

日本ポリアミン研究会
—第19回研究発表会—
講演要旨集

会期：2004年2月5日（木）・6日（金）
会場：札幌医科大学記念ホール

主催 日本ポリアミン研究会

特別講演

Activated Polyamine Catabolism as a Novel Anticancer Strategy

Carl W. Porter, Ph.D.

Leader, Therapeutics Program
Vice Director, Pharmacology & Therapeutics
Roswell Park Cancer Institute
Elm & Carlton Streets
Buffalo, NY 14263

Inhibiting polyamine biosynthesis is a well-established antiproliferative and chemopreventive strategy. The possibility of inducing polyamine catabolism as an alternative antiproliferative strategy became apparent during the evaluation of the polyamine analog which in addition to down-regulating polyamine biosynthesis, potentially up-regulates the polyamine catabolic enzyme spermidine/spermine N^1 -acetyltransferase (SSAT). The relationship between SSAT induction and growth inhibition was supported by cell line sensitivities, analog potency and by mechanisms of resistance. Recently, we have proven the relationship of SSAT to DENSPM-induced apoptosis in melanoma cells by siRNA gene silencing (Chen *et al.*, *Mol. Pharm.* 64:1153-59, 2003 and *Oncogene* 22:4964-72, 2003). We have also shown that selective overexpression of SSAT leads to growth inhibition in both MCF-7 breast carcinoma cells (Vujcic *et al.*, *J. Biol. Chem.* 275:38309-28, 2000) and in LNCaP prostate carcinoma cells (Kee *et al.*, submitted). To examine the downstream metabolic consequences of SSAT induction, we have applied functional genomics to identify and biochemically characterize three polyamine-directed catabolic enzymes—spermine oxidase (SMO, Vujcic *et al.*, *Biochem J.* 367:665-675, 2003), polyamine oxidase (PAO, Vujcic *et al.*, *Biochem. J.* 370:19-28, 2003) and a second spermidine/spermine N^1 -acetyltransferase (SSAT-2, Chen *et al.*, *Biochem J.* 373:661-667, 2003).

Genomic sequences were identified by blast homology search, transfected into 293 cells and characterized by a lysate assay. Of the three enzymes, SMO is the most interesting since it provides the cell with a previously unrecognized ability to convert spermine to spermidine without prior acetylation by SSAT. Importantly, both SMO and PAO (but not SSAT-2) are induced at the mRNA level by polyamine analogs and thus, may contribute to analog-induced polyamine pool depletion and growth inhibition. Since the two oxidases liberate reactive as by-products, and since they now known to be inducible, they may have direct relevance in carcinogenesis. Virtual Northern analysis based on EST distribution suggests differential expression of these enzymes in various normal versus tumor tissue comparisons. Antibodies developed to all three enzymes and are being applied in western blot analysis of enzyme proteins in cells and tissues. Given the aforementioned ability of SSAT over-expression to inhibit cell growth, we examined whether similar effects could be achieved *in vivo*. Mice engineered to develop prostate cancer (TRAMP mice) were cross-bred with SSAT transgenic mice and analyzed for tumor formation and biochemical disturbances (Kee *et al.*, submitted). Urological tumor development in the TRAMP x SSAT mice was remarkably suppressed relative to the TRAMP mice and this correlated with large shifts in tumor and tissue polyamine pools. Similarly provocative findings with other transgenic tumor models will also be reported. Lastly, we note that the expression of polyamine catabolic enzymes is potently induced by clinically useful anticancer agents (Hector *et al.*, submitted), revealing the opportunity for therapeutic exploitation by rational drug combinations. Taken together, we believe that these findings open exciting new horizons for polyamine catabolism in understanding, treating and preventing cancer.

01 脊髄由来細胞増殖抑制因子と生体ポリアミン (2)

○ 江本由美子¹、今福千明¹、新津勝²、太和田勝久¹

¹九大院・理、²城西大・薬

我々はこれまでに、ブタ脊髄の塩抽出物中に動物培養細胞の増殖・接着・遊走運動を可逆的に抑制する因子の存在することを報告した。この細胞増殖抑制因子は、中性 pH で正電荷を持ち、耐熱性で水溶性の、分子量が約 350 の小分子であると推定される (Emoto et al. 2001)。ゲルろ過、陰イオン交換クロマトグラフィー、CM-sepharose を用いて精製した細胞増殖抑制因子画分を逆相 HPLC で分析すると、この増殖抑制因子画分には、構造未同定の物質および生体ポリアミンであるスペルミジン (Spd) とスペルミン (Spm) が含まれていることがわかった。この因子画分が、(1) Spm や Spd では細胞に影響しない程度の低い濃度で細胞増殖を抑制し、(2) しかもその作用が可逆的であること (Spd や Spm の作用は非可逆)、(3) また因子画分の増殖抑制作用がアミンオキシダーゼで抑えられにくいことから、この画分の抑制作用は、Spd や Spm によるのではなく、構造未同定の物質によると推定される。つまり、構造未同定の物質が可逆的作用の抑制因子であると推定される。より効率のよい精製を目指し、今回我々はハイドロキシアパタイトと揮発性緩衝液を用いて増殖抑制因子の精製を試みた。ハイドロキシアパタイトで分離した増殖抑制因子画分は、Spm や Spd よりも低い濃度で細胞増殖抑制作用を示した。また、この増殖抑制画分を GC・MS 分析すると、この画分は Spm, Spd の他、数種類の物質を含んでいることがわかった。現在これら物質の構造解析をすすめるとともに、細胞増殖抑制作用を調べている。

Emoto, Y., Kawahara, R., Koga, Y., Ito, T., Tawada, K. Small molecular mass inhibitor of growth of MDCK cells derived from pig spinal cord. *J. Cellular Phys.* **186**:350-356 (2001).

0 2 細胞増殖における eIF5A とポリアミンの異なる役割

○ 西村和洋¹、室積 香¹、白幡 晶²、Park Myung Hee³、
柏木敬子¹、五十嵐一衛¹

¹千葉大院・薬、²城西大・薬、³NIH・NIDCR

ポリアミンと共有結合する唯一の蛋白質である eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A) は、スペルミジン (SPD) を基質に翻訳後修飾 (ハイプシン化) を受ける。このハイプシン化 eIF5A は生命に必須である。今回我々は、ポリアミン減少による細胞増殖阻害が eIF5A のハイプシン化を阻害する事を介して起こるか、もしくは eIF5A のハイプシン化とは独立して細胞増殖阻害が起こるかどうかなかをハイプシン化阻害剤及びポリアミン生合成阻害剤を用いて検討した。

デオキシハイプシン合成酵素 (DHS) の阻害剤である *N*¹-guanyl-1,7-diaminoheptane (GC₇) によるマウス FM3A 細胞の増殖阻害効果を検討した。GC₇ によりポリアミン量には影響をせず、ハイプシン化のみを阻害する条件で、増殖阻害効果は培養 24 時間以降に現れた。そして、この時のハイプシン化 eIF5A 量は 4 割ほどにしか減少していなかった事から、eIF5A は比較的安定な蛋白質である事が示唆された。そこで、その半減期 (T_{1/2}) を調べると非常に安定 (>7 日) であった。次に SPD の細胞内量とハイプシン化の相関を調べるため、オルニチン脱炭酸酵素阻害剤の DFMO、もしくはスペルミン合成酵素阻害剤の *N*¹-(3-aminopropyl)cyclohexylamine (APCHA) と DFMO の存在下で FM3A 細胞の培養を行ったところ、両条件とも細胞増殖阻害を示した。そして、DFMO 単独の場合、SPD 量は培養 24 時間で 1/10 ほどに、APCHA と DFMO の場合、培養 72 時間で 1/2 ほどに低下し、ハイプシン化 eIF5A 量の減少は DFMO 単独の場合だけ認められた。

以上の事から、細胞内ポリアミン量の減少による、もしくは eIF5A のハイプシン化阻害による細胞増殖阻害効果は、それぞれ独立して起こる事が明らかとなった。

0 3 Agmatine の細胞選択的な増殖抑制作用における細胞周期関連蛋白の発現変化

○磯目正人¹、江藤滋彦¹、佐野秀樹¹、鈴木 仁¹、Roland C. Blantz²、Joseph Satriano²

¹福島県立医科大学医学部小児科、²Division of Nephrology-Hypertension, University of California San Diego & VA Medical Center

Agmatine(Agm)は arginine decarboxylase(ADC)を介して産生される arginine の代謝物である。以前私達は Agm が細胞増殖に必要な polyamine を antizyme を介して減少させ、細胞増殖を抑制することや、Agm が polyamine と同じ輸送体を介して細胞内に取り込まれることを明らかにした。さらに、第 17 回の本研究会で Agm が増殖能の高い細胞に対して選択的に作用することを報告した。今回私達は、Agm による細胞増殖抑制機序について明らかにするため細胞周期関連蛋白の発現を検討した。細胞は H-ras を導入した NIH-3T3(Ras-3T3)を使用した。1mM の Agm 存在下で 10 日間培養し経時的に蛋白を抽出、retinoblastoma protein(pRb)、数種類の cyclin と cyclin kinase inhibitor(CKI)、さらに antizyme について Western blotting 法にて蛋白発現変化を検討した。また 10 日間培養後の Ras-3T3 細胞の細胞周期における分布を FACS で検討した。Ras-3T3 細胞は、Agm の濃度依存性に G1 phase で arrest を起こしていた。また、antizyme は一時的に発現増加し、細胞周期関連蛋白では早期から p21Cip1、続いて p16INK4A の発現が増加しており、CKI の発現増加に一致して pRb、cyclin A、cyclin D1 発現が減少していた。しかし cyclin E の発現は経時的に増加していた。以上から、Agm による Ras-3T3 細胞の G1 arrest に p16、p21 の発現増加と pRb、cyclin A、cyclin D1 発現減少が関与していると考えられた。

