

培養線維芽細胞の遺伝子発現リズム

食資源科学講座 副生物科学分野
松村 尚紀

【背景と目的】生物の行動や生理現象には 24 時間周期のリズムを持って発現しているものがある。このリズムは哺乳類では体内時計の中核である視交叉上核 (SCN) によって制御されており、全身の時計 (末梢時計) は SCN に同調している。しかし培養細胞の時計は SCN の制御を受けず、個々の細胞の時計遺伝子は脱同調しているが、デキサメタゾン等の処理により同調化させることができる。本研究ではまず、培養線維芽細胞の時計遺伝子発現リズムを同調化させ、その時、主要な機能である細胞外マトリックス関連遺伝子の発現はどのような挙動を示すかを検討した。また、培地へのコラーゲン分解物の添加が時計遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

【方法】新生子ラット真皮より調製した線維芽細胞にデキサメタゾン (Dex) もしくは高濃度血清 (50%FBS) による処理 (一過性添加) 後、経時的に細胞を回収し、RNA 抽出、RT-PCR により時計遺伝子発現リズムを解析すると共にコラーゲン遺伝子 (COL1A1、COL3A1) 及び MMP 遺伝子 (MMP2、MMP9) の発現量の変動を測定した。また時計遺伝子発現リズムに合わせて、コラーゲンを分解して得たアミノ酸あるいはペプチドを添加し、時計遺伝子発現リズムへの影響を検討した。

【結果】Dex 処理、血清処理のどちらによっても時計遺伝子 Per2 と Bmal1 の逆位相の発現リズムを誘導できたことから、細胞同士の時計遺伝子発現リズムの同調を行うことができた。しかし Dex 処理と血清処理では時計遺伝子の発現リズムは異なっていた。I、III 型コラーゲン遺伝子と MMP9 遺伝子の発現はリズム同調化後に、変化が見られたものの、規則的なリズムは認められなかった。MMP2 遺伝子の発現はリズム同調化後も変化はなかった。Dex 処理後にコラーゲン分解物を添加すると、アミノ酸添加では処理から 30~40 時間ほどまで Per2、Bmal1 が逆位相の発現パターンを示し、その後は同じタイミングで増減を繰り返していた。一方、ペプチド添加では Dex 処理後 4 時間後に添加した場合では Per2、Bmal1 はどちらも不規則な増減を繰り返していたが、Dex 処理後 8 時間後に添加した場合は逆位相のリズムを保ち続けていた。

【考察】Dex 処理と血清処理ではどちらも培養線維芽細胞の時計遺伝子発現リズムの同調化することができた。だが、コラーゲンと MMP 遺伝子の発現に明確なリズムや時計遺伝子発現との関連性は認められなかった。コラーゲン分解物であるペプチド添加はタイミングによってはリズム維持に効果がある可能性が示された。