6. おわりに

筆者らのアルツハイマー病モデルマウスを用いた研究から，長期的なACE阻害剤の投与がAβ42の沈着を増強し，アルツハイマー病の発症を促進する可能性が示唆された．一方，臨床ではACE阻害薬やアンギオテンシン受容体阻害剤は高血圧症や心不全の主要な治療薬として長期にわたって投与される場合が多い．しかしながら，このことが，認知症の進行やアルツハイマー病発症にどの程度影響を与えるか，一部，疫学的調査の報告はあるものの，最終的な結論は出ていない．今後，さらに，疫学，神経病理学および遺伝子工学などの手段を駆使し，アルツハイマー病発症におけるレニン・アンギオテンシン系の関与の解明が望まれる．

謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究成果は，多くの方々との共同研究によるものであり，ここに深謝いたします．これらの研究は科学研究費補助金，武田科学振興財団，加藤記念バイオサイエンス研究振興財団，金原一郎記念医学医療振興財団，鈴木謙三記念医科学応用研究財団等の支援を受けて行われました．

1) Zou, K., Gong, J.S., Yanagisawa, K., & Michikawa, M.（2002）*J. Neurosci*., **22**, 4833–4841.
2) Zou, K., Kim, D., Kakio, A., Byun, K., Gong, J.S., Kim, J., Kim, M., Sawamura, N., Nishimoto, S., Matsuzaki, K., Lee, B., Yanagisawa, K., & Michikawa, M.（2003）*J. Neurochem*., **87**, 609–619.
3) Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N., & Ihara, Y.（1994）*Neuron*, **13**, 45–53.
4) Bentahir, M., Nyabi, O., Verhamme, J., Tolia, A., Horre, K., Wiltfang, J., Esselmann, H., & De Strooper, B.（2006）*J. Neurochem*., **96**, 732–742.
5) Kim, J., Onstead, L., Randle, S., Price, R., Smithson, L., Zwizinski, C., Dickson, D. W., Golde, T., & McGowan, E.（2007）*J. Neurosci*., **27**, 627–633.
6) Zou, K., Yamaguchi, H., Akatsu, H., Sakamoto, T., Ko, M., Mizoguchi, K., Gong, J. S., Yu, W., Yamamoto, T., Kosaka, K., Yanagisawa, K., & Michikawa, M.（2007）*J. Neurosci*., **27**, 8628–8635.
7) Zou, K. & Michikawa, M.（2008）*Rev. Neurosci*., **19**, 203–212.
8) Hemming, M.L. & Selkoe, D.J.（2005）*J. Biol. Chem*., **280**, 37644–37650.
9) Zou, K., Maeda, T., Watanabe, A., Liu, J., Liu, S., Oba, R., Satoh, Y., Komano, H., & Michikawa, M.（2009）*J. Biol. Chem*., **284**, 31914–31920.
10) von Bohlen und Halbach, O., & Albrecht, D.（2006）*Cell Tissue Res*., **326**, 599–616.
11) Kehoe, P.G., Russ, C., McIlory, S., Williams, H., Holmans, P., Holmes, C., Liolitsa, D., Vahidassr, D., Powell, J., McGleenon, B., Liddell, M., Plomin, R., Dynan, K., Williams, N., Neal, J., Cairns, N.J., Wilcock, G., Passmore, P., Lovestone, S., Williams, J., & Owen, M.J.（1999）*Nat. Genet*., **21**, 71–72.
12) Elkins, J.S., Douglas, V.C., & Johnston, S.C.（2004）*Neurology*, **62**, 363–368.
13) Lehmann, D.J., Cortina-Borja, M., Warden, D.R., Smith, A.D., Sleegers, K., Prince, J.A., van Duijn, C.M., & Kehoe, P.G.（2005）*Am. J. Epidemiol*., **162**, 305–317.
14) Ohrui, T., Tomita, N., Sato-Nakagawa, T., Matsui, T., Maruyama, M., Niwa, K., Arai, H., & Sasaki, H.（2004）*Neurology*, **63**, 1324–1325.
15) Sink, K.M., Leng, X., Williamson, J., Kritchevsky, S.B., Yaffe, K., Kuller, L., Yasar, S., Atkinson, H., Robbins, M., Psaty, B., & Goff, D.C., Jr.（2009）*Arch. Intern. Med*., **169**, 1195–1202.