04 抗癌剤ブレオマイシン投与ラットによる臓器中ポリアミンの動態

○永瀬澄香¹，佐藤彰一¹，渡辺 悟²

¹川崎医療短期大学臨床検査科、²川崎医科大学薬理学

【目的】我々はポリアミンを指標とし、癌細胞再増殖を回避するための組織別抗癌剤選択基準作成を目的として、各種抗癌剤のポリアミン代謝に対する影響を検討している。特定臓器中ポリアミン量を低下させる抗癌剤は、特定臓器に発生した癌の増殖・転移を抑制すると考えられる。しかし、制癌効果の反面、副作用が見られたり、中には治療後二次性癌を発生させる可能性を指摘されるものもあり、投与量、投与期間など治療においては臨床検査値の動向に着目することが重要である。今回、臨床的に Hodgkin 病や数多くの悪性腫瘍に有効であるブレオマイシン：Bleomycin(BLM)をラットに投与し、臓器中ポリアミンの動態と臨床検査値について検討を行なった。

【方法】 体重約 140g 前後の 5 周齢雄ラットを 1 群 7 匹ずつ用い、Control 群、抗癌剤投与群 BLM12.5mg/kg、BLM25mg/kg の 3 群について 5 日間投与後 14 臓器及び脳 6 部位を摘出し、採血後屠殺し臓器湿重量を測定した。各臓器を抽出処理後、HPLC で 14 臓器のポリアミンを測定した。臨床検査値は血液検査 8 項目、生化学検査 25 項目について測定した。

【結果及び考察】 ラットの体重変化では、投与群において強く体重増加を抑制した。全摘出臓器における湿重量変化を見ると、BLM は胸腺、脾臓など造血器への影響が著しく、その他腎臓や精囊および間脳などに対する影響がみられることが判明した。

今回用いた BLM は特に胸腺、脾臓、精囊、睪丸のポリアミン濃度を有意に減少させていた。その他肺などにおいても減少傾向が見られ、細胞増殖の抑制作用が考えられる。しかし、腎臓や前立腺で増加傾向がみられた為、BLM を投与するときにはこれら臓器の腫瘍細胞の有無に注意する必要があると思われる。血液検査では、貧血の傾向はなく、白血球の減少傾向は見られるものの有意な骨髓抑制は考えられなかった。生化学検査では、各酵素や BUN、クレアチニンにも有意な変化が見られ、肝臓や腎臓に対する血液毒性が示唆された。

05 乳児良性直腸出血症例における母乳中ポリアミン濃度の検討

○ 熊谷秀規¹、米沢俊一²、新津ひさえ³、遠藤重厚⁴、千田勝一¹

¹岩手医科大学医学部小児科学講座, ²もりおかこども病院小児科,
³岩手医科大学医学部法医学講座, ⁴岩手医科大学高度救命救急センター薬物毒物検査部門

【背景】乳児良性直腸出血（以下、本症）は便に血液がすじ状に付着する疾患であり、児の全身状態は良好で体重増加もよく、多くは母乳栄養児である。本症はアレルギー性直腸炎と同じスペクトル上にある連続性の病態と考えられている。最近、母乳中ポリアミンが、乳児の食物アレルギーの発症予防に関与していることを示唆する報告がなされている。【目的】本症例と対照児の母乳中ポリアミン濃度を比較検討し、ポリアミンの本症における病態への関与を評価する。【対象】直腸出血を主訴に来院し、本症と診断した乳児6例を対象とした。比較対照は年齢をマッチさせた健康母乳栄養児10例とした。【方法】本症例と対照児の母親から母乳を搾乳し、高速液体クロマトグラフィを用いて母乳中のポリアミンを測定した。【結果】発症年齢は生後4-16週（平均11.3週）で、搾乳時の児の年齢は、生後4-21週（平均12.7週）であった。栄養法は母乳5例、混合1例であった。対照群の搾乳時における児の年齢は、生後4～21週（平均12.3週）であった。本症例群のポリアミン含有量は、中央値でプトレッシン 13.2 (7.73-16.7) $\mu\text{mol/L}$ 、スペルミジン 2.10 (2.05-5.10) $\mu\text{mol/L}$ 、スペルン 5.35 (3.70-8.34) $\mu\text{mol/L}$ であった。一方、対照群はそれぞれ、10.5 (6.01-17.9) $\mu\text{mol/L}$ 、1.56 (1.80-13.7) $\mu\text{mol/L}$ 、5.21 (4.44-22.8) $\mu\text{mol/L}$ であった。本症例群と対照群の摂取している母乳中ポリアミン量は、プトレッシン、スペルミジン、スペルミンとも、両群間に有意差はみられなかった（それぞれ $P=0.28, 0.38, 0.79$ ）。【結論】本症の摂取母乳中ポリアミン量は、健康乳児のそれと差がなく、病態に関与する因子としてはポリアミン以外のものが考えられた。

06 尿中ジアセチルスペルミンの腫瘍マーカーとしての意義

○川喜田正夫¹、平松恭子²、高橋慶一³、玉森佳子⁴、今城真理²、
山口達郎³、松本寛³、宮本英典³、田中荘一⁵、田中智香子^{3,6}、
戸井雅和³、森武生⁷

¹工学院大・応化、²都臨床研・所長直轄研究センター、³都立駒込
病院・外科、⁴同・検査科、⁵都立墨東病院・外科、⁶現所属都立駒
込病院・放射線科、⁷都立駒込病院長

我々は、尿中 N¹,N¹²-diacetylspermine (DiAcSpm) レベルが前立腺がんそ
の他の尿路悪性腫瘍、大腸がん、乳がんなどで著明に上昇することを見出し、
この微量尿中ポリアミン成分が新規の腫瘍マーカーとしての考慮に値する性
質をもつことを示してきた。そして、この新規マーカーを臨床に応用するた
めの一つのステップとして簡便な測定系の確立が必要と考え、DiAcSpm 特
異抗体を用いた ELISA 測定系を開発して報告した。今回は、この ELISA 系
を用いて、大腸がん、乳がんを中心に DiAcSpm の腫瘍マーカーとしての特
性についてさらに検討を進めた結果について報告する。

都立駒込病院外科で診療を受けた大腸がん患者および乳がん患者を対象
として尿中 DiAcSpm の測定を行った。健常者 52 名の平均値+2SD (0.15+0.10
μmol/g creatinine) を基準値とした場合、248 例の大腸がん患者の治療前陽性
率は 76%であった。一方、同一患者群について、CEA (基準値: 5.0 ng/ml)、
CA19-9 (基準値: 37 U/ml) の陽性率はそれぞれ 40%、14%であった。さら
に、患者を病期別に分類 (stage 0, 20 例; stage I, 40 例; stage II, 60 例;
stage III, 107 例; stage IV, 21 例) し、尿中 DiAcSpm の陽性率を比較した。
病期の進行とともに陽性率は上昇したが、特に、尿中 DiAcSpm が粘膜がん
(stage 0) や比較的早期のがん (stage I) で約 60%の高い陽性率を示す点が
注目された。同一患者群について、CEA、CA19-9 の陽性率はそれぞれ 10%、
5%にすぎなかった。乳がん患者 83 例についても既存マーカーとの陽性率の
比較を行ったところ、尿中 DiAcSpm、血清 CEA、血清 CA15-3 (基準値
23U/ml) の陽性率はそれぞれ 60%、37%、37%であり、DiAcSpm の陽性率は
有意に高かった。また、大腸がんと同様、乳がんにおいても尿中 DiAcSpm
は比較的早期 (stage I および II) のがんでも他のマーカーよりも高い陽性率
を示した。

07 アンチザイム 1, 2 の細胞内局在とリン酸化

○ 村井 法之、松藤 千弥
慈恵医大・生化学講座第 2

アンチザイム(AZ)は、ポリアミン合成の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の 26S プロテアソームによる分解を促進することにより細胞内のポリアミン濃度を負に調節するタンパク質である。これまでに AZ のファミリーとして AZ1, AZ2, AZ3 の存在が確認されている。このうち AZ1 と AZ2 は全身の組織に発現している。AZ2 の発現レベルは低いもののその種間の保存性は高い。さらに、最近アンチザイムが核にも存在するという報告もあるが詳細はよくわかっていない。AZ1,2 の機能分担解明をめざして、これまでに緑色蛍光タンパク質(EGFP)や HA タグを付加した AZ1 を NIH3T3 細胞や CHO 細胞に発現させ蛍光顕微鏡観察によりその細胞内局在を解析し、AZ1 は、細胞質に局在するが、その分子内には核移行シグナル(NES)が存在することを明らかにしている。AZ1 と同様に AZ2 の細胞内局在について解析を行った結果、AZ2 は主に核に局在し、その局在は核と細胞質間で経時的に変化していることを見出した。さらに ^{32}P による培養細胞のラベル実験により AZ2 が細胞内でリン酸化されることを明らかにした。リン酸化部位予測プログラム解析や予測リン酸化部位(Ser 残基)のアラニン置換変異体解析、さらに Gultathione S-Transferase (GST)融合 AZ2 リン酸化部位変異体の ^{32}P \square ATP を用いた *in vitro* リン酸化解析から、AZ2 の 186 番目のセリンが Casein Kinase II (CKII) によりリン酸化されることを明らかにした。次にリン酸化と細胞内局在の関連を調べるために擬似リン酸化変異体 EGFP-AZ2(S186E)やリン酸化消失変異体(S186A)を作成しその局在を観察したが野生型との局在の違いは見られなかった。一方、AZ1 は通常培養条件下ではリン酸化は検出されなかったが、HA-AZ1 を発現させた NIH3T3 細胞をプロテアソーム阻害剤 MG132 で処理すると AZ1 のリン酸化が検出されることを見出した。AZ1 と AZ2 のリン酸化の意義を現在解析中である。

