

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2014.02) 14巻1号:49.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題  
5) 実験内分泌学的手法を活用した小胞体関連分解制御機構の解明

研究代表者 暮地本 宙己

## 5) 実験内分泌学的手法を活用した小胞体関連分解制御機構の解明

研究代表者 暮地本 宙己

### [目的]

小胞体で生合成される蛋白が機能を果たすにはシャペロンの作用を受けて正しい三次構造をとることが必要であり、異常な三次構造となった蛋白は小胞体関連分解 (ERAD) と呼ばれる機構により細胞質で分解・除去される。本研究では、GnRH 受容体への刺激を介して蛋白生合成が制御される LH/FSH 産生細胞を用いて、ERAD 関連分子局在と小胞体の微細構造の変化を細胞の機能状態に応じて検討した。

### [方法]

Wistar 系雄ラットの背部皮下に GnRH agonist の Leuprolide acetate および buserelin や GnRH antagonist である Antide などを単剤で充填した浸透圧ポンプを移植した後、経時的に灌流固定を行い下垂体を摘出して O.C.T compound (光顕用)、Epon 樹脂 (光顕用及び透過電顕観察用)、LRW 樹脂 (電顕免疫組織化学用) に包埋した組織試料を作成した。さらに小胞体の立体的な微細構造を観察するためオスミウム浸軟処理を施した走査電顕観察用試料を作成した。以上の試料を用いて光顕・電顕免疫組織化学および走査電顕観察を用いた形態学的解析を行った。

### [結果]

Leuprolide acetate および buserelin 持続投与 1 日目に LH/FSH 産生細胞において一過性に管状細網構造をとる特殊な小胞体 (ER patch) が出現した。antide 持続投与後には ER patch は出現しなかった。ER patch には小胞体シャペロンである BiP や calnexin が集積するとともに、ERAD 関連分子 HRD1 が集積した。一方で、小胞体からゴルジ装置への輸送小胞形成に関与する分子 Sec16 や小胞体 - ゴルジ装置間の移行コンパートメントに局在する ERGIC-53 は、ER patch に一致する局在を示さなかった。さらに GnRH agonist 持続投与後 ER patch が出現した LH/FSH 産生細胞でオートファジー制御蛋白である P62 の発現が増強するとともに、オートファゴソームの膜を形成する機能分子 LC3 が ER patch に隣接した集積を示した。電子顕微鏡観察により ER patch に隣接して細胞質が分画された膜構造

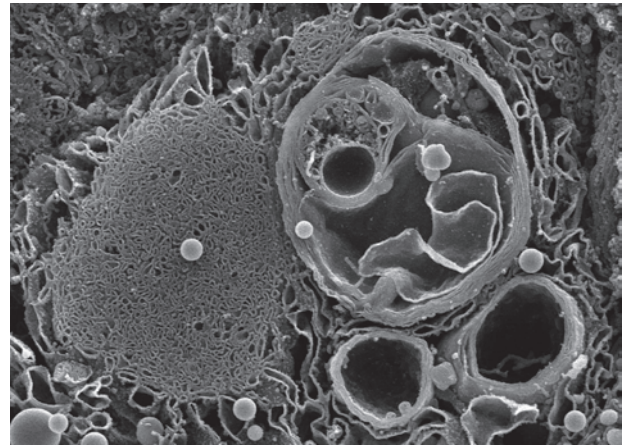


図 リュープロレリン投与 1 日後の LH/FSH 細胞の走査電顕像

膜が集積した管状細網構造をとる特殊な小胞体に隣接して、細胞質が分画された膜系構造物が出現している。

が出現していることが明らかとなった (図)。

### [考察]

GnRH 受容体を介した細胞内シグナル伝達経路の活性化により LH/FSH 細胞で分泌蛋白生合成・分泌が過度に促進された結果、異常な三次構造をとる分泌蛋白の量が増え、その処理を担う ERAD に関する小胞体分画のみが集積して ER patch を形成すると考えられた。同時期に ERAD とは異なる分解系であるオートファジーも活性化され、ERAD と協同して異常蛋白の分解を担っている可能性が考えられた。

### [文献]

- 1) Bochimoto H, Koga D, Sakai Y, Hira Y, Hosaka M, Ushiki T, Watanabe T: Sustained treatment with a GnRH agonist (leuprorelin) affects the ultrastructural characteristics of endomembranous organelles in male rat pituitary gonadotropes. Archives of Histology and Cytology, in press