鄒 鶚[1]，道川 誠[2]，駒野 宏人[1]
（[1]岩手医科大学薬学部神経科学講座，
[2]独立行政法人 国立長寿医療研究センター
アルツハイマー病研究部）

A novel Aβ-converting activity of angiotensin-converting enzyme and its role in Alzheimer's disease

Kun Zou[1], Makoto Michikawa[2], and Hiroto Komano[1]（[1]Department of Neuroscience, School of Pharmacy, Iwate Medical University, 2–1–1 Nishitokuta, Yahaba, Iwate 028–3694, Japan; [2]Department of Alzheimer's Disease Research, National Institute for Longevity Sciences, National Center for Geriatrics and Gerontology, 36–3 Gengo, Morioka, Obu, Aichi 474–8522, Japan）

mRNA安定性制御による免疫応答調節機構

1. はじめに

自然免疫担当細胞は病原体の侵入をパターン認識受容体により検知し，感染排除応答を惹起すると共に，獲得免疫系を活性化し免疫記憶を誘導する[1)]．自然免疫におけるパターン認識受容体の一つとしてToll-like receptor（TLR）ファミリーが知られている．TLRはマクロファージや樹状細胞など自然免疫担当細胞に多く発現するⅠ型の膜タンパク質で細菌，ウイルス，真菌，寄生虫など様々な病原体由来の構造物を認識し細胞内にシグナルを伝える．シグナルカスケードを経て転写因子であるNF-κBや，MAPキナーゼの下流で別の転写因子複合体AP1が核に移行し炎

症性サイトカイン遺伝子などの転写を誘導する．自然免疫担当細胞においてTLR依存性に発現誘導される炎症性サイトカインとして，腫瘍壊死因子（TNF），インターロイキン6（IL-6），IL-1βなどがあげられる．これらの炎症性サイトカインはそれぞれの受容体を介して細胞を活性化し，炎症応答に重要な役割を果たしている．

これまで，サイトカイン産生はその転写により調節されると考えられてきた．実際に，炎症性サイトカイン遺伝子の転写は，転写因子ネットワークやエピジェネティックな制御など様々なメカニズムによりコントロールされている．しかしながら，不必要な炎症性サイトカイン産生は自己免疫疾患や敗血症性ショックの原因ともなり，その産生は必要の無いときには迅速にシャットダウンされる必要がある．実際に，サイトカインなどのmRNAは細胞内において不安定で迅速に分解される，その制御にはmRNAの3′非翻訳領域が重要であることが知られている[2]．

近年，RNA結合領域として知られるCCCH型Znフィンガーや CCHC型Znフィンガー領域を持つタンパク質が，サイトカイン産生制御や免疫応答の調節に重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた[3]．これらのタンパク質としてtristetraproline（TTP），Zc3h12a，ZCCHC11などがあげられる．本稿では，CCCH型Znフィンガータンパク質による炎症性サイトカイン制御の例を示し，そのメカニズムに関し議論したい．

2. Tristetraproline（TTP）によるTNF mRNA制御

TTPは二つのCCCH型Znフィンガー領域を持つタンパク質で，TNFなどをコードする様々なmRNAの分解に関わることが知られている[4]．TNFなど炎症に関わる分子のmRNAの3′非翻訳領域にはAUUUA配列を特徴とするAU rich element（ARE）が存在し，TTPはAREと結合する．TTP欠損マウスはTNF過剰産生の結果，関節炎や皮膚炎を自然発症する[5]．TTPは*TNF* mRNAの3′-UTRに結合した後，脱アデニル化複合体をリクルートしポリAがmRNAより取り外される（**図1**）．脱アデニル化されたmRNAはP-bodyと呼ばれる細胞内小器官によりXRN1やエキソソームなどのRNA分解酵素複合体により分解される[2]．近年，TTPの標的mRNAとして*TNF*以外に*GM-CSF*，*COX2*，*CCL2*，*IFNγ*，*IL-10*などが報告されている．これらのmRNAの3′非翻訳領域は必ずしもAREを持っておらず，どのようにTTPがmRNA分解を調節しているかのメカニズムは今後の課題である．

