

ガン細胞にみられる解糖系の亢進(Warburg 効果)の 発生機構の解明

[1] 組織

代表者：増本 博司

(長崎大学・医学部共同利用研究センター)

対応者：安井 明

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 21 万 2 千円，旅費 8 万 8 千円

[2] 研究経過

多くのガン細胞でみられる解糖系の異常な活性化(通称 Warburg 効果)は、臓器内部のような低酸素条件下でガン細胞が増殖するために必要な代謝産物(ヌクレオチド、アミノ酸等)を供給する役割を持つことが知られている。Warburg 効果のような制御系の機能不全による解糖系の恒常的な活性化機構を明らかにすることは、グルコース代謝経路の抑制を介した抗癌治療法の確立にもつながる可能性を秘めている。

本研究では出芽酵母を研究モデルとし解糖系の活性化に関与するサーテュイン(NAD⁺依存性デアセチラーゼ)に着目した。本研究期間内でサーテュイン Hst3, Hst4 および Sir2 の脱アセチル化の標的となる代謝酵素を質量分析法を利用して同定し、代謝酵素へのアセチル化修飾による解糖系の制御機構の解明を試みている(図1)。

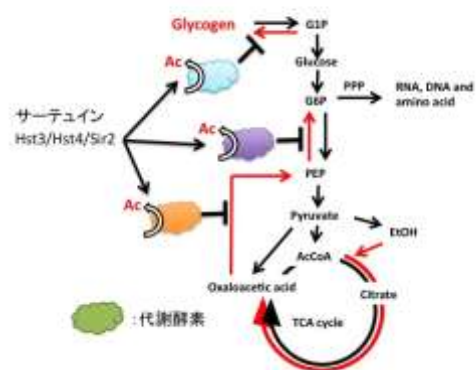
質量分析機器を使ったタンパク同定技術向上のため、2014年11月に東北大学内の対応者である安井明教授の元を訪問し、タンパク同定技術の提供を受けたほか、共同研究の進行状況の説明を行い様々な提案をしていただいた。また質量分析解析に必要な試薬類の提供を受けた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

野生株およびサーテュイン欠損株(*hst3 hst4 sir2* 三重欠損)のタンパクを異なった安定同位体で標識し、アセチルリジン抗体を使ってアセチル化したペプチドのみを精製し、質量分析によりサーテュイン欠損株で特異的にアセチル化が残存するタンパクの同定を行なった。

図1: Hst3/Hst4/Sir2の標的となる代謝酵素を同定する



本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、上記手法により Hxk1, Fba1, Pfk1 および Adh1 の4種類の解糖系代謝酵素が *hst3 hst4 sir2* 三重欠損株において有意にアセチル化されることを見いだした。

第2に、上記代謝酵素のアセチル化部位と予想されるリジン残基をアセチル化状態を模したグルタミン残基に置換した変異体は、*hst3 hst4 sir2* 三重欠損株の細胞増殖をさらに抑制した。

第3に解糖系代謝酵素以外に *hst3 hst4 sir2* 三重欠損株ではアミノ酸合成代謝酵素である Ilv2, タンパクあるいはDNAのメチル化基質であるS-アデノシルメチオニン(SAM)の合成に関与する Sah1 も単離された。*hst3 hst4 sir2* 三重欠損株の代謝産物量をキャピラリー電気泳動型質量分析法で解析し野生株の代謝産物量を基準とし比較した結果、アミノ酸合成量の著しい低下、SAMの合成量の増加が見られた。このことはサーテュインによる Ilv2 および Sah1 の脱アセチル化が、それぞれアミノ酸合成量の増加、およびSAMの合成量の抑制に関与していることが示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

共同研究の波及効果：本共同研究では異なった安定同位体を用いた細胞内タンパク標識とアセチル化ペプチドの免疫沈降を組み合わせることで細胞内タンパクから定量的にアセチル化タンパクとその修飾部

位を同定する手法を確立した。本手法は大腸菌から哺乳類の培養細胞を問わず細胞内のアセチル化タンパクの同定に使用することが可能である。またアセチルリジン抗体に替えて他のタンパク修飾を認識する抗体を使用することで様々なタンパク修飾を受けるタンパク群の同定に応用することができる。

本研究成果からの発展：今回サーチュインの基質となる代謝酵素として Hxk1 を始めとした幾つかの代謝酵素を同定した。*HXK1*はグルコースをリン酸化するヘキソキナーゼをコードするが、ヒトホモログは糖尿病や悪性ガンの原因遺伝子であることが知られている。本研究成果から Hxk1 の酵素活性制御にアセチル化が重要な機能を果たしていることが示唆される。この研究成果がヘキソキナーゼの酵素活性異常が引き起こす糖尿病発症や細胞のガン化のメカニズムの理解の一助となりうることが期待される。

[4] 成果資料

平成 26 年度内の論文掲載なし。