

491.124
B18
HO

血管系の細胞における酸化ストレス応答
—ストレスタンパク質の機能と CO/NO シグナル伝達系の関与—
(課題番号 10044234)

科学研究費補助金 (基盤研究(B)) 研究成果報告書

平成 13 年 3 月

研究代表者 坂内 四郎
(筑波大学基礎医学系教授)

寄	贈
坂内四郎氏	平成 年 月 日

01602991

研究組織

研究代表者 坂内四郎 (筑波大学基礎医学系教授)
研究分担者 石井哲郎 (筑波大学基礎医学系助教授)
研究分担者 佐藤英世 (筑波大学基礎医学系講師)
海外研究協力者 ジョバンニ・E・マン (ロンドン大学キングスカレッジ教授)

研究経費

平成 10 年度	2,700 千円
平成 11 年度	2,600 千円
平成 12 年度	2,500 千円
合計	7,800 千円

研究発表

原著論文

1. Sasaki, K., Bannai, S. and Makino, N. Kinetics of hydrogen peroxide elimination by human umbilical vein endothelial cells in culture. *Biochim. Biophys. Acta* 1380: 275-288 (1998).
2. Fujiwara, K., Sato, H. and Bannai, S. Involvement of endotoxins or tumor necrosis factor- α in macrophage-mediated oxidation of low density lipoprotein. *FEBS Lett.* 431: 116-120 (1998).
3. Tachi, Y., Okuda, Y., Bannai, C., Okamura, N., Bannai, S. and Yamashita, K. High concentration of glucose causes impairment of the function of the glutathione redox cycle in human vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett.* 421: 19-22 (1998).
4. Kuriyama-Matsumura, K., Sato, H., Yamaguchi, M. and Bannai, S. Regulation of ferritin synthesis and iron regulatory protein 1 by oxygen in mouse peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249: 241-246 (1998).
5. Sato, H., Kuriyama-Matsumura, K., Siow, R. C. M., Ishii, T., Bannai, S., and Mann G. E. Induction of cystine transport via system x_c⁻ and maintenance of intracellular glutathione levels in pancreatic acinar and islet cell lines. *Biochim. Biophys. Acta* 1414: 85-94 (1998).
6. Siow, R. C. M., Sato, H., Leake, D. S., Pearson, J. D., Bannai, S., and Mann, G. E. Vitamin C Protects Human Arterial Smooth Muscle Cells Against Atherogenic Lipoproteins, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 18: 1662-1670 (1998).
7. Sato, H., Tamba, M., Ishii, T., and Bannai, S. Cloning and expression of a plasma membrane cystine/glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins. *J. Biol. Chem.* 274: 11455-11458 (1999).
8. Kawane, T., Hou, J. Q., Sato, H., Sugita, Y., Bannai, S., and Ishii, T. Induction of metalloelastase mRNA in murine peritoneal macrophages by diethylmaleate. *Biochim. Biophys. Acta* 1427: 155-160 (1999).
9. Siow, R. C. M., Sato H., Leake, D. S., Ishii, T., Bannai, S., and Mann G. E.

- Induction of antioxidant stress proteins in vascular endothelial and smooth muscle cells: protective action of vitamin C against atherogenic lipoproteins. *Free Rad. Res.* 31: 309-318 (1999).
10. Ishii, T., Itoh, K., Sato, H., and Bannai, S. Oxidative stress-inducible proteins in macrophages. *Free Rad. Res.* 31: 351-355 (1999).
 11. Tsuji, M. H., Yanagawa, T., Iwasa, S., Tabuchi, K., Onizawa, K., Bannai, S., Toyooka, H., and Yoshida, H. Heme oxygenase-1 expression in oral squamous cell carcinoma as involved in lymph node metastasis. *Cancer Lett.* 138: 53-59 (1999).
 12. Mizusawa, H., Ishii, T., and Bannai, S., Peroxiredoxin I (macrophage 23kDa stress protein) is highly and widely expressed in the rat nervous system. *Neurosci. Lett.* 283: 57-60 (2000).
 13. Ishii, T., Itoh, K., Takahashi, S., Sato, H., Yanagawa, T., Katoh, Y., Bannai, S., and Yamamoto, M. Transcription factor Nrf-2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J. Biol. Chem.* 275: 16023-16029 (2000).
 14. Hong, Y., Suzuki, S., Yatoh, S., Mizutani, M., Nakajima, T., Bannai, S., Sato, H., Soma, M., Okuda, Y., and Yamada, N. Effect of hypoxia on nitric oxide production and its synthase gene expression in rat smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 268: 329-332 (2000).
 15. Ishii, T., Itoh, K., Akasaka, J., Yanagawa, T., Takahashi, S., Yoshida, H., Bannai, S., and Yamamoto, S. Induction of murine intestinal and hepatic peroxiredoxin MSP23 by dietary butylated hydroxyanisole. *Carcinogenesis* 21: 1013-1016 (2000).
 16. Sato, H., Tamba, M., Kuriyama-Matsumura, K., Okuno, S., and Bannai, S. Molecular cloning and expression of human xCT, the light chain of amino acid transport system x_c⁻. *Antioxi. Redox Signal.* 2: 665-671 (2000).
 17. Sato, H., Kuriyama-Matsumura, K., Hashimoto, T., Sasaki, H., Wang, H., Ishii, T., Mann, G. E., and Bannai, S. Effect of oxygen on induction of the cystine transporter by bacterial lipopolysaccharide in mouse peritoneal macrophages. *J. Biol. Chem.* 276: 10407-10412 (2001).