3. ZCCHC11によるIL-6発現制御

CCHC型ZnフィンガータンパクであるZCCHC11はRNAのウリジル化を行うターミナルウリジルトランスフェラーゼ活性を持つ[6]．ZCCHC11は胸腺や脾臓など免疫関連臓器に恒常的に発現している．ZCCHC11を細胞でノックダウンするとTNF刺激に対するIL-6やCCL5など炎症関連タンパク質の産生が低下する．IL-6の産生低下は*IL-6* mRNAの分解亢進がその原因となる．ZCCHC11はmicro RNAのうち，miR-26ファミリーの3′端をウリジル化する（図1）．miR-26は通常*IL-6* mRNAの分解を促すが，ウリジル化されたmiR-26の活性は抑制されており，ZCCHC11により*IL-6* mRNA発現が増加すると考えられている．

4. Zc3h12aの自己免疫性炎症性疾患抑制における役割

Zc3h12aは一つのCCCH型Znフィンガー領域を持つタンパク質でその遺伝子発現はTLR刺激により誘導される[7]．Zc3h12a欠損マウスは成長遅延を示し，生後12週までにほぼ全例死亡することが明らかとなった[7]．Zc3h12a欠損マウスは著明な脾腫，リンパ節腫脹を示すと共に，血清中の様々なクラスの免疫グロブリンの増加，また，抗核抗体や抗二本鎖DNA抗体など自己抗体産生を認めた．Zc3h12a欠損マウスは，肺などの組織へのリンパ球，特にプラズマ細胞の浸潤が著明であり，肺においてIgGやIgA産生細胞の著明な増加を認めた．従って，Zc3h12aを欠損することにより自己免疫性炎症性疾患を発症することが明らかとなった．

Zc3h12a欠損マウス由来マクロファージは，TLRを活性化する病原体成分の刺激に対して過剰にIL-6やIL-12p40を産生した．これに対し，TNFの産生は著変を認めなかった．IL-6やIL-12p40をコードする遺伝子の発現もZc3h12a欠損細胞において亢進しており，Zc3h12aはIL-6などの産生を遺伝子発現レベルでコントロールしていると考えられた（**図2A**）．Zc3h12aにより制御されている遺伝子としてIL-6やIL-12p40以外にカルシトニン受容体などが挙げられた．

5. Zc3h12aは*IL-6* mRNAを不安定化する

TLR刺激に対するNF-κBやAP-1など転写因子の活性化はZc3h12a欠損マクロファージにおいても正常であり，Zc3h12aは転写後調節に関わると考えられた．そこで，Zc3h12aが*IL-6* mRNA分解に関わる可能性を*IL-6* mRNA