08 アンチザイム1ノックアウトマウスの発がんへの関与

○ 大城戸真喜子、松藤千弥

東京慈恵会医科大学 生化学講座第2

背景：アンチザイム (AZ) は細胞内ポリアミン濃度をフィードバック調節するタンパク質である。がん細胞においては、ポリアミン濃度が持続的に高値を示し、ODC も安定化することが知られている。細胞内ポリアミンの制御機構の破綻が、がんの特徴であると考えられる。

目的：我々は、AZ1 ノックアウトマウスにおける発がんについて解析を行ってきた。AZ1 ホモ欠損マウスを長期飼育しても明らかな自然発生がんは認められなかった。そこで、AZ1 欠損による発がんへの影響を解析するために、発がんモデルマウスとの交配実験を計画した。家族性大腸腺腫(FAP)のモデル Min マウス(APC 遺伝子変異マウス)は腺腫好発部位である小腸において AZ1 mRNA が低下していることが Gerner らによって報告されていたので、Min マウスを発がんモデルマウスとして使用した。

方法：AZ1 ヘテロ欠損マウス(AZ1^{+/-}) / B6 ♀ × Min (APC^{Min/+}) / B6 ♂ の交配で得られる AZ1^{+/+} APC^{Min/+} (以下 W min)、および AZ1^{+/-} APC^{Min/+} (以下 E min) について生存日数、および生後 80 日における体重、腸管腺腫の数、大きさ、腸管の狭窄、その他の臓器の変化について解析を行った。消化管は 9 部位 (胃、十二指腸、近位空腸、遠位空腸、回腸、盲腸、近位大腸、中位大腸、遠位大腸) に分けて観察した。解析には Wmin♂8 匹、Wmin♀16 匹、Wmin♂9 匹、Wmin♀9 匹を使用した。

結果：50%生存率は W min は 170 日、E min は 140 日であった。胃、盲腸、近位大腸では腺腫はほとんど観察されなかった。それ以外の腸管では腺腫数の増加、増大傾向にあった。2mm 以上の径をもつ腺腫の数は、W min と比較して有意差が認められた。特に中位大腸では有意差が顕著であった。しかし遠位大腸では Wmin で 2mm 径以上の腺腫が半数以上を占め、Emin との間に有意差がなかった。腸管以外の変化としては、脾臓の腫大傾向にあった。

まとめ；AZ1 のヘテロ欠損が、Min マウスにおける腺腫形成に促進的に働くことが明らかとなった。

09 担癌患者における免疫抑制状態の解明

—ポリアミンの関与—

○早田邦康、加納良彦、加園恵三、中村豪、小西文雄

自治医科大学大宮医療センター外科、内科

(目的) 担癌患者では免疫能が低下しており、癌治療後に改善することから、癌組織内における免疫抑制物質産生の増加等が指摘されている。しかし、担癌患者の免疫抑制の機序は未だ不明な点も多い。我々は、担癌患者で上昇している血球内ポリアミン濃度が癌の切除により低下することに注目し、末梢血細胞内ポリアミン濃度の変化が免疫機能に及ぼす影響を検討した。(方法) 健康成人ボランティアから採取した末梢血単核球を、10%ヒト血清含有培養液で培養した。培養液中にスペルミン、スペルミジンおよびプトレスシンを添加し、細胞接着能、細胞膜分化抗原の発現、LAK活性、TNF産生能を検討した。(結果) スペルミン500 μ Mを含む培養液中で一晩培養した末梢血単核球のスペルミン濃度は、ポリアミンを加えない培養液中で一晩培養した細胞の1.2~1.3倍の濃度であった。末梢血単核球の培養プレートとヒト臍帯静脈内皮細胞への接着が、スペルミンおよびスペルミジン濃度依存性に抑制された。この接着抑制は、CD11aおよびCD18の平均蛍光強度の低下を伴っていたが、他の細胞膜分化抗原の発現は低下しなかった。スペルミンおよびスペルミジンと一晩培養した末梢血単核球のLAK活性は抑制された。LPS刺激によるTNF産生能はスペルミンおよびスペルミジン濃度依存性に抑制された。(考察) スペルミンと一晩培養した細胞内スペルミン濃度の上昇の程度は、正常対照群と比較した担癌患者の末梢血単核球スペルミン濃度の上昇の程度と類似していた。末梢血単核球内のポリアミン濃度の上昇は、担癌状態の患者で観察される細胞接着機能、LAK活性低下、TNF産生能低下を起すことが、明らかとなった。担癌患者では、ポリアミン濃度の上昇が認められており、従って、その免疫機能の変化の少なくとも一部は、免疫細胞内のポリアミン濃度が上昇することにより生じる変化を反映していると推測された。

10 発育鶏卵へのスペルミン合成酵素阻害剤投与

○ 佐藤優子、池口文彦、白幡晶

城西大・薬

【目的】スペルミジン、スペルミンに代表されるポリアミンは、細胞の増殖や分化に対して種々の作用を持ち、生体機能において必須な成分である。しかしスペルミンにおいては細胞への阻害剤投与実験などにより細胞増殖に必須ではない事が報告されている。本研究では閉鎖系である発育鶏卵にスペルミン合成酵素阻害剤 APCHA を投与し胎児の発育及び孵化に与える影響を調べた。

【方法】鶏(日本系農林 102 白色)の孵化卵 5 日目に APCHA を 220 nmol/g (0.66 μ L/g)投与し、コントロール群には生理食塩水を投与した。投与後、卵を孵卵器(温度 38℃、湿度 58~68%、1 時間に 1 度転卵)に入れ、投与 5 日後(10 日卵)、投与 10 日後(15 日卵)に解剖を行い胎児の形態の観察とポリアミン濃度の測定を行った。ポリアミン濃度の測定はポリトロンホモジナイザーでホモジナイズし除タンパク処理後イオン交換 HPLC により定量を行った。

【結果および考察】投与 5 日後(10 日卵)、投与 10 日後(15 日卵)ではスペルミン濃度は 1/15 にまで減少しスペルミジン濃度は 2 倍に上昇した。コントロールでは投与 16 日後(21 日卵)で孵化したのに対し、APCHA 投与では 10 匹中 1 匹のみが 1 日遅れで孵化し、更に 1 匹が殻からでられなかったが生きていた。残り 8 個の卵では胎児が黄身を体内に取り込む段階で死亡していた。生存していた APCHA 投与群の雛では、肝臓中スペルミン濃度が 1/8 にまで減少しスペルミジン濃度は 2 倍に増加した。また脳にも APCHA が存在しスペルミン濃度は 1/2 に減少しスペルミジン濃度は 2 倍以上増加した。また、胎児及び雛の重さや体長などの形態学的観察ではコントロール群、APCHA 投与群に差は見られなかった。

1 1 酸化ストレスにより誘導されるオルニチン脱炭酸酵素活性の天然物による抑制効果

○叶 社房¹、若命 浩二²、市村 薫¹、大江 正人¹、
小屋 作久次³、松崎 茂¹

¹獨協医科大学大学生化学、²(株)アミノアップ化学、³(株)和漢薬研究所

「目的」オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) 活性は、発癌 promoter 活性をよく反映すると考えられている。生体内で hydroxyl radical を発生させると ODC 活性が上昇するが、biological response modifier(BRM)と考えられている天然物質でその活性が影響を受けるかどうかを調べた。その際に、抗酸化作用との関連についても検討した。

「材料と方法」生体内で hydroxyl radical を発生させる ferric nitrilotriacetate (FeNTA)を7週齢の雄ラットに投与して12時間後に肝及び腎臓の ODC 活性がどのような変化を示すかを調べた。さらに、1週間ほど前から Active Hexose Correlated Compound (AHCC)または松寿仙を投与しておく、ODC 活性の上昇はどうなるかも検討した。また、肝・腎の酸化還元状態についても調べた。

「結果」ラットに FeNTA(Fe,7.5mg/kg 体重)を投与したところ、12時間後に肝及び腎臓の ODC 活性は最大に増加した。AHCC も松寿仙も単独投与では、ODC 活性に何ら影響を与えなかったが、FeNTA で増加する ODC 活性は抑制された。血中の過酸化脂質 (LPO) は、FeNTA で増加するが AHCC または松寿仙により正常に復した。血中及び肝臓の superoxide dismutase (SOD)活性は FeNTA で低下したが、AHCC または松寿仙で正常に戻った。

「考察」FeNTA やフォルボールエステルで誘導される ODC 活性が、抗酸化物により抑制されることが知られているので、AHCC も松寿仙も抗酸化物質として作用した可能性が高い。松寿仙も AHCC も *in vitro* でもかなり強い抗酸化活性が認められるが、これら2種類の BRM は、直接または間接的に抗酸化作用を発揮することにより、FeNTA による臓器障害を改善するものと考えられる。

1 2 *Bifidobacterium lactis* LKM512 含有ヨーグルト投与による腸管内ポリアミンの増加と保健効果

○ 松本光晴¹、廣中貴宏¹、辨野義己²

¹協同乳業・素材開発、²理研・系統保存

【目的】プロバイオティクスの保健効果に関する報告は増加しており、最近では免疫系の疾病（炎症性腸疾患やアレルギー）の症状改善に至るまでその有用性が報告されている。しかしながら、そのメカニズムに関しては腸内細菌叢の改善のみを論議する報告が多い。演者らはその効果が、腸内細菌叢の代謝産物により誘導されると作業仮説を立案し、代謝産物の 1 つとしてポリアミン（PA）をターゲットとし、その保健効果との関連性を考察する事を目的とした。

