九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Characterization of Selenium-binding protein1 (Selenbp1) by studying with Selenbp1-knockout mice

宋, 穎霞

https://hdl.handle.net/2324/4496020

出版情報：Kyushu University, 2021, 博士（創薬科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏　　名	宋　穎霞
論　　文　　名	Characterization of Selenium-binding protein1 (Selenbp1) by studying with Selenbp1-knockout mice (セレン結合タンパク質１（Selenbp1）欠損マウスを用いた Selenbp1 の特性評価に関する研究)
論　文　調　査　委　員	主　査　九州大学大学院薬学府　　准教授　石井　祐次 副　査　九州大学大学院薬学府　　教　授　田中　嘉孝 副　査　国際医療福祉大学薬学部　教　授　石田　卓巳 副　査　九州大学大学院薬学府　　准教授　坂元　政一

論文審査の結果の要旨

セレンは、その機能を仲介するためにセレノシステインとしてセレノプロテインに組み込まれる必須の微量元素である。ただし、多数のセレノプロテインの正確な機能は未だ不明のものも多い。セレン結合タンパク質 1 は、高度に保存された非従来型セレノプロテインで、これに結合するセレンの化学的性質はセレノシステインのそれとは異なるが、未だ詳細は不明である。マウスの Selenbp1（SBP56）遺伝子と相同性のあるヒト SELENBP1 遺伝子は、56kDa のタンパク質をコードし、セレンと安定的に結合する。これまでの報告では、SELENBP1 レベルの低下は、発がんや患者の予後不良と関連するとされている。一方、統合失調症患者では、脳内 SELENBP1 レベルの上昇が認められている。最近の研究で、ヒト SELENBP1 に変異があると、口臭を引き起こす可能性があることが示されている。このことから、ヒト SELENBP1 が、メタンチオールオキシダーゼであることが示唆されているが、精製された SELENBP1 の機能は未だ実験的に確認されていない。マウス肝臓には、Selenbp1 だけでなく、これと高い相同性を示す Selenbp2 が発現している。当研究室の先行研究では、ダイオキシン類の一つである高毒性のコプラナーポリ塩化ビフェニル、3,3 ',4,4',5-ペンタクロロビフェニル（PCB126）および 3-メチルコラントレンが、ラット肝臓の Selenbp1 タンパク質を著しく誘導することを明らかにしている。この誘導現象から、Selenbp1 は TCDD による毒性に関与している可能性があるとともに、Selenbp1 の誘導が毒性軽減のための応答反応である可能性も残されている。Selenbp1 の TCDD 毒性への関与を明らかにする目的で、当研究室では Selenbp1 ノックアウト (KO)マウスが作成され、検討が行われたが、肝臓では Selenbp1-KO マウスと野生型（WT）マウスの間には、明らかな表現型の違いは無く、一部の臓器で遺伝子発現の変動が見出されるに止まっていた。これは、肝臓において Selenbp1 の機能に対する Selenbp2 の代償効果が働いたことによるものと推定された。一方、当研究室の先行研究では、20 時間の絶食が肝臓および腎臓の Selenbp1 mRNA 発現に影響を与えないのに対し、Selenbp2 mRNA 発現は有意に減少することが示唆された。Selenbp1 と相同性の高いアイソフォームである Selenbp2 の腎臓での発現は低いと報告され

ていることから、Selenbp1の生理的役割を明らかにするには肝臓よりも腎臓が適していると考えられた。そこで、本研究では、ダイオキシンによって変化する他の要因を排除して、ダイオキシン誘導性 Selenbp1 の役割を明らかにするため主に腎臓を研究対象とした。

第 1 章では、Selenbp1 の機能を調べるために、非絶食時のタンパク質レベルで肝臓と比較して腎臓の方が適していることを確認した。Selenbp2 の腎臓での発現量が少ないことを考え、第 2 章では、ダイオキシンによって変化する他の要因を排除して、腎臓におけるダイオキシン誘導性 Selenbp1 の発現の役割を明らかにすることを目的とした。腎臓における構成的な Selenbp2 mRNA の発現は、肝臓に比べて著しく低いことに加え、先行研究で、20 時間の絶食により Selenbp2 mRNA の発現が有意に減少することが示唆された。さらに、同条件下で Selenbp1 mRNA の発現にはほとんど影響がないことも示唆された。これらを踏まえて、Selenbp1 の欠損の影響を調べるために、腎臓の DNA マイクロアレイとメタボローム解析を行った。メタボロミクスでは、ところ、プロスタグランジン類やロイコトリエン類のレベルの上昇の可能性が示唆された。マイクロアレイでは、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体-α（Pparα）及び Pparα とヘテロ二量体を形成して遺伝子発現を促進するレチノイド-X-受容体-α（Rxrα）の発現量が同時に減少している可能性が示唆されたため、これをリアルタイム RT-PCR により検証したところ、Selenbp1 欠損により腎臓の Pparα および Rxrα の mRNA 発現が抑制されていることが明らかになった。さらに、脂肪酸のω-およびω-1 ヒドロキシル化に関与することが知られているシトクロム P450 4a（Cyp4a）サブファミリーの Cyp4a12a および Cyp4a12b mRNA の発現低下が起こっていることも分かった。Cyp4a12a および Cyp4a12b は Pparα により正に制御されていることが知られており、これらの発現低下は、Pparα と Rxrα の減少を介して引き起こされていることが示された。以上の結果から、Selenbp1 欠損は、PPARα のダウンレギュレーションを介して脂質代謝を変化させることが示唆された。第 3 章では、脂質酸化に関連する酸化ストレスにおける Selenbp1 の役割をさらに理解するために、Selenbp1 欠損マウスの抗酸化酵素 Superoxide dismutase (SOD)活性、過酸化水素レベルおよびチオバルビツール酸反応性生物 (TBARS)について調べた。SOD 活性は低下し過酸化水素レベルも低下した。Selenbp1 は酸化ストレスレベルの調節により、PPARα 経路を介して脂質代謝を制御している可能性が示唆された。また、Selenbp1 欠損によりスーパーオキシドが増えたと推定されたが TBARS は上昇傾向に留まり、病的な状況ではないことも推定された。血清中および腎臓中のセレン含量に有意な変動はなかった。したがって、構成的条件下の Selenbp1 には、SOD の調節などの酸化ストレス抑制作用があり、Pparα 経路を介して脂質代謝を制御していると考えられる。

本研究で得られた知見は、Selenbp1 の生理的機能について、特に脂質代謝への関与における重要性を示している。ダイオキシンは脂質代謝異常を引き起こすことが分かっており、Selenbp1 の誘導がダイオキシン毒性軽減のための防御的な応答であるか否かを明らかにすることに繋がる可能性があると考えられた。本研究の成果は、ダイオキシンの毒性軽減および油症の改善のための有益な情報を含んでいる。これらのことから、申請者は博士（創薬科学）の学位に値すると認める。