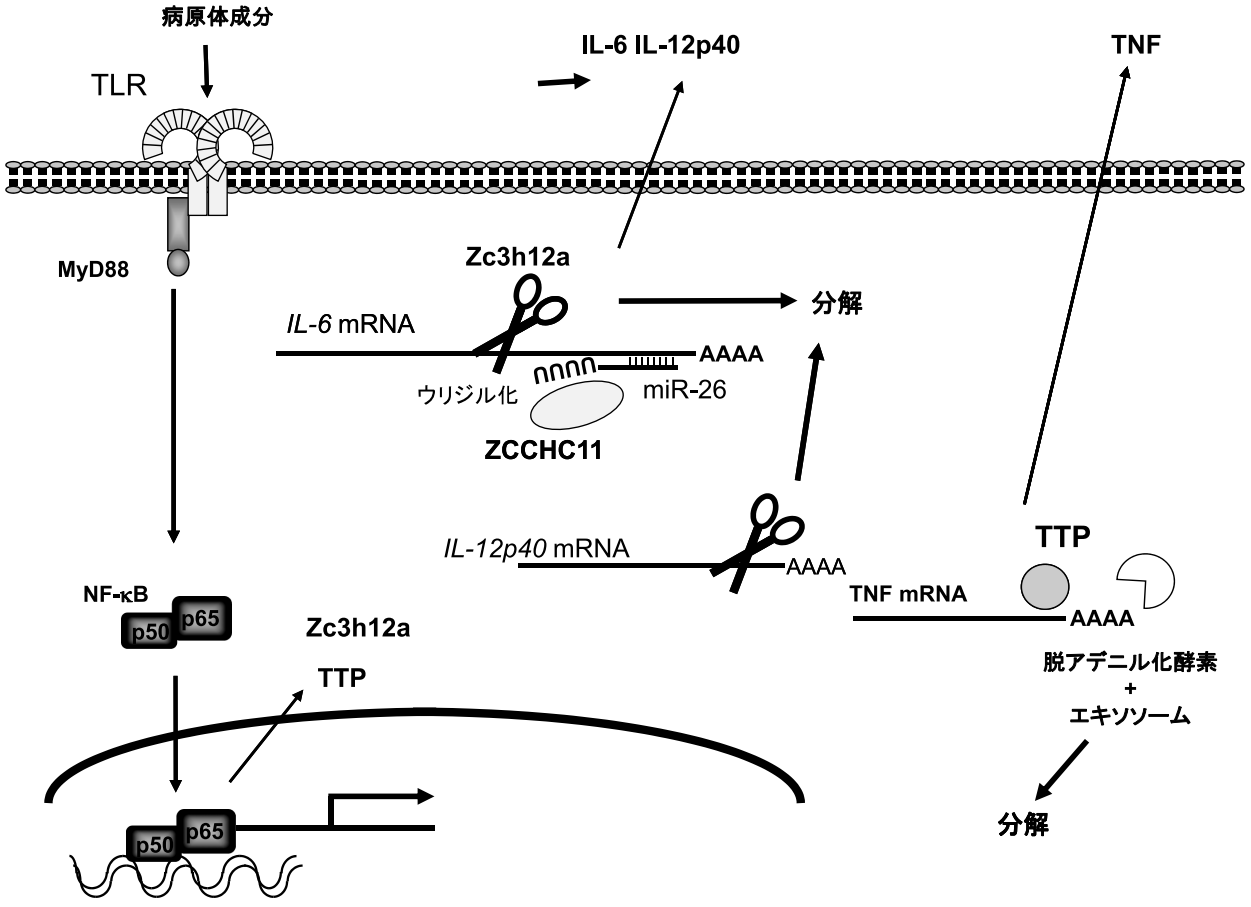

図1 mRNA 安定性制御によるサイトカイン産生制御
TLR 刺激により発現誘導される TTP は *TNF* mRNA の 3′非翻訳領域に結合することにより脱アデニル化酵素をリクルートしエキソソームなどによる分解を誘導する．ZCCHC11 は *IL-6* を標的とする miR-26 をウリジル化し，その活性を失わせることにより *IL-6* 発現を正に制御する．Zc3h12a は TLR により発現誘導されるが，Zc3h12a は RNase 活性を持ち，*IL-6* や *IL-12p40* などの mRNA を分解しその量をコントロールする．

の分解のキネティクスにより検討すると，TLR 刺激後発現してくる *IL-6* mRNA の分解が Zc3h12a 欠損マウス由来マクロファージにおいて障害されていることが明らかとなった．これに対し，*TNF* やケモカインである *KC* mRNA の分解は Zc3h12a 欠損による変化を受けなかった．一方，Zc3h12a を HEK293 細胞に強制発現すると，*IL-6* の 3′非翻訳領域（UTR）を含む mRNA がコントロール細胞と比較してより速いキネティクスで分解された（図 2B）．従って，Zc3h12a は *IL-6* mRNA の分解を 3′-UTR を介して促進していることが明らかとなった．*IL-6* mRNA の 3′非翻訳領域には，ARE よりも 5′寄りに種間で保存された領域（conserved element）が存在し，ARE と共に *IL-6* mRNA 分解に重要であることが明らかにされていた[8]．レポーター系を用いた検討の結果，Zc3h12a は ARE ではなく，conserved element の調節に重要であると考えられた．