【方法】日の出が丘病院（東京都・日の出町）に入院している高齢患者（男性3名、女性3名、平均年齢78歳）を対象とした。*Bifidobacterium lactis* LKM512、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LKM1759、*Streptococcus thermophilus* LKM1742 で発酵させたヨーグルト（LKM512-Y）を 100g/day ずつ 2 週間投与した。その後 2 週間投与を中断し、LKM512 を除いたプラセボを同様に投与した。各試験期の糞便を回収し、糞便エキスを調製し試験に供した。PA 含量は HPLC、ハプトグロビン含量は ELISA、変異原活性はウムラック（日本抗体研究所）を用いて測定した。

【結果及び考察】LKM512-Y 投与により糞便スperlミン含量が有意 ($p<0.05$) に増加し、他の PA も増加傾向を示したが、プラセボではその傾向はなかった。急性炎症マーカーであるハプトグロビンは LKM512-Y 投与により有意 ($p<0.05$) に減少し、抗炎症効果があることが確認された。変異原活性は LKM512-Y 投与により有意 ($p<0.05$) に低下したのに対しプラセボでは低下が認められなかった。以上の結果から、これらの LKM512-Y 投与効果は腸管内で生成された PA の作用、すなわち腸管粘液分泌促進によるバリアー機能回復、炎症性サイトカインの誘導抑制および抗変異原作用に依存する可能性が示唆された。

1 3 ¹⁵N 標識リジンを用いてダイズ発芽時のポリアミン代謝の解析

○大江正人¹, 佐々木ひとみ², 新津 勝², 松崎 茂¹

¹獨協医科大・生化学、²城西大・薬学

[序] ポリアミンは植物の成長と分化に関与しており、又、環境のストレスに対してポリアミンの生合成系は鋭敏に応答することが知られている。植物ホルモンと光は、植物の成長、分化及びポリアミン代謝に重要である。前回、我々は ¹⁵N 標識プトレッシンを用いてダイズ発芽時のポリアミン代謝の解析を報告した。ここでは、¹⁵N 標識リジンを用いて、ダイズ発芽時の違った発芽段階で、違った器官での ¹⁵N-リジン由来の ¹⁵N-カダベリン量と内存性のカダベリン、プトレッシン、スペルミジン、及びスペルミン量を調べた。その結果、リジンからリジン脱炭酸酵素によって脱炭酸され、カダベリンが生成する代謝を解析した。

[方法] ¹⁵N-リジン溶液にダイズの種を 18 時間浸した。¹⁵N-リジンを取り込んだ種を、一つのグループは日光の下及び、他のグループは暗所で発芽させ、違った発芽の段階で、それぞれ違った器官で、¹⁵N-カダベリン量そして、内存性のカダベリン、プトレッシン、スペルミジン及びスペルミン量を IS-MS 法で測定した。

[結果と考察] 根においては ¹⁵N-カダベリンは、内存性のプトレッシンと同等の量が生成されていた。shoot(芽)においては、¹⁵N-カダベリンは重量当たり根よりも少ないが生成されており、その量は内存性のカダベリン、プトレッシン、スペルミジン、及びスペルミンに比べ少なかった。子葉では全く生成が見られなかった。根においては内存性のカダベリンが他のポリアミンに比べ非常に多く存在した。¹⁵N-カダベリンのパーセント、即ち、 $(^{15}\text{N-カダベリン} / ^{15}\text{N-カダベリン} + ^{14}\text{N-カダベリン}) \times 100$ 、を計算したところ、shoot(芽)において、¹⁵N-カダベリンのパーセントは根よりも非常に大きかった。Shoot(芽)での ¹⁵N-カダベリンのパーセントは、発芽の違った段階で明らかに変化がみられた。

14 ポリアミンによるダイズの根粒形成制御について

○寺門 純子^{1,2}, 藤原伸介¹

¹ 中央農業総合研究センター、²学振・科技特

根粒菌の感染によりマメ科植物の根に形成される根粒は、宿主植物によって形成の制御がおこなわれている。しかしながら、根粒形成の制御に関わる物質は未だ明らかにされていない。ポリアミンは、近年高等植物において成長制御物質として注目されており、細胞の増殖や分化、形態形成さらに各種環境ストレスの応答成分としての機能が知らされている。本研究では、マメ科植物のポリアミンが根粒形成とどのように関連しているか調べる目的で、ダイズの根粒超着生ミュータント (En6500) とその親品種エンレイを用い、根粒菌接種の有無によるポリアミン濃度の比較を行った。また、ポリアミンの根粒形成への影響を調べるために、これらの植物体の地上部にポリアミン (プトレシン、スペルミジン、スペルミン) およびスペルミジン合成阻害剤 (MDL 74038) を処理し、根の発達および根粒数への影響を調べた。

結果

根粒が形成される時期になると、エンレイと比較して En6500 の全ての器官においてプトレシン含有率の著しい増加、さらにスペルミジン含有率の低下が確認され、En6500 におけるプトレシン濃度の調節はスペルミジンへの代謝移行の段階で制御されている可能性も考えられた。さらに、これらの植物体の地上部にポリアミンを処理した結果、プトレシン処理区においてはエンレイ、En6500 とともに根粒数への影響はほとんど確認されなかったが、スペルミジンおよびスペルミン処理区では En6500 においてのみ著しい根粒形成の抑制および根の発達抑制が確認された。一方、エンレイの地上部にスペルミジン合成阻害剤を処理した結果、コントロール区と比較して根粒形成の増加が確認された。以上の結果から、ダイズにおいてはポリアミン、特にスペルミジンおよびスペルミンが根粒形成の制御に関わる可能性が示唆された。

1 5 塩ストレス環境下のイネにおけるポリアミンの機能 ーポリアミン合成阻害剤とパラコート処理による検討ー

○山本昭洋¹・沈利星¹・藤原伸介^{1,2}

¹筑波大学応用生物化学系、²中央農業総合研究センター・栄養診断研究室

植物は移動手段を持たないため、様々な環境ストレスに対して適応することができない場合には大きな障害を受ける。ストレスに対する適応機構には多くの生体内成分の関与が報告されているが、ポリアミンもその中の一つである。そこで本研究では、塩ストレス環境下のイネにおいてポリアミンがどのような機能を果たしているか解析することを目的とした。

イネ実生(2葉期)に2 mmol/Lに調製したDFMAとDFMOの混合溶液(pH 7.0/0.05% Tween 20)を葉面に散布処理し、根部からは塩処理(100mM)を行った。処理前および処理後1、2、3日目にストレス指標として第2葉葉身部のクロロフィル蛍光(\square II)の測定を行った。同時に、採取した試料は凍結乾燥後ポリアミン分析に用いた。処理後1日目に阻害剤処理区ではプトレシンとスペルミジンの減少が確認され、塩処理により減少の程度は強まった。阻害剤単独処理ではストレス指標 \square IIの低下は確認されず、阻害剤と塩処理を行った区においては \square IIの低下が認められた。また、 \square IIの低下がみられた区にプトレシンを同時に処理すると、その低下が起こらないことがわかった。続いて、塩ストレスと同様活性酸素種による酸化障害を引き起こすビピリジウム系除草剤(スーパーオキシド発生剤)のパラコートを用いてポリアミンの機能について検討した。第2葉葉身部の葉片にパラコートとポリアミンを同時に処理したところ、パラコートによるクロロフィルの破壊が抑制された。その効果はスペルミジンとスペルミンで高かった。パラコート処理を先に行った後にポリアミン処理をした場合にもこの抑制効果はみられたが、その効果は同時処理よりも低く、またこの場合にはプトレシンが最も効果的であった。

以上の結果から、塩ストレス環境下のイネにおいてポリアミンは体内で過剰生成した活性酸素種による障害を防御する機能を有することが示唆された。

1 6 植物の抵抗性反応におけるスペルミンのシグナル伝達過程

○高橋芳弘¹, Thomas Berberich², 宮崎 厚¹, 草野友延¹

¹東北大院・生命科学, ²ゲーテ大

植物は自分自身で移動することができないため、不都合な環境から逃げ出すことができず、様々なストレスにさらされている。そのため、植物は進化の過程で悪環境から自分自身の身を守る仕組みを獲得してきた。その代表的なものの一つに病原体に対しての植物の防御反応があげられる。抵抗性遺伝子を持つ植物では病原体の感染を特異的に認識後、すぐに細胞死を伴う一連の防御反応を誘導する。この反応は過敏感反応（HR）とよばれ、植物の抵抗性反応において最も重要かつ特徴的な反応である。近年、抵抗性遺伝子（*N* 遺伝子）を持つタバコ葉にタバコモザイクウイルスを接種すると、細胞間隙のスペルミン量が上昇すること、さらに健全タバコ葉をスペルミンで処理すると PR（pathogenesis-related）遺伝子の発現誘導や、ウイルス抵抗性が増大することが示された。このことは、ウイルス抵抗性にスペルミンが重要な役割を果たしていることを強く示唆した。

前回の研究会では、スペルミン特異的に HR のマーカー遺伝子群が誘導されることを報告した。今回、更なるスペルミンのシグナル伝達過程、特にタンパク質のリン酸化、脱リン酸化の関与を調査した結果、スペルミン特異的に活性化する 46-kDa の MAP キナーゼが存在することが明らかとなった。この MAP キナーゼは、病原体に対する抵抗性反応や、過敏感細胞死に重要な働きをしていることが示唆されている SIPK（salicylic acid-induced protein kinase）と WIPK（wound-induced protein kinase）であり、MAP キナーゼ活性化には、カルシウムと活性酸素種が関与することが示唆された。さらに、前回報告した HR マーカー遺伝子群がこの MAP キナーゼ活性化の下流に位置する遺伝子群であるのかを検討したので合わせて報告する。

