

# 築城英子 論文内容の要旨

主 論 文

All-trans-Retinol Generated by Rhodopsin Photobleaching Induces Rapid Recruitment of TIP47 to Lipid Droplets in the Retinal Pigment Epithelium

(網膜色素上皮細胞における脂質滴および脂質滴関連蛋白の動態)

○築城英子、藤田秋一、大崎雄樹、程晶磊、入江俊明、吉川究、妹尾春樹、三島一晃、北岡隆、藤本豊士

(Investigative Ophthalmology & Visual Science 48 巻 6 号 2858—2867 2007 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻眼科・視覚科学  
(主任指導教員：北岡隆教授)

## 緒 言

脂質滴 (lipid droplets : 以下 LD) は、脂質エステルが貯留する構造であり、ほぼ全ての細胞にみられる。網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium : 以下 RPE) ではレチニルエステルが貯留するレチノゾームといわれる構造の報告がある。RPE におけるビタミンA代謝は重要であり、光刺激によりロドプシンからレチノールが生成される。レチノゾームは、脂質滴関連蛋白 (以下 LD 蛋白) である ADRP が局在する点で共通しているが、レチノゾームと LD との異同は明らかでない。ADRP と同じ LD 蛋白である TIP47 はマンノース 6 燐酸受容体の細胞質ドメインに結合し、エンドゾームからゴルジへの輸送を促進する蛋白であり、LD 蛋白としても知られているが、その機能は未知である。そこで、われわれは RPE における LD と LD 蛋白の局在と光刺激による影響を調べることにした。

## 対象と方法

暗順応させたマウス眼に光刺激を与え、培養網膜色素上皮細胞である ARPE-19 細胞にレチノールを負荷した。LD は、BODIPY 493/503 でラベルし、3つの LD 蛋白である ADRP ( adipocyte differentiation-related protein), TIP47, Rab18 は、各抗体でラベルした。蛍光顕微鏡でのラベルの強度は、イメージ解析で定量した。種々の変異を導入

した TIP47 分子を発現させ、LD への局在シグナルについても検討した。蛋白の発現量は、ウエスタンブロッティングで確認した。マウス RPE を用い、ADRP について免疫電顕を行った。RNAi にて ADRP および TIP47 をノックダウンし、レチニルエステルの貯蔵への影響を HPLC で計測した。

## 結 果

マウス RPE および ARPE-19 細胞には、LD に共局在する ADRP と TIP47 がみとめられたが、Rab18 はみとめられなかった。明順応下のマウス RPE、およびレチノール負荷時の ARPE-19 細胞において、TIP47 が細胞質から LD へと急速に集積した。一方、ADRP は常に LD に局在していた。LD の蛍光強度は、あらゆる処理においても変化がなかった。マウス RPE での免疫電顕においては、ADRP は典型的な LD と思われるところに局在していた。アミノ基末端 (N 末) あるいはカルボキシル基末端 (C 末) 側を欠失させた TIP47 は LD に局在せず、逆に C 末側の疎水性領域を置換した TIP47 は常時 LD に局在した。RNAi や cDNA トランスフェクションによる TIP47 発現操作により、ARPE-19 細胞におけるレチニルエステル量は変化がなかった。

## 考 按

RPE におけるビタミン A 代謝では、光刺激によりロドプシンが分解され、オールトランスレチノールが生成され、エステル化されて RPE に貯蔵される。今回の結果で、TIP47 は、レチノール負荷や光刺激により、細胞質から LD へと急速に集積した。このことは、RPE におけるビタミン A 代謝に TIP47 が関与している可能性が考えられる。しかし、RNAi による TIP47 抑制により、レチニルエステル貯蔵量は変化がなかった。そのため、レチノイドサイクルに TIP47 が関係ないかもしれないとも考えられるが、RNAi により抑制できたのは約 3 分の 1 であり、残余している TIP47 で十分であったのではないかとわれわれは考える。実際 TIP47 は、細胞質内可溶蛋白として多く存在しており、それらが代償的に機能した可能性は十分に考えられる。今回の結果で、LD へ局在する TIP47 の増加がレチノール負荷により観察されたが、ウエスタンブロッティングでの TIP47 の発現量に変化がなかったのも、細胞質内に多数存在する TIP47 ためと思われる。

レチノゾームとの異同について、今回の結果では、ADRP の殆どは、球形の辺縁がスムーズな形をした典型的な LD と思われるところに局在しており、形態的にレチノゾームと LD は違うもののように思われた。このことで、レチノゾームを否定しているわけではなく、ADRP が主に局在する LD とは異質の LD が RPE に共存している可能性もあるのではないかと考えられる。

LD 蛋白の異常による眼疾患の報告もあるが、今のところ TIP47 が関連する疾患の報告はない。われわれの研究が TIP47 関連の異常を解明する手がかりになることを期待する。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。