6. Zc3h12a は RNase として機能しサイトカイン mRNA を調節する

Zc3h12a タンパク質は CCCH 型 Zn フィンガー領域を持ち実際に RNA と結合する活性を持つ．しかしながら，Zn フィンガー領域を欠失する変異 Zc3h12a を発現させても，若干の活性低下は認めるが mRNA 分解能を持つ．従って，Zn フィンガー領域以外に Zc3h12a の機能に重要なドメインの存在が示唆された．Zn フィンガー領域より N 端に，PIN ドメイン様の新規ドメインが同定され，このドメインの構造モデリングから負電荷のアミノ酸により Mg^{2+} を結合するポケットを形成するヌクレアーゼではないかと推測された（図 2C）．Zc3h12a タンパク質を作製すると，実際

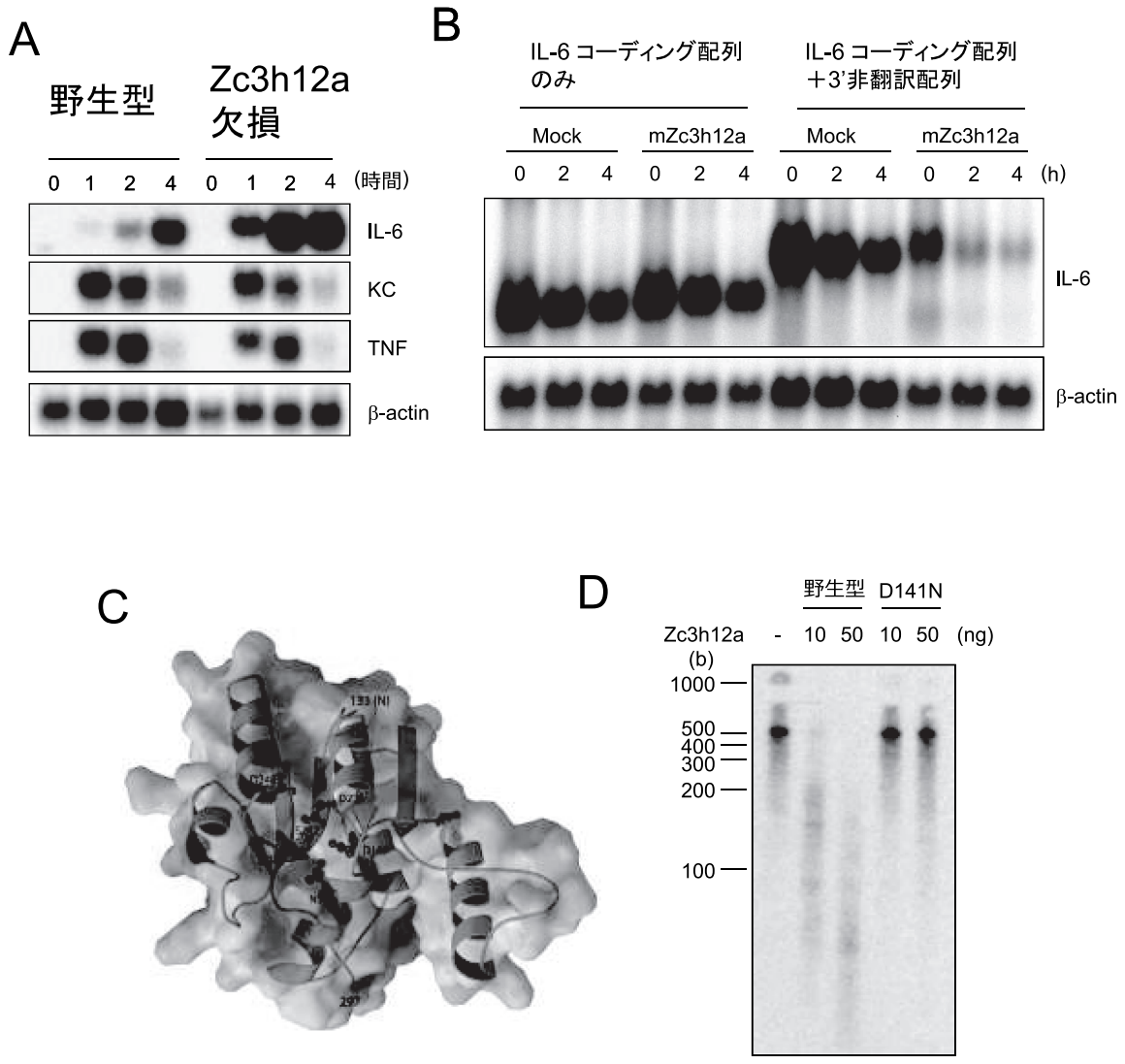

図2　Zc3h12aによる*IL-6*mRNA制御メカニズム
（A）野生型，Zc3h12a欠損マクロファージをLPSで刺激，*IL-6*，ケモカイン*KC*，*TNF*遺伝子発現をノーザンブロット法により解析した．（B）*IL-6*コーディング配列のみ，もしくは*IL-6*コーディング配列に加え3′非翻訳領域をテトラサイクリン存在下で発現停止するHEK293細胞システムを用いて，*IL-6*mRNA分解のキネティクスに対するZc3h12a強制発現の影響をノーザンブロット法により解析した．（C）Zc3h12aのRNase領域の構造モデル．（D）リコンビナントZc3h12aタンパク質及びそのRNase変異体をIL-6 3′-UTR RNAと反応後，電気泳動により解析した．

にMg^{2+}依存性にIL-6 3′-UTR RNAを切断するエンドヌクレアーゼ活性を持つことが明らかとなった．また，このRNase領域にある141番目のアスパラギン酸をアスパラギンに変異させたタンパク質はRNase活性を消失しており，また，*IL-6*mRNAを不安定化させることが出来なかった（図2D）．したがって，Zc3h12aの機能にRNase領域が必須であることが明らかとなった．しかしながら，この酵素活性のRNAシークエンス特異性に関しては今後のさらなる解析が必要である．