17 スペルミン応答性ジンクフィンガー遺伝子 *ZFT* の解析

○上原由紀子¹, 高橋芳弘¹, Thomas Berberich², 宮崎 厚¹,
草野友延¹

¹東北大院・生命科学, ²ゲーテ大

高等植物は一定の場所から動けないため、独自の病害抵抗性を発達させている。抵抗性のある植物では、特定の病原体に感染すると、感染部位の細胞が過敏反応（HR）と呼ばれる細胞死を起こして病原菌を封じ込めるとともに、様々な防御反応が誘導されることが知られており、これらの一連の反応には、サリチル酸、ジャスモン酸、エチレン等のシグナル分子が関与していることが明らかとされている。近年の様々な研究により、植物の抵抗性反応にスペルミンが重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その詳細は明らかにされていない。

そこで我々はスペルミンの機能をさらに明らかにするため、スペルミン処理したタバコ葉から作製した cDNA ライブラリーを使用し、ディファレンシャル・スクリーニングによりスペルミン応答性遺伝子の単離を行った。その結果、ジンクフィンガー型の転写因子をコードすると思われる *ZFT* が単離された。*ZFT* の発現誘導はスペルミンでのみ特異的に起り、その前駆体であるプトレッシンやスペルミジンでは起こらなかった。また、*ZFT* 発現はサリチル酸、ジャスモン酸、エチレンといった他のシグナル分子では誘導されずに、スペルミンによってのみ特異的に誘導された。さらに、*ZFT* のスペルミンによる発現誘導は抗酸化剤を前処理することにより抑制された。これらの結果から、スペルミンによる発現誘導のシグナル伝達過程には活性酸素種が関与していることが示唆された。また、抵抗性遺伝子 (*N* 遺伝子) を持つタバコ葉をタバコモザイクウイルス (TMV) で処理すると、*ZFT* の発現が誘導された。よって、病原菌に対する抵抗性反応におけるスペルミンと *ZFT* の関与が示唆された。

1 8 キラルな大環状ポリアミンアルカロイドの合成研究

○ 松山春男・横井 清・瀬川真由美・関 千草・武田新一
室蘭工大

1. スペルミンやスペルミジンのようなポリアミンは、植物細胞中でケイ皮酸との共役付加反応により様々な生理活性を示す大環状アルカロイドを生成している。13員環のスペルミジンアルカロイド（セラシニン）、8員環のラクタム骨格を二つ有するスペルミンアルカロイド（ホマリン）など、(S)- β -アミノ- β -フェニルプロピオン酸部分を骨格に含んだ天然ポリアミンアルカロイドの一群は、植物より単離され、抗腫瘍活性や血圧降下作用を示すことから、近年それらのキラル合成に興味もたれている。私たちは光学活性ビニルスルホキシドから得たキラルな環状ヒドラジン誘導体を利用して、13員環のアルカロイド(S)-セラシニンおよび(S)-ホマリンを合成している。

2. 今回、入手容易なキラル化合物であるN-シンナモイル(1S)-2,10-カンファースルタムを利用して、アルカロイド全合成の中間体である環状ヒドラジン誘導体の合成を検討した。6員環ヒドラジンとN-シンナモイル(1S)-2,10-カンファースルタムとの共役付加反応はTHF溶媒中室温で速やかに進行し、(S)配置の環状生成物が化学収率96%(42% e.e.)で得られた。 -78°C での6員環ヒドラジンのリチウムアミドとの反応では、エナンチオマー過剰率は60% e.e.とわずかに向上した。環状ヒドラジンが共役付加する遷移状態では、環状ヒドラジンは立体障害の少ないスルタム環の下側から反応し共役付加-環化して、(S)配置の生成物を与えたと推定される。5員環ヒドラジンとの反応では(S)配置の環状生成物を化学収率43%(44% e.e.)で得た。これら環状ヒドラジン誘導体を還元・環拡大すると9および8員環のアザラクタムが得られ、セラシニンおよびホマリンの型式的全合成が完成する。また、17員環アルカロイドである(S)-プロトベルピンの合成も検討したので報告する。

19 プテリジン-ポリアミン複合体と DNA との相互作用

○陳 寧、村田 静昭

名古屋大学大学院環境学研究科・CREST 科学技術振興機構

DNA では、スペルミンなどのポリアミンの電荷中和相互作用による凝縮が起こり、溶液中で鎖が伸びきったコイル状態から鎖が強く折り畳まれたグロビュール状態へと単分子変化する。この現象はクロマチン形成など核酸科学における謎を解き明かす鍵の一つとして注目されている。一方、ビオプテリン補酵素関連代謝物として天然 A 型プテリジン-ポリアミン複合体であるオンコプテリンがガン患者特異的に見つかっている。我々は、これら二つをベースにプテリジンの 2 位および 4 位にスペルミンおよび 1,3-ジアミノプロパンが結合した A 型および C 型プテリジン-ポリアミン複合体を合成し、T4 フェージ DNA および λ -DNA との相互作用を蛍光顕微鏡観察および融解温度測定などに基づいて調べた。ポリアミンによる DNA 凝縮は、リン酸の負電荷中和能力 (= アミノ基の数) に比例して強くなる。いずれの複合体も、電子求引性プテリジン環との結合のため電荷中和能力が減少しているにも関わらず、元のポリアミンと同等以上の DNA 凝縮を起こした。スペルミンのように強く相互作用する物質の存在下では二重ラセンの融解が阻害されることが良く知られているが、A 型複合体は DNA 凝縮に基づく極めて高い相互作用を示すにも関わらず融解を阻害しない。これに対し、C 型複合体では DNA に作用することによって DNA 鎖上に部分的な凝縮構造を形成し、融解に影響を与え段階的に起こることが分かった。以上のように、今回合成した複合体は、凝縮研究に基づいて考えられていた従来のポリアミンと DNA の相互作用を覆す幾つかの知見を提供した。さらに、A 型複合体は DNA 凝縮剤と蛍光色素としての二つの機能を併せもち強く凝縮した部分のみ可視化することができるために、遺伝子操作などにおける新しい DNA 取り扱い技術要素としての応用が期待されている。

2 1 高度好熱菌 *Thermus thermophilus* のポリアミン生合成系遺伝子の逆遺伝学的解析

○大沼みお¹, 照井祐介¹, 永井瑞恵¹, 伊藤浩美¹, 玉腰雅忠¹, 千年絢¹, 関根亜希子¹, 江郷彩子¹, 三荷理一郎¹, 新津勝², 鮫島啓二郎², 大島泰郎¹

¹東薬大・生命, ²城西大・薬

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* は、プトレスシン、スペルミジン、スペルミン等、全部で 16 種ものポリアミンを生産する。これらの中には、ペントアミン、ヘキサアミン等の長直鎖型や、三級、四級アミンを持つ分岐型ポリアミンも含まれる。長直鎖・分岐型ポリアミンは、より高温での培養で細胞内含有率が増加し、*in vitro* においても核酸の保護効果やポリペプチド合成を促進する効果大きい。よって、長直鎖・分岐型ポリアミンは、*T. thermophilus* が高温で生育するのに重要と考えられる。*T. thermophilus* のポリアミン生合成系遺伝子の欠損株を作製し、形質の解析をすることにより、この菌のポリアミンの生理機能と生合成経路を明らかにしようと試みた。

ホモロジーサーチにより、*T. thermophilus* ゲノムにアルギニン脱炭酸酵素、アグマチンウレオヒドラーゼ、S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素、スペルミジン合成酵素の相同遺伝子（それぞれ *speA*, *speB*, *speD*, *speE*）を見いだした。オルニチン脱炭酸酵素の遺伝子、*speC* 相同遺伝子は見つからなかった。

T. thermophilus はカロテノイド色素を生産し、特有の黄色いコロニーを形成するが、*speA*, *speB*, *speD*, *speE* 遺伝子の欠損株において淡色のコロニーを形成した。また、*T. thermophilus* は、最小培地・78°C で生育するが、欠損株はどれも生育することができなかった。この培養に、四級分岐型ポリアミン、Taa を培地に添加したところ、生育の回復がみられた。以上より、*T. thermophilus* のカロテノイド色素合成には、ポリアミンが関与すること、高温での生育には Taa が重要な役割を果たしていることが考えられた。さらに、欠損株の細胞内ポリアミン組成を解析した結果とあわせ、この菌のポリアミン生合成経路を考察する。

2 2 Compost 由来新種高度好熱菌 YMO81 の特異的ポリアミンの解析

○井上永子、照井祐介、森屋利幸、彦田智久、大島泰郎
東薬大・生命

有機廃棄物処理方法のひとつに Compost を用いる方法がある。この処理法は環境にやさしく、コストも低いため注目されているが、その過程には発酵が起こり内部温度は 80℃ 近くまで上昇がみられ、好熱菌が関与することが知られている。本研究で用いた YMO81 は発酵温度が一般的なものより高い高温型 Compost から単離された。この菌は好気性の長桿菌であり生育温度が 56~83℃、至適 pH7.5、至適生育温度 78℃ である。16S rRNA 塩基配列に基づく系統解析では *Geobacillus stearothermophilus* に最も近縁でその相同性は 91% であった。しかし YMO81 はグラム陰性菌であり、孢子形成が見られず *Geobacillus* に分類できない。従って、新属新種の高度好熱菌であると同定された。また、YMO81 の株違い YMO 803, 806, 811v, 813, 814 も同じ Compost から単離された。

