

# ポリアミン

## Polyamine

*Vol.1 No.2*  
*Oct. 2014*

巻頭言

大澤 仲昭