7. お　わ　り　に

最近の研究により免疫応答制御には転写調節のみではなく，mRNA安定性制御が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた．TNFにより早期に発現誘導され

る遺伝子の3′非翻訳領域はAREを持つ頻度が高いことが報告されており，炎症応答制御において特に早期に誘導され厳密にコントロールされる遺伝子に関してmRNA分解が重要ではないかと考えられる[9]．我々は，TLR刺激により誘導されるZc3h12aがRNaseとして働き，IL-6などの遺伝子群のmRNA安定性を制御することにより炎症をコントロールし，炎症性疾患発症を抑制していることを明らかにした（図1）．最近，Zc3h12aはIL-1βのmRNA安定性を制御していることも報告されている[10,11]．しかしながら，Zc3h12aによる炎症抑制メカニズムに関してはまだ不明な点が多い．例えば，現在明らかになっているZc3h12aターゲット遺伝子の3′-UTR配列間に相同性はない．Zc3h12aが他の分子と複合体を形成することにより特異性を規定している可能性があると考えられ，その複合体同定が興味深い．また，micro RNAも炎症応答のfine-tuningに関わっており，ZCCHC11以外にも，例えばTTPはAREに結合するmiR-16と協調作用しTNFのmRNAを不安定化させていることが報告されている[12]．今後，他のRNA分解機構とmicro RNAとの関連が明らかになることが期待される．また，mRNA安定化制御と免疫応答制御の関連の研究は緒に就いたばかりであり，今後そのメカニズムの詳細が明らかになることが期待される．

謝辞

本稿で紹介したZc3h12aに関する筆者らの研究は，大阪大学免疫学フロンティア研究センター審良静男研究室で行われ，多くの実験は大学院生であった松下一史君によって行われました．本研究に関し，構造モデリングにおいて御協力いただいた，大阪大学蛋白質研究所中村春木教授，大阪大学免疫学フロンティア研究センターDaron Standley准教授，および他の共同研究者の方々に感謝いたします．