総説・その他

1. Sato, H., Ishii, T., and Bannai, S., Mammalian peroxiredoxin MSP23 as an oxidative-stress inducible protein. in "*Redox Regulation of Cell Signaling and Its Clinical Application*" ed. by Packer, L. and Yodoi, J. pp. 205-213. Marcel Dekker, Inc. (1999).
2. 佐藤英世、坂内四郎 ペルオキシレドキシナー新しい生体抗酸化システムー生化学 71: 333-337 (1999).
3. Bannai, S. Peroxiredoxin. in "*Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species*" ed. by Taniguchi, N. and Gutteridge, M. C. pp. 203-206. Oxford University Press (2000).
4. 坂内四郎 ペルオキシレドキシナー新しい生体抗酸化システム 化学工業 51: 355-359 (2000).

研究成果

概要

動脈硬化などの血管変性には、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、および単球マクロファージ系細胞の酸化変性リポタンパク (oxLDL) を介した相互作用が深く関与すると考えられている。oxLDL はある種の酸化ストレスとして働いていることから、これら細胞における酸化ストレス応答の分子機構を解明することは、血管の生理と病理を理解する上で重要である。

本研究はこの点に焦点をあてた、ロンドン大学キングスカレッジ血管生物学研究センター G.E.マン教授との共同研究一文部省科研費 (国際学術研究) としてスタートし、制度の改革により平成 11 年度から基盤研究 (B) に移行したものである。

研究は単離された血管系細胞に酸化ストレスを負荷し、誘導されるストレスタンパク質の動態と機能を中心に調べた。対象としたストレスタンパク質はヘムオキシゲナーゼ 1、ペルオキシレドキシシン I、シスチントランスポーターである。ヘムオキシゲナーゼ 1 は多様な刺激で誘導がおこることが知られている酵素で、その反応産物の CO は血管機能の制御に関与することが示唆されている。後の二つは我々のところで発見され、最初の記載がされたタンパク質である。このような背景のもとに研究を進め、以下の結果をえた。

- 1) マクロファージは体内において LDL の酸化に関与する細胞の候補の一つと考えられている。LDL の酸化には鉄イオンの還元がリンクする可能性が高いが、平常のマクロファージにはそのような還元能力はなく、細菌内毒素で刺激されると獲得することが示された。
- 2) 血管平滑筋細胞は oxLDL を取り込み酸化ストレス応答を示すが、ビタミン C がこの応答を効率的に抑制することがわかった。
- 3) ヒトの動脈硬変部において、ヘムオキシゲナーゼ 1 が発現していることを示唆するデータを得た。特に、その部位のマクロファージに高発現しているらしい。しかしながら、材料を英国からの供与によったため、例数が十分でなく、成果をまとめ、公表するにはいたらなかった。
- 4) シスチントランスポーターのクローニングに成功した。このトランスポーターは 4F2hc という既知のタンパク質と xCT と名付けた新規のタンパク質からなるヘテロダイマー型であることが明らかになった。このトランスポーターはグルタチオン量の維持に重要で、酸化ストレス耐性に関与する。xCT の遺伝子構造を解明したところ親電子物質により転写誘導を引き起こす領域がみつき、転写因子 Nrf2 による制御が明らかになった。
- 5) ペルオキシレドキシシン I についても酸化ストレスによる誘導の一部はシスチントランスポーターの場合と似たような転写制御機構があることが明らかになった。

また、本研究の初年度 (平成 10 年 11 月) には、国際学術研究の成果として、ブリティッシュ・カウンシル支援の基で、日英科学シンポジウム「酸化ストレスと生体抗酸化系の制御」を筑波大学において開催した。