

学位授与番号：甲 1 0 1 6 号

氏 名：田島 彩沙

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 28 年 4 月 13 日

学位論文名：

Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells.

学位論文名（翻訳）：

(ポリアミン調節タンパク質アンチザイムはがん細胞において ATP クエン酸リアーゼに結合しアセチル CoA 合成を促進する)

学位審査委員長：教授 松浦知和教授

学位審査委員：教授 高田耕司教授 教授 吉田博教授

論文要旨

論文提出者名	田島 彩沙	指導教授名	松藤 千弥
<p>主論文</p> <p>Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells</p> <p>(ポリアミン調節タンパク質アンチザイムはがん細胞において ATP クエン酸リアーゼに結合しアセチル CoA 合成を促進する)</p> <p>Ayasa Tajima, Noriyuki Murai, Yasuko Murakami, Takeo Iwamoto, Toshiro Migita, Senya Matsufuji</p> <p>Biochemical and Biophysical Research Communications (in press)</p> <p><要旨></p> <p>アンチザイム (AZ) は、細胞内ポリアミン (プトレッシン、スペルミジン、スペルミン) によって誘導され、ポリアミン合成系のオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) と結合してその分解を促進する。ポリアミンは細胞増殖に必須であり、がん細胞に高濃度で存在する。一方、過剰になると細胞毒性を示すことから、AZ は細胞内ポリアミン濃度をフィードバック調節する役割を担う。ATP クエン酸リアーゼ (ACLY) は、細胞質においてクエン酸からアセチル CoA とオキサロ酢酸を生成する反応を触媒する酵素であり、酵母ツーハイブリッドシステムによって AZ 結合タンパク質のひとつとして同定された。</p> <p>本研究において、免疫沈降法と蛍光抗体法により、AZ と ACLY が細胞内において結合していること、両者が細胞質に共局在していることを確認した。報告されている AZ 結合タンパク質の多くは結合により分解が促進されるが、ACLY の分解は AZ との結合によりほとんど促進されなかった。そこで ACLY 活性に及ぼす AZ の影響を調べたところ、試験管内で AZ は ACLY 活性を増強させた。なお、ポリアミン自体は ACLY 活性に影響を与えなかった。</p> <p>ヒトがん由来培養細胞株にポリアミンを添加すると ACLY が活性化され、この効果は siRNA を用いた AZ のノックダウンによりブロックされた。ポリアミン非添加の細胞に AZ のノックダウンを行ったところ、ACLY 活性は有意に抑制された。また同条件下で、ACLY の生成物であるアセチル CoA や、さらに下流の産物であるコレステロールを定量したところ、いずれも有意に減少していた。</p> <p>以上の結果は、AZ が ACLY に結合することにより活性を調節していることを示すと共に、ポリアミン代謝系とアセチル CoA を経由する脂質合成がリンクしている可能性を示唆する。</p>			

学位審査の結果の要旨

口頭試問 2016年3月31日 木曜日 16:00-17:00
(東京慈恵会医科大学付属病院 B棟 6階 C会議室)

質問1. 実験手法に関する質問

アンチザイム (AZ) の精製はどのように行ったか？

— FLAG 標識した AZ を発現させており、カラムで精製した。

質問2. ATP クエン酸リアーゼ (ACLY) への AZ1 と AZ2 の結合性は異なるか？

— 異なっている。それぞれの AZ の ACLY への親和性やモル比が影響する。

質問3. ACLY の活性化はどのように起こるのか？

— AZ が単に結合することで酵素の活性化が起きていると思う。

質問4. ACLY の基質は細胞質ではクエン酸だが、スイッチはどこではいるのか？

— ATP が不足した時。

質問5. ACLY の活性化には補酵素のような物質が必要か？

— 未だ不明。

質問6. ACLY の AZ 結合部位はわかっているか？

— 未だわかっていないが、調べる予定。

質問7. がんの分子標的治療への応用は？

— AZ と ACLY の結合を阻害すれば、がん細胞増殖を抑制できるかもしれない。現時点では AZ と ACLY がどの癌にどのくらい発現しているかは不明。

質問8. AZ 1 と ACLY はどのような合成系を使っているか。

— AZ は酵母、ACLY は大腸菌、酵母でつくらせている。

質問9. 今後の研究の方向性

— AZ がどのような機構で ACLY を活性化するか、検討する。

コメント：AZ は ODC を抑制し、さらにポリアミンの細胞内への取り込みを抑制し、ポリアミンの細胞内濃度を調整している。本臨床研究の結果から、AZ は ATP クエン酸リアーゼ (ACLY) を活性化し、アセチル CoA 合成が促進される。ACLY は、特にがん細胞で増殖効果を促進することから、がん治療に応用できる可能性もあることが、示唆されている。本研究論文は、基礎的にも、また将来臨床的に価値が高い内容である。

以上