

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-210	22-267	元高崎健康福祉大学 八田慎一
<b>題名(原題/訳)</b>		
Ethanol-induced ceramide production causes neuronal apoptosis by increasing MCL-1S-mediated ER-mitochondria contacts. エタノールによるセラミド産生は MCL-1S 仲介性 ER-ミトコンドリア接触の増加による神経細胞死を生じる		
<b>執筆者</b>		
Lim JR, Chae CW, Park JY, Jung YH, Yoon JH, Kim MJ, Lee HJ, Choi GE, Han HJ.		
<b>掲載誌</b>		
Neurobiol Dis. 2023; 177:106009. doi: 10.1016/j.nbd.2023.106009.		
<b>キーワード</b>		<b>PMID:</b>
アルコール、セラミド、MCL-1S、INF2、神経細胞アポトーシス、認知機能		36689912
<b>要旨</b>		
<p><b>目的:</b> 多量アルコール消費は神経細胞死と認知機能障害を生じる。エタノール (EtOH) による神経細胞死はセラミド (Cer) の産生増加で引き起こされることが示唆されている。細胞膜や細胞内小器官膜のスフィンゴ脂質代謝物である Cer は、細胞増殖や分化、アポトーシスなどの細胞過程に関与している。しかし、EtOH による Cer 産生で生じる神経細胞死の機序は分かっていない。本研究では、ヒト iPSC 神経細胞と SH-SY5Y 細胞を使用して EtOH による Cer 産生が神経細胞アポトーシスを生じる機序を検討し、さらに、C57BL/6 マウスの記憶障害に対する Cer の効果を明らかにした。</p> <p><b>方法:</b> C57BL/6 マウス、ヒト神経芽細胞腫株 SH-SY5Y、ヒト iPSC を使用した。マウスへは EtOH (3.5 g/kg/日) を 6 週間経口投与した。SPT (serine palmitoyltransferase) [スフィンゴシン生合成酵素] 阻害剤マイリオンは EtOH 投与 30 分後に腹腔内投与した。マウスの行動試験後、脳を調製して解析を行った。マウスの行動試験は Y 迷路試験 [空間記憶]、新奇物体認識試験 [認知記憶] で行った。遺伝子抑制は RNA 干渉法 (siRNA) で、ROS 産生は MitoSOX™ Red を使用して、カルシウム (Ca) は Rhod-2 と Mag-Fluo-4 AM を使用して、ミトコンドリア (Mit) 膜電位は TMRE と Calcein AM を使用して測定した。アポトーシスはアネキシン V/PI 染色で評価した。Cer は ELISA 法で測定した。脳組織は免疫組織化学法で解析し、mRNA は RT-qPCR 法で測定した。</p> <p><b>結果:</b> SH-SY5Y と iPSC で EtOH 処置は Cer 産生を増加し、この増加は SPT で仲介される生合成経路の阻害で減少した。EtOH による Cer 産生に関連した分子変化の解析から、増加した Cer は PP1 (protein phosphatase 1) を活性化し、SRSF1 (serine/arginine-rich splicing factor 1) の核移行を阻害することが示唆された。このことは、MCL-1 (myeloid cell leukemia 1) の mRNA 前駆体の異常なスプライシングを導き、MCL-1S 発現を増大させた。MCL-1S と IP3R との相互作用は小胞体 (ER) からの Ca 遊離を増加し、ER 結合 INF2 (inverted formin 2) を活性化した。さらに、INF2 の活性化を介した F-アクチンの重合は ER-Mit 接触を促進し、Mit の Ca 流入と Mit ROS (mtROS) 産生を誘導した。MCL-1S 遺伝子抑制は、Mit と相互作用する INF2 依存性アクチン重合の阻害を介して、Mit 関連 ER 膜 (MAM) 形成を減少させ、Mit Ca 流入と mtROS 蓄積を阻止した。また、EtOH 負荷マウスの Cer 産生の阻害は、MCL-1S 発現や神経細胞死、認知機能障害を低下させた。</p> <p><b>結論:</b> 本研究の結果は、EtOH による Cer 産生の誘導は、SRSF1 核移行の PPI による阻害と、IP3R-MCL-1S 相互作用に依存した ER Ca 遊離を介した INF2 の活性化によって MCL-1S 発現を増加して、MAM 形成を促進し、結果として、Mit Ca 過負荷や mtROS 蓄積、神経細胞死を生じることを示している。これらの知見は、EtOH による神経細胞死や認知機能障害の阻止や治療での新たな標的を提示するものである。</p>		