

課題番号 2

# GAPDH の Moonlighting protein としての 細胞寿命延長効果のメカニズム

[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 6 万 7 千円, 旅費 8 万 3 千円

[2] 研究経過

研究の背景：

解糖系/糖新生経路に必須である出芽酵母 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)には三種類のアイソフォーム (Tdh1/2/3) が存在する。このうち Tdh2 は糖新生経路の抑制に関与し、その遺伝子欠損は細胞の分裂寿命の延長を起こすほか、DNA 損傷剤への耐性 (染色体複製フォークの安定化) を起こす。tdh2 欠損が、DNA 損傷剤への耐性および細胞寿命延長につながるのか、その機構は不明であった。

**研究の目的：**本研究では、tdh2 欠損によって蓄積する代謝産物の種類に着目し、代謝産物と DNA 損傷剤への抵抗性との関係を明らかにする。

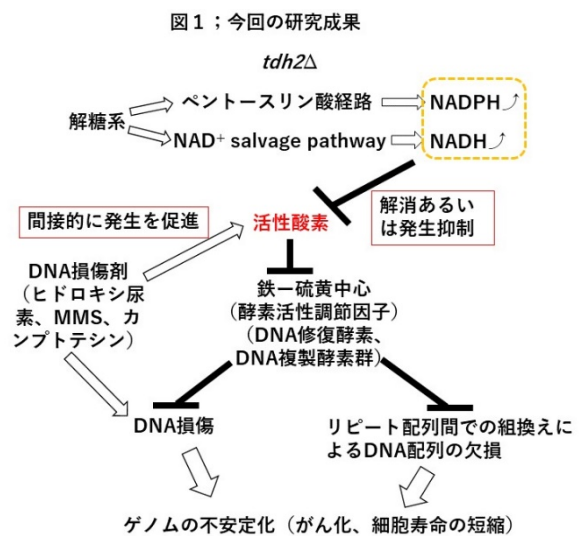
**研究方法：**tdh2 欠損株および野生株のエネルギー代謝を中心とした代謝産物を、Capillary electrophoresis-time of flight / mass-spectrometry (CE-TOF/MS) を用いて定量解析を行った。野生株と比較して、増加する代謝産物に着目し、DNA 損傷剤投与によって細胞内で起こる反応と、代謝産物との関連性を考察した。

加齢研側の受け入れ教員である安井明加齢研フェローおよび菅野新一郎講師とは、令和 3 年 3 月 5 日に加齢研を訪れ、今回の研究内容の発表を行うとともに、今後の研究の方向性についてディスカッションを行った。

[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 (図 1)。



第 1 に、CE-TOF/MS 解析により *tdh2* 欠損では解糖系からペントースリン酸経路への代謝物供給が増強された結果、NADPH の合成量が増加した。また NAD<sup>+</sup> salvage pathway の活性化による NADH の合成量も増加した。NADPH は活性酸素を還元する主要な redox 代謝物として機能し、NADH はミトコンドリア膜上での電子伝達系に供給され、活性酸素の発生を抑制する。活性酸素は細胞機能の障害に関与し、細胞の寿命を短くする。*tdh2* 欠損株の細胞寿命延長効果は、NADH, NADPH の供給量増加に伴う活性酸素の除去に起因していると考えられる。

第 2 に、*tdh2* 欠損は NAD<sup>+</sup> dependent deacetylase をコードする *hst3 hst4* 二重欠損株が示す DNA 損傷剤への感受性を回復させた。使用した DNA 損傷剤：ヒドロキシ尿素、カンプトテシン、methylmethane sulfate (MMS) は間接的に活性酸素を発生させ、DNA 損傷もしくは細胞機能障害を引き起こす。*tdh2* 欠損による NADPH, NADH の供給量の増加が、有害な活性酸素を除去し *hst3 hst4* 株の DNA 損傷剤感受性を回復できたと考えられる。

第3に *tdh2* 欠損は染色体上に存在する繰り返し配列間での複製フォークの **slipping** による DNA 配列の欠失を抑制していることがわかった。DNA 修復や複製に関与するタンパク群には、その酵素活性部位に鉄-硫黄中心といった金属イオン錯体を使用しているものがある。活性酸素は鉄-硫黄 (Fe-S) 中心部位を酸化し酵素活性を喪失させることで、染色体複製フォークの進行を阻害し、有害な組換えによる DNA 配列欠失を起こしていると考えられる。*tdh2* 欠損による NADPH, NADH の供給量の増加は、活性酸素による Fe-S 中心部位への攻撃を防ぐことで DNA 複製複合体の進行を安定化させ、不要なりピート配列間での欠失を防いでいると考えられる。

### (3-2) 波及効果と発展性など

今回の研究から代謝酵素遺伝子欠損によって代謝経路が切り替わり、活性酸素を中和する redox 代謝産物を生み出すことは、有害な活性酸素による細胞機能障害を防ぎ細胞あるいは生体の老化の抑制につながれる可能性がある。

しかしながら細胞あるいは生体の代謝状態が、抗がん剤に対する抵抗性を起こす一因になる可能性が考えられる。DNA 損傷剤は低コストかつ広汎な種類のがんに利用できる利点から、現在も多くのがん患者に抗がん剤として投与されている。DNA 損傷剤が DNA 鎖への直接攻撃と、生じた活性酸素による細胞機能障害の二重効果によるがん細胞攻撃を行う場合、がん患者の細胞あるいは生体の代謝状態によっては、生み出される redox 代謝物によって活性酸素が中和されることで抗がん作用が弱められ、より多量の抗がん剤投与を必要とすることが考えられる。この場合抗がん剤の大量投与が必要となり、重篤な副作用をがん患者に引き起こす可能性がある。このように DNA 損傷剤と細胞もしくは生体内の代謝状態との関係は、より詳しい研究が必要である。

## [4] 成果資料

(1) Deletion of the GAPDH gene contributes to genome stability in *Saccharomyces cerevisiae*.

Miki Hanasaki, Keisuke Yaku, Motohiro Yamauchi, Takashi Nakagawa, Hiroshi Masumoto

*Scientific reports* 10(1) 21146-21146 2020