

課題番号 63

染色体の脆弱性を抑制できるエネルギー代謝機構の解明

[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 7万 3千円, 旅費 7万 7千円

[2] 研究経過

本研究ではDNA修復異常もしくはクロマチン構造維持異常に伴うゲノムの不安定化を抑制するエネルギー代謝の機能を明らかにすることを研究目的とした。

申請者は出芽酵母を研究材料に、その欠損によってDNA修復遺伝子欠損によるゲノムの不安定化を回復できるエネルギー代謝関連遺伝子に着目した。申請者はヒストン H3 の 56 番目のリジンへの恒常的アセチル化を引き起こすNAD⁺依存性デアセチラーゼ *hst3 hst4* 二重遺伝子欠損株のDNA損傷剤への高い感受性、つまりDNA損傷修復機能の低下を、解糖系代謝酵素 GAPDH をコードする *tdh2* 遺伝子欠損によって部分的に抑制できることを見いだした (Hachinohe, M. et al., (2013) *PLoS One*, 8, e54011)。

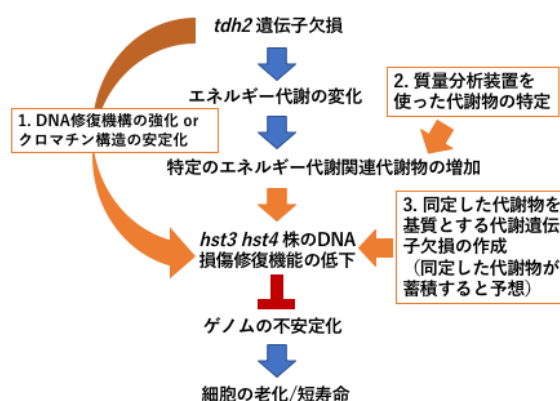
以下、研究の概要である (図1)。

1. *tdh2* 遺伝子欠損によって *hst3 hst4* 欠損株で起こる H3-K56 のアセチル化レベルが変化するか調べた。さらに *tdh2* 欠損が *hst3 hst4* 欠損株で低下する DNA 修復能力を回復できるかどうか調べた。
2. *tdh2* 欠損によって増加するエネルギー代謝関連の代謝物を質量分析装置で同定した。
3. 同定した代謝物を基質とする代謝酵素遺伝子欠損が、*tdh2* 欠損と同じく *hst3 hst4* 欠損株で低

下する DNA 修復能力を回復できるかどうか調べた。

本研究の進展状況については、申請者が東北大・加齢医学研究所にて安井明先生と研究討論を行った (平成 31 年 2 月 28-3 月 1 日)。

図1：研究の概要



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示すような研究成果を得た。

まず第1に *tdh2* 欠損により *hst3 hst4* 細胞の染色体中のヒストン H3-K56 のアセチル化レベルへの影響を調べたところ、*hst3 hst4* 株及び *tdh2 hst3 hst4* 株間でヒストン H3 の 56 番目のリジンのアセチル化量に変化はなかった。このことは *tdh2* 欠損によるエネルギー代謝変化はクロマチンのアセチル化状態に影響を与えていないことを示している。

第2に、*tdh2* 欠損によって増減するエネルギー代謝由来の代謝物を Capillary electrophoresis-time of flight / mass-spectrometry (CE-TOF/MS) を用いて定量解析した。野生株もしくは *hst3 hst4* 株に対して、それぞれ *tdh2* 株もしくは *tdh2 hst3 hst4* 株で顕著に増加する代謝産物としてキノリン酸を同定した。キノリン酸はトリプトファンから新規に NAD⁺ を合成するキヌレニン経路の中間代謝産物の一つである。キノリン酸を基質とする Quinolate phosphoribosyl transferase をコ

ードする *qpt1* 遺伝子の欠損は、*tdh2* 欠損と同じく、*hst3 hst4* 株が示す DNA 損傷剤への感受性を相補することができた。しかしながら *qpt1* 欠損株は野生株よりも細胞分裂寿命が短くなった。ヒトなど哺乳類ではキノリン酸の蓄積は、特に神経細胞において活性酸素種の蓄積を起こし、細胞死を引き起こすことから、キノリン酸はゲノムの安定性の寄与よりも細胞毒性の副作用が強くなることが示唆された。

第3に、*hst3 hst4* 株の DNA 損傷剤感受性を相補する *tdh2* 欠損がクロマチン構造を安定させているのか調べた。その結果、*tdh2* 欠損は染色体上に存在するリピート配列間での不要な組換え機構を抑制していることがわかった。同様に *qpt1* 欠損でも同様にクロマチン上のリピート配列間での不要な組換えを抑制している結果を得られている。このことからキノリン酸がクロマチン構造の安定化に関与していることが示唆される。

以上の成果は論文としてまとめ、現在商業誌に投稿中である (2019年3月現在)。

(3-2) 波及効果と発展性など

GAPDH は解糖系/糖新生経路において重要な酵素であるが、出芽酵母でアイソフォームが三種類、ヒトでは5種類のアイソフォームが存在している。アイソフォーム間の相同性は極めて高いが、出芽酵母GAPDH三種類(Tdh1/2/3)ではTdh1/3が解糖系、Tdh2が糖新生経路の活性化に関与し、寿命延長効果も *tdh2* 欠損にのみ生じるなど、その細胞内での機能には違いが存在する。*tdh2* 欠損で現れるゲノムの安定化、細胞寿命延長効果はヒトでも特定のGAPDHアイソフォームの破壊によって同様の効果が得られる可能性がある。複製フォークの不安定化によるゲノムの不安定化は癌細胞における抗がん剤耐性、悪性化の主要因でもある。ヒトでのGAPDHの特定のアイソフォームの破壊、あるいはその抑制が、抗がん作用を持つ可能性が期待される。

キノリン酸の分子内には酸素を4分子含有し、その構造は活性酸素種に近く細胞毒性を示す可能性が高い(図2)。キノリン酸をオリジナル分子として、細胞毒性が低くなるようにデザインした小分子の開発は、染色体複製フォークの安定性に寄与する新しいタイプの抗がん剤になる可能性がある。

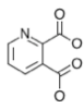


図2 キノリン酸の分子構造

[4] 成果資料

1. Takatsuki H, Agbemabiese CA, Nakagomi T, Pun SB, Gauchan P, Muto H, Masumoto H, Atarashi R, Nakagomi O, Pandey BD., Whole genome characterisation of G11P[25] and G9P[19] rotavirus A strains from adult patients with diarrhoea in Nepal. *Infect Genet Evol*. 2019 Apr;69:246-254. doi:10.1016/j.meegid.2019.02.007.