性の脳皮質遠心性神経軸索が消失することを見出し、JNK シグナル系の恒常的活性化は、脳発生において細胞移動や軸索伸長を制御することを明らかにした (*J. Neurosci.* 2011)。また興味深いことに、*mkk7* 遺伝子を破壊した細胞では分子時計の周期が約 2 時間伸長することを見出した (*J. Biol. Chem.* 2012)。現在は、Synapsin-Cre マウスを用いて、成体マウスの神経特異的に *mkk7* 遺伝子を破壊したマウスの解析を行っている。これまでに 1) 概日リズムの異常や 2) 加齢に伴う運動機能の低下を見出している。

以上のように我々は、主に細胞死誘導シグナルとして考えられてきた JNK シグナル系が、胎仔マウスの脳や成体マウスの神経では、むしろ細胞生存シグナルとして機能することを明らかにしつつある。