好熱性真正細菌や好熱性古細菌には分岐型や長直鎖型のポリアミンが多く存在する。そこで、細菌の系統進化とポリアミン合成系の関係を考察するために、新属新種 YMO のポリアミンを TCA 抽出し、精製したものを HPLC と NMR で分析した。YMO81 は分岐型四級ペントアミン[3(3)(3)4]を主とし、前駆体と考えられるプトレスシン[4]、スペルミジン[34]、分岐型三級ペントアミン[3(3)4]も微量成分として検出された。YMO81 と株違いである YMO806, 811v などはポリアミン組成比が明らかに違うことから大変珍しい菌種だと考えられる。また、本菌のポリアミン構成は *Thermaerobacter marianensis* と似ているが、数℃の温度差でも[3(3)(3)4]の量は変わらず、[3(3)4]などが大幅に増えるなどポリアミン組成が変わる菌種でもあり、大変興味深い菌だといえる。

2 3 真菌類の系統分類とポリアミン構成

○浜名康栄¹、大塚恵美子¹、新津 勝²

¹群馬大・医、²城西大・薬

真菌類の、子のう菌門や担子菌門や接合菌門に属するキノコ、カビ、コウボ、のポリアミン構成を解析し、18S rRNA 塩基配列による系統樹と対比させた。

人工栽培および天然採集のキノコ(160 種)の子実体より 5%過塩素酸抽出後、陽イオン交換カラムにてポリアミン画分を濃縮・精製し、陽イオン交換 HPLC 分析を行った。CM-セルロースカラムで精製後、GC-Mass 分析も行った。発酵性または病原性のコウボ(42 種)およびカビ(39 種)では、液体培養による菌体や菌糸から酸抽出後のポリアミン画分を HPLC 分析した。

子のう菌門の古生子のう菌(綱)分裂酵母 *Schizosaccharomyces*、半子のう菌(綱)酵母 *Candida*、*Saccharomyces*、*Zygosaccharomyces*、産膜酵母 *Pichia* などはプトレスシン、スペルミジン、スペルミン。真正子のう菌(綱)黒色酵母 *Exophila* はプトレスシン、スペルミジン、アグマチン。担子菌門の *Cryptococcus*、射出胞子酵母 *Bullera*、*Rhodosporidium*、赤色酵母 *Rhodotorula* などはプトレスシンとスペルミジン。子のう菌門真正子のう菌綱のカビ(*Aspergillus*、*Eurotium*、*Neurospora*、*Penicillium* など)、担子菌門きんじん綱のカビ(*Trichosporon* など)、接合菌門接合菌綱のカビ(*Mucor*、*Absidia*、*Cunninghamella*、*Rhizopus* など)ではプトレスシン、スペルミジン。真正担子菌(綱)の帽菌目キノコではスペルミジンのみ(シイタケなど)、スペルミンとアグマチン(ハタケシメジなど)、ホモスペルミジンとカナバルミン(アカジコウなど)、ノルスペルミジンとノルスペルミン(ニガグリタケなど)など多様。腹菌目キノコのキクラゲや異形担子菌(綱)キノコのホコリタケではジアミン類、アグマチン、スペルミジン、ホモスペルミジン。子のう菌門の盤菌綱キノコ(チャワンタケなど)や核菌綱キノコ(トウチュウカソウなど)でもスペルミジンの他にホモスペルミジンを含有していた。

2 4 *Thermus thermophilus* 由来ポリアミンアミノプロピル基転位酵素の結晶構造解析

○雁部忠¹, 大沼みお², 佐藤孝雄¹, 熊坂崇¹, 大島泰郎²,
田中信夫¹

¹東工大院生命理工, ²東薬大生命

Thermus thermophilus は一般的なポリアミンであるプトレッシン、スペルミジン、スペルミン以外に長直鎖型や、分岐型の特異的なポリアミンを持つことが知られている。これらの特異的なポリアミンは、スペルミンなどに比べ核酸類を安定化する効果が高く、また、高温条件下で細胞内含量が増加することから、この菌の耐熱性に関与していると考えられる。

本酵素は、スペルミジン合成酵素として *T. thermophilus* からクローニングされた酵素である。スペルミジン合成酵素は、脱炭酸化 S-adenosylmethionine のアミノプロピル基をプトレスシンへ転移しスペルミジンを合成する。しかし、TtPAPT は、スペルミジン合成酵素とは異なり、アミノプロピル基のアクセプターとしてプトレッシンではなく、スペルミジンやノスペルミジンが主に使われることがわかった。また、分岐型ポリアミンに関しても本酵素の関与が示唆されている。

そこで、本研究では、*T. thermophilus* 由来ポリアミンアミノプロピル基転位酵素の立体構造から、基質特異性を解明することを目的とし、結晶構造解析を行なっている。

大腸菌内で大量発現させた試料を精製し、蒸気拡散法により結晶化を行なった。構造解析は、*Thermotoga maritima* 由来スペルミジン合成酵素(相同性 34%)をモデルとした分子置換法により行なった(PDB code 1UIR)。

2 5 スペルミジン合成酵素及びスペルミン合成酵素におけるアミノプロピル基転移反応機構の解析

○池口文彦¹、Aled Edwards²、Anthony E. Pegg³

¹城西大・薬、²トロント大、³ペンシルバニア州立大・医

【目的】 スペルミジン合成酵素(Spdsyn)及びスペルミン合成酵素(Spmsyn)は、脱炭酸化アデノシルメチオニン(deAdoMet)及び、プトレシン(Put)またはスペルミジン(Spd)からそれぞれスペルミジン(Spd)またはスペルミン(Spm)を生成するタンパク質である。我々はX線構造解析により*Thermotoga maritima* Spdsyn(*TmSpdsyn*)の三次元構造を明らかにした。本研究では部位特異的変異の導入などにより、*TmSpdsyn*及びヒトSpmsyn(*hSpmsyn*)のアミノプロピル基転移反応機構の解析を試みた。

【方法】 変異酵素は変異遺伝子を含むプラスミドを大腸菌に導入・発現させ、精製し、各種測定に用いた。Spdsyn及びSpmsyn活性測定法は既報に従った。

【結果・考察】 *TmSpdsyn*のD170A及びD173A変異では、活性が野生型の0.1、0.4%にまでそれぞれ減少した。Putに対するKmについて、野生型の19 μ Mに対し、D170A及びD173A変異ではそれぞれ4500、850 μ Mにまで増加し、D170及びD173はPutとの結合に重要なアミノ酸残基であることが示唆された。一方、*hSpmsyn*のD276N及びE353Q変異では、活性がそれぞれ野生型の0.01、2.0%にまで減少した。Spdに対するKmについて、野生型の0.8mMに対し、D276N及びE353Q変異ではそれぞれ15、14mMと増加し、D276及びE353はSpdとの結合に重要なアミノ酸残基であることが示唆された。また、アデノシルメチオニン(AdoMet)のメチル基をPutに転移するプトレシン-N-メチル転移酵素(PNMT)のアミノ酸配列との比較により作成した6アミノ酸変異*TmSpdsyn*は、deAdoMetよりもAdoMetと強く結合することが、HPLC分析により示唆された。

2 6 哺乳動物スペルミジン合成酵素 –システイン残基の同定と阻害化合物–

○ 渡辺寿子、合田ひとみ、和田牧子、白幡 晶、鮫島啓二郎
城西大学薬学部

[目的] X線結晶構造解析によるスペルミジン合成酵素 (spd syn) の立体構造は、*T. maritima*, *B. subtilis*, *P. furiosus*, *T. thermophilus* などの微生物で報告されている。これらの結果を参考にして哺乳動物由来 spd syn の立体構造を推測するために、含まれる 10 個のシステイン残基が SH か SS かを同定するとともに、阻害を指標にした各種化合物の検索によりプロテイン結合部位構造に関する情報を得ることを目的に本研究を行った。

[実験方法] ラット spd syn は前立腺から既報により精製したものをを用いた。システイン残基の同定法は、DTT 存在下または非存在下で酵素を変性し、カルボキシメチル化して SH と SS を区別することを基本に、限定加水分解酵素により得られるペプチドを MALDI TOF-MS で測定し比較検討した。また、2-nitro-5-thiocyanobenzoic acid (NTCB) を用いるシステイン残基での化学的切断法も活用した。阻害性を調べるための市販品以外の各種化合物は、既知阻害剤の *n*-butylamine と *trans*-4-methylcyclohexylamine(4MCHA)をモデル化合物としてデザインし、当研究室で化学合成した。

[結果] システイン残基の同定 10個のシステイン残基(C25, C71, C89, C123, C204, C205, C209, C224, C236, C251)のうち、C71, C123, C204, C205, C209, C224 はSHであり、C25はSSであることがわかった。C89, C236, C251についてはSSよりはSHの可能性が示唆されており、目下検討中である。 阻害性化合物の検索 5-amino-1-pentene (APE) が 4MCHA と同等な阻害性を示した。4MCHA アナログについてはいずれも 4MCHA より弱く、自由度のあるアルキルアミンで長さや末端構造が阻害性に影響した。

[考察] C25 と SS 結合をしているシステイン残基が検出されなかったことは、微生物 spd syn の立体構造と対比して、ダイマーの C25 同士で SS 結合していることが考えられた。

2 7 スペルミジン合成酵素阻害剤の連続投与によるラット組織中ポリアミンの調節

○ 小林正樹、渡辺寿子、合田ひとみ、新津 勝、鮫島啓二郎
城西大学薬学部

[目的] われわれは、スペルミジン合成酵素(spdsyn)阻害剤である trans-4-methylcyclo-hexylamine (4MCHA)を飲料水に溶かし自由に飲ませることにより、ラット組織中スペルミン (spm) 濃度が上昇し、スペルミジン (spd) 濃度が減少することをすでに報告した。本研究は、in vitro で 4MCHA と同等の阻害効果を示した 5-amino-1-pentene(APE)の in vivo における阻害効果を比較検討するとともに、4MCHA の連続経口投与(4 週間)により、spm/spd 比が正常より高値で維持されるかどうかを調べることを主な目的として行った。

