

【目的】本研究の動機は、亜鉛トランスポーターから放出される亜鉛イオンが、細胞内シグナル因子として機能すること（亜鉛シグナリング）、この亜鉛シグナリングが骨格筋と皮膚の維持に重要であることの発見にある。具体的には、転移がんの増殖に伴って亜鉛トランスポーターZIP14 が骨格筋で発現し、ZIP14 の亜鉛シグナルが筋萎縮（がん悪液質）をもたらすことを見出した。さらに、亜鉛トランスポーターZIP10 を介する亜鉛シグナルが表皮形成に必須であり、アトピー性皮膚炎患者の皮膚では、ZIP10 が減少していることを発見した。これらは、亜鉛シグナリングが骨格筋と皮膚の維持に関与することを示しているが、亜鉛シグナリングの機序と創薬については十分に研究されていない。一方、高齢化が進む日本では、運動機能障害や皮膚脆弱化による QOL の低下が問題視されている。骨格筋および皮膚の疾患の予防と治療に係る方法の開発は、今後迎える超高齢化に備えるべき急務な課題であると考えた。これらの研究背景から、骨格筋と皮膚の理解と治療戦略に亜鉛シグナリングから究明することを目的として本研究を開始した。

【方法】1. 筋萎縮における ZIP14 の役割解明：筋萎縮における ZIP14 の役割を解明するために、ZIP14 発現細胞の特徴を解析する目的で、*Zip14* プロモーター下流に *EGFP-IRES-creERT2* 遺伝子カセットを挿入 (knock-in : KI) した *Zip14-GFP-KI* マウスを作製した。さらに、AlZin-2 試薬を用いた Zn^{2+} conditional proteomics 法を適用して、ZIP14 の亜鉛シグナリングの標的分子を同定する実験系を構築した。2. 表皮形成における ZIP10 役割解明：表皮形成における ZIP10 役割を解明するために、ZIP10 発現細胞の特徴を解析する目的で、*Zip10* プロモーター下流に *EGFP-IRES-creERT2* 遺伝子カセットを KI した *Zip10-GFP-KI* マウスを作製した。3. 創薬関連研究：ZIP14 の機能や発現に影響を与える化合物のスクリーニング系の構築を試行した。

【結果】1. *Zip14-GFP-KI* マウスを完成した。さらに、 Zn^{2+} conditional proteomics 法を薬剤 (Tet) 誘導性 ZIP14 発現細胞に適用して、ZIP14 の発現に依存した細胞内の蛍光発色を確認した (下図)。2. *Zip10-GFP-KI* マウスを完成した。ZIP10 発現細胞の子孫細胞を可視化するために、*Zip10-GFP-KI* マウスと *tdTomato-KI* マウスを交配して *Zip10-GFP/Tomato-KI* マウスを作製した。さらに、本マウスの皮膚における ZIP10 発現細胞の子孫細胞の存在を免疫染色法で確認した。3. 薬剤誘導性 ZIP14 発現 HEK293 細胞を適用して、ZIP14 の発現に依存した亜鉛の導入による細胞増殖抑制作用を確認した。さらに、ZIP14 依存的な細胞増殖抑制作用に焦点を当てた化合物スクリーニング系を確立した。

Zn^{2+} conditional proteomics 法を用いた ZIP14 亜鉛シグナルの標的分子の可視化