1）Takeuchi, O. & Akira, S.（2010）*Cell*, **140**, 805–820.
2）Anderson, P.（2010）*Nat. Rev. Immunol.*, **10**, 24–35.
3）Liang, J., Song, W., Tromp, G., Kolattukudy, P.E., & Fu, M.（2008）*PLoS One*, **3**, e2880.
4）Carballo, E., Lai, W.S., & Blackshear, P.J.（1998）*Science*, **281**, 1001–1005.
5）Taylor, G.A., Carballo, E., Lee, D.M., Lai, W.S., Thompson, M.J., Patel, D.D., Schenkman, D.I., Gilkeson, G.S., Broxmeyer, H.E., Haynes, B.F., & Blackshear, P.J.（1996）*Immunity*, **4**, 445–454.
6）Jones, M.R., Quinton, L.J., Blahna, M.T., Neilson, J.R., Fu, S., Ivanov, A.R., Wolf, D.A., & Mizgerd, J.P.（2009）*Nat. Cell Biol.*, **11**, 1157–1163.
7）Matsushita, K., Takeuchi, O., Standley, D.M., Kumagai, Y., Kawagoe, T., Miyake, T., Satoh, T., Kato, H., Tsujimura, T., Nakamura, H., & Akira, S.（2009）*Nature*, **458**, 1185–1190.
8）Paschoud, S., Dogar, A.M., Kuntz, C., Grisoni-Neupert, B., Richman, L., & Kuhn, L.C.（2006）*Mol. Cell Biol.*, **26**, 8228–8241.
9）Hao, S. & Baltimore, D.（2009）*Nat. Immunol.*, **10**, 281–288.
10）Mizgalska, D., Wegrzyn, P., Murzyn, K., Kasza, A., Koj, A., Jura, J., & Jarzab, B.（2009）FEBS J., 276, 7386–7399.
11）Skalniak, L., Mizgalska, D., Zarebski, A., Wyrzykowska, P., Koj, A., & Jura, J.（2009）*FEBS J.*, **276**, 5892–5905.
12）Jing, Q., Huang, S., Guth, S., Zarubin, T., Motoyama, A., Chen, J., Di Padova, F., Lin, S.C., Gram, H., & Han, J.（2005）*Cell*, **120**, 623–634.

竹内 理
（大阪大学免疫学フロンティア研究センター自然免疫学）

Regulation of immune responses by mRNA stability control
Osamu Takeuchi（Laboratory of Host Defense, WPI Immunology Frontier Research Center（IFReC）, Osaka University, 3–1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565–0871, Japan）

多様な高度不飽和脂肪酸生合成経路と生産への応用

1. はじめに

高度不飽和脂肪酸とは炭素鎖長が18以上で不飽和結合数が二つ以上の長鎖脂肪酸のことであり，生体内では細胞膜に取り込まれて膜の流動性に関与するだけでなく，血圧調節・抗炎症作用などの機能を持つプロスタグランジンをはじめとする生理活性物質へと変換される．一部の高度不飽和脂肪酸は脂質メディエーターへと変換されその機能が注目されているだけでなく[1]，健康食品や医薬品への応用へと展開している．例えば，特定の高度不飽和脂肪酸は乳児の発育に必要であることが分かり，アラキドン酸（20：4）やドコサヘキサエン酸（22：6）が配合された粉ミルクが販売されている．高度不飽和脂肪酸の生合成に関わる酵素として不飽和化酵素と鎖長延長酵素が挙げられるが，これらの酵素のほとんどは膜酵素であるため構造や反応メカニズムに関する研究はあまり進んでいるとは言えない．しかしながら，この約20年の間に様々な生物種から高度不飽和脂肪酸の生合成に関与する遺伝子が単離され，多様な生合成経路が明らかになった[2]．筆者らは，アラキドン酸生産性糸状菌*Mortierella alpina* 1S-4株の高度不飽和脂肪酸生合成に関わる酵素遺伝子を網羅的に解析し，育種技術を