[実験] 4MCHA は市販の cis/trans 混合物を塩酸塩として再結晶を繰り返し、trans のみであることを確認して用いた。APE、¹⁵N-標識ポリアミンなどは既報に従い当研究室で合成したものを用いた。ポリアミンの測定は、既報の IS-MS 法に新たにオートサンプラーを装着して行った。ラットはドンリュウ (♂) 6 週齢を購入して用いた。4MCHA の投与実験では毎日一回経口投与し、投与量は平均体重の増加に見合わせて各週毎に増量した。

[結果と考察] 4MCHA と APE の阻害効果の比較 in vivo では APE の阻害効果は全く見られず、これはアミン酸化酵素により分解されたためと考えられた。4MCHA の投与量 10, 50, 100 μ mol/day/rat で7日間体重変化を調べたところ、10 μ mol 投与群ではコントロール群と変わらなかったのに対し、100 μ mol 投与群では著しく体重増加が抑えられた。4MCHA の連続投与 この結果に基づき、今回は、体重変化に影響がなく組織内ポリアミン含量に影響が見られる 30 μ mol/day/rat で連続投与を行い、小腸、肝臓、脾臓、腎臓について各週毎にポリアミン濃度および ¹⁵N-ポリアミンの取り込み量を測定した。コントロール群とくらべて、spd は各臓器で減少が見られたが、spm はわずかな増加に止まり、spm + spd は減少した。また、投与群のポリアミン取り込み量は下がる傾向が認められた。

2 8 *Selenomonas ruminantium* に見出されたリジン脱炭酸酵素の分解を促進する” 22-kDa タンパク質” の諸性質

○ 山口良弘、高塚由美子、神尾好是
東北大院農・生物産業創成

【目的】

グラム陰性の偏性嫌気性細菌 *S. ruminantium* のペプチドグリカンにはカダベリンが共有結合しており、細胞分裂に必須の構成成分である。我々は今までに、本菌のカダベリンを供給するリジン脱炭酸酵素 (LDC) が、真核生物のオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) と高い相同性を有すること、菌体生育の定常期初期に酵素タンパク質の分解により活性が急激に低下すること¹⁾、本酵素の分解には ATP 依存性プロテアーゼが関与し、LDC に結合する 22 kDa タンパク質 (P22) が分解促進因子として作用すること、さらに P22 は、リボソームタンパク質 L10 と相同性を有することを報告してきた。今回、P22 の諸性質について解析したので報告する。

【方法・結果】

菌体生育の各時期における P22 の菌体内量を解析した結果、LDC の分解が起こり始める O.D. 660 =1.8-2.2 まで上昇し、その後急激に減少していた。よって P22 は、LDC と共に分解していることが示唆された。LDC と P22 の相互作用を解析した結果、 $K_D = 8.5 \mu\text{M}$ であった。大腸菌の転写因子とコア酵素の K_D は $25 \mu\text{M}$ であることから、LDC と P22 は菌体内で相互作用していると考えられた。ウサギ網状赤血球溶血液を用いた ODC 分解系における LDC の分解を調べた結果、LDC は ODC と同様に分解され、P22 およびマウスアンチザイムの添加により分解は促進された。さらに、マウス ODC で調節因子アンチザイムとの結合に重要な塩基性部位を変異させた LDC は P22 と結合しないことから、P22 はアンチザイムと同様に塩基性部位と結合していることが示唆された。この変異 LDC は ODC 分解系または LDC 分解系のいずれにおいても LDC と比べて 20% 程度しか分解されなかった。現在、22-kDa タンパク質の作用機構をさらに詳しく解析している。

2 9 偏性嫌気性細菌 *Selenomonas ruminantium* のポリアミン代謝と関連酵素 S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素の解析

○ 矢吹知佳子、山口良弘、高塚由美子、阿部直樹、神尾好是
東北大院・農・生物産業創成

【目的】先に我々は、グラム陰性細菌 *S. ruminantium* のペプチドグリカン結合型カダベリンの合成に関与するリジン脱炭酸酵素 (LDC) が、真核生物オルニチン脱炭酸酵素 (ODC) と同起源で ODC 活性も有し、プトレシン合成にも重要なこと、LDC に結合する 22 kDa タンパク質が分解促進因子として作用し、その発現量はポリアミンにより調節されること、また、本菌には大腸菌で知られる第二のプトレシン合成経路が存在することを報告してきた。そこで、本菌におけるポリアミン代謝経路の解明を目的として菌体内ポリアミン濃度を測定し、S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素 (SAMDC) の精製及び諸性質の解析を行ったので報告する。

【方法と結果】*S. ruminantium* の生育段階における各ポリアミンの菌体内濃度を測定した。その結果、本菌はスペルミンを有することが明らかとなった。また、各ポリアミン濃度は、スペルミジンが対数増殖期、カダベリンが定常期初期でそれぞれ最大値 3.8 mM、4.32 mM を示し、その後速やかに減少したことから、スペルミジン合成も厳密に調節されていることが示唆された。そこで、スペルミジン合成に関与する SAMDC の精製を試みた。対数増殖期の菌体破碎液を Butyl-Toyopearl に供した結果、吸着および非吸着画分の両画分で SAMDC 活性が検出され、2種類以上の SAMDC 活性を有する酵素が存在することが示唆された (吸着画分を SAMDC I、非吸着画分を SAMDC II とした)。SAMDC II を Phenyl-5PW に供し、比活性 537 倍まで精製を行い諸性質を検討した結果、活性にピリドキサルリン酸を要求し、既知の SAMDC とは性質が異なることが示唆された。現在、SAMDC II の精製および諸性質の検討を行っている。

3 0 カダベリン輸送タンパク質 CadB の機能と活性発現に関わるアミノ酸残基の同定

- Waraporn Soksawatmaekhin、小林 名都子、柏木 敬子、
五十嵐 一衛
千葉大院・薬

我々は大腸菌のプトレスシン・オルニチンアンチポーターPotE の構造と機能を明らかにしてきた。塩基性アミノ酸とその脱炭酸化物のアンチポーターとしては他に、カダベリン・リジンアンチポーターCadB が存在する。*cadB* 遺伝子が含まれる *cadBA* オペロンは *cadB* と誘導性リジン脱炭酸酵素遺伝子 *cadA* からなり、その上流に *cadBA* オペロンの positive regulator *cadC* 遺伝子が存在する。本研究では CadB の機能と *cadBA* オペロンの生理的な役割を検討し、CadB の活性発現に関わるアミノ酸残基の同定を試みた。

CadB はカダベリン・リジンアンチポーター活性だけでなくプロトン駆動力依存性のカダベリン取り込み活性を有しており、中性条件では、ポリアミン生合成欠損株 MA261 の細胞増殖がカダベリン取り込みによってわずかに促進された。酸性条件で培地にリジンが存在すると *cadBA* オペロンの誘導が起り、CadB はカダベリン・リジンアンチポーターとして、リジンを取り込み、リジン脱炭酸酵素(CadA) によってリジンからカダベリンを合成する。CadB がカダベリンを細胞外に排出することにより、環境の中性化と CO₂、カダベリン及びアミノプロピルカダベリンの利用により、細胞増殖の促進が認められた。更に、CadB によるアンチポーター活性によりプロトン駆動力の生成を引き起こすことが明らかとなった。次に、CadB 中の取り込み及びアンチポーター活性に関わるアミノ酸残基を同定した。その結果、Tyr73、Tyr89、Tyr90、Glu204、Tyr235、Asp303、Tyr423 は両活性に Trp43、Tyr57、Tyr107、Tyr366、Tyr368 は取り込み活性にのみ重要であった。両活性に関わるアミノ酸残基は細胞質側に集中しており、取り込み活性のみに関わるアミノ酸残基は膜貫通領域に集中していることが明らかとなった。

3 1 スペルミジンとアクロレインの反応生成物について

○新津 勝、内田晃司、大谷武司、合田ひとみ

城西大・薬

【目的】アクロレインは脂質過酸化反応やアミン酸化酵素によるポリアミン酸化から生成するとされる反応性の高い不飽和アルデヒドであり、蛋白質中のリジン残基に2分子のアクロレインが結合した環状物質を生成することが知られている。演者らがアクロレインとアミノ酸やポリアミンの反応性を調べたところ、ポリアミンは比較的高い反応性を示したことから、生体試料中にもアクロレインが結合したポリアミン化合物の存在が予想される。そこで、ポリアミンとアクロレインの反応生成物に関する基礎的な知見を得るために本実験を行った。

【実験】スペルミジン(25mM)とアクロレイン(25mM)を0.1Mリン酸塩緩衝液(pH7.4)で1時間反応させ、反応溶液の逆相イオン対HPLC分析を行った。また、強酸性陽イオン交換カラムで反応生成物を分離しNMR分析を行った。さらに、生成物をNaBH₃CNで還元し、HFB誘導体とした後GC分析を行った。

【結果】イオン交換カラムで分取した生成物のNMR分析から、主生成物はN-(3-formyl-3,4-dehydropiperidino)-spermidine (FDP-Spd)であり、また少量であるがN-(2-methylpyridinium)spermidine (MP-Spd)も確認された。いずれの生成物からもアミノブチル基よりアミノプロピル基の方がアクロレインとの反応性は高いことが示唆された。また、GC分析においては、還元中の副反応に起因すると考えられる多種類のポリアミンが検出された。そこで、ホルミル基のラベル化試薬として2,4-DinitrophenylhydrazineとDMEQ-Hydrazideを用いてHPLC分析を検討中である。

3 2 特異モノクローナル抗体を用いた電顕免疫組織化学によるポリアミンの細胞内局在

○進 正志、藤原邦雄
崇城大・工

【目的】従来、ポリアミン (PA) の電子顕微鏡レベルにおける細胞内局在に関しては神経細胞についての報告がなされている (Fujiwara et al., J Histochem Cytochem, 46(11): 1321-1328, 1998)。そこで今回、神経細胞以外での PA の細胞内局在を電顕免疫組織化学的に検討した。また、微細構造の保存に優れているカルノフスキー固定液 (Krv) で固定した試料を用いて PA の細胞内局在のより詳細な検討を行った。

【方法】成雄ラット (200~250 g) をグルタルアルデヒド固定液 (GA) または Krv で灌流固定して組織を摘出し、マイクロスライサーで 50 μ m 厚の切片とし、一次抗体として GA 固定試料については ASPM29 モノクローナル抗体 (mAb) を、Krv 固定試料については ASPD19 mAb を用いて、「pre-embedding」法により免疫組織化学染色を行った。その後、定法に従ってエポン包埋超薄切片を作成し、電顕観察を行った。

【結果・考察】GA 固定の十二指腸では、腸陰窩の上皮細胞の粗面小胞体上及び遊離のリボゾームが反応陽性であった。GA 固定の胃では、胃底腺を構成する細胞のうち主細胞、副細胞は陽性であったが、壁細胞は陰性であった。主細胞、副細胞ともに粗面小胞体上及び遊離のリボゾームが陽性であった。Krv 固定の神経細胞でも陽性部位は粗面小胞体上及び遊離のリボゾームであった。今回、神経細胞以外の異なる数種類の細胞で粗面小胞体上及び遊離のリボゾームに陽性反応が見られたこと、また、固定液や抗体など異なる条件下での検討でも同様の結果が得られたことから、PA は一般的に多くの細胞でリボゾームに局在していると考えられる。

3 3 タンパク質のプロテアーゼ消化におけるポリアミンによるペプチドC末端標識

○ 伊藤俊行、井上 学、和田牧子、杉田義昭、白幡 晶
城西大・薬

【目的】哺乳類において、摂取されたタンパク質は酵素により加水分解された後、小腸から吸収される。この際、小腸での消化の大半に関わる酵素がセリンプロテアーゼである。セリンプロテアーゼの反応機構を踏まえると、断片化されたペプチドのC末端がアミノ基を持つ化合物により標識される可能性が考えられる。本実験は消化管に存在するポリアミン(PA)がタンパク質の消化に影響を与える可能性を探る研究の一環として、*in vitro* においてC末端 PA 標識ペプチドがセリンプロテアーゼの消化に伴い生成するかどうか確認することを目的とした。

【操作・結果】モデルタンパク質として Cytochrome C (CYT C)、Hemoglobin (HB)を選び、モデルポリアミンとして蛍光PA誘導體である2-Pyridylputrescine (PyPut)を合成し、これを用いた。PyPut 存在下、CYT C あるいは HB をトリプシン、キモトリプシン、エラスターゼでそれぞれ処理した後、HPLC により蛍光ピークを分取し、PSD 分析によりアミノ酸配列を同定した。この結果、いずれの場合においても断片化ペプチドのC末端に PyPut が標識されることを確認した。その際、キモトリプシンにより生じる 1 つの標識ペプチドは、未標識ペプチドの約 1%であった。次に、この反応が生理的条件下で進行するか確かめた。また、PyPut と同様に PA でも、C 末端に標識されることを確認した。

【考察】この標識は十分に *in vivo* においても起こると考えられる。カチオン標識が高分子の吸収を促進するという報告があることから、PA 標識がペプチドの吸収・代謝に影響を与える可能性は高い。今後は、*in vivo* における標識の確認を行うとともに、腸管内で生成した PA 標識ペプチドまたは PA 標識アミノ酸の生体内における影響について細胞レベルも含めて検討する予定である。

3 4 大腸菌 RF2 の+1 frameshift に対するポリアミンの効果

○東 恭平、柏木 敬子、五十嵐 一衛
千葉大院・薬

我々はポリアミンにより翻訳レベルで合成が促進される遺伝子群 (ポリアミンモジュロン)として、オリゴペプチド結合蛋白質 OppA、アデニル酸シクラーゼ Cya、RNA ポリメラーゼ σ^{38} サブユニットを同定した。OppA 及び Cya の翻訳はその開始複合体形成が、 σ^{38} の翻訳は mRNA に終止コドン UAG がある場合、その suppression がポリアミンにより促進される。大腸菌ではその他に特殊な機構で翻訳される蛋白質として release factor 2 (RF2)が知られており、その翻訳は mRNA 内の終止コドン UGA での+1 frameshift (+1 FS)に依存する。本研究では *malE* レポーター遺伝子の下流に RF2 の FS site を融合させ、+1 FS 及び termination product を分子量の違いで検出できるようにしたプラスミドを構築し、ポリアミン要求性大腸菌を用いてポリアミンの有無による+1 FS の効率を比較した。その結果、ポリアミンによって+1 FS の効率が約 1.5 倍促進された。次に、RF2 の終止コドン UGA を終止コドン UAG 又は Trp コドン UGG に置換させて+1 FS に対するポリアミンの効果を検討したところ、+1 FS の効率が UAG では約 1.5 倍、UGG では約 2 倍促進された。*in vitro* 蛋白質合成系を用い、終止コドン UGA の+1 FS に対するスペルミジンの促進効果を検討したところ、スペルミジン濃度依存的に+1 FS の促進が認められた。以上の結果より、真核細胞のアンチザイムと同様に、大腸菌でも RF2 の+1 FS に対してポリアミンは促進作用を示すことが明らかになった。

3 5 樹状細胞の成熟分化に対するポリアミンの影響

○鳥越俊彦、中西勝也、上口権二郎、明田克之、田村保明、佐藤昇志
札幌医科大学・医・第1病理

＜背景＞我々はこれまで、合成ポリアミン Deoxyspergualin および Natural ポリアミンの Spermine が、腫瘍細胞の細胞表面 MHC class I レベルを低下させ、腫瘍細胞の免疫逃避メカニズムの1つとなっている可能性があることを報告してきた。癌抗原が免疫系によって認識されるためには、professional な抗原提示細胞である樹状細胞の分化、活性化が必須である。癌の免疫逃避機序におけるポリアミンの役割をさらに明らかにするため、今回我々は樹状細胞の成熟、分化に対するポリアミンの影響を解析したので報告する。

＜方法＞ヒト末梢血単核球を GM-CSF, IL-4 存在下で5日－6日間培養し、未熟樹状細胞を得た。これに LPS を添加して樹状細胞を成熟させる過程に、Spermidine または Spermine,を添加し、FACS にて種々の樹状細胞分化マーカー (CD86, CD83, CD62L, MHC class II) の発現レベルを検討した。また、細胞内 polyamine レベルを減少させる MCHA または APCHA を LPS と共に添加し、これら薬剤の影響も解析した。

＜結果＞4 μ M の低濃度 Spermidine や MCHA, APCHA は、LPS 刺激に伴う樹状細胞の成熟分化には、明らかな影響は及ぼさなかった。500 μ M の高濃度 polyamine を添加した場合の影響についてもあわせて報告したい。

腫瘍細胞に DFMO を作用させると、T細胞による細胞障害性が増強することから、癌組織に高レベルに存在するポリアミンは、癌の免疫逃避に強く関与していることが示唆され、癌免疫療法にポリアミン抑制剤を併用することの有用性が期待される。

本研究会の開催にあたり、以下の各財団、団体、企業より多大なご援助を賜りました。
心より感謝申し上げます。

伊藤医薬学術交流財団
札幌医科大学学術振興財団
北海道医師会
札幌市医師会
札幌医大医師会

賛助企業（五十音順）

株式会社タナカ
株式会社道央理化産業
関販テクノ株式会社
ベントナ・ジャパン株式会社
北海道エア・ウォーター株式会社
北海道バイオシステム株式会社
北海道和光純薬株式会社

お 知 ら せ

1. 日本ポリアミン研究会のホームページ

日本ポリアミン研究会のホームページは、事務局を担当しております千葉大学大学院薬学研究院病態生化学研究室のホームページからリンクしています。

URL : <http://www.p.chiba-u.ac.jp/lab/rinka/poly/home.html>

是非御一覧いただき、御意見・御感想等を事務局宛にお寄せ下さい。また、各種お知らせ・応募・御質問等は、事務局宛に e-mail で御連絡くだされば、随時掲載致します。どしどしお寄せ下さい。

2. 会員の皆様の e-mail アドレスを御登録下さい

重要な情報はホームページに掲載するだけでなく、e-mail でも随時お知らせしていく予定ですので、皆様の御登録をお待ちしております。御登録並びに登録アドレス変更の御連絡は事務局宛にお願い致します。

3. “Biogenic Amines” 会議（イタリア）のお知らせ

- 1) 日時：2004年5月22日（土）～5月26日（水）
- 2) 場所：Alberè di Tenna (Trento), Italy
- 3) オーガナイザー：M. A. Grillo & E. Agostinelli

4. 2004 ポリアミン国際会議のお知らせ

- 1) 日時：2004年11月28日（日）～12月2日（木）
- 2) 場所：かずさアーク（かずさアカデミアセンター；千葉県木更津市）
- 3) 主催：日本ポリアミン研究会

御連絡・お問い合わせ先

事務局担当 千葉大院・薬 五十嵐一衛

Tel: 043-290-2897 Fax: 043-290-2900

E-mail: iga16077@p.chiba-u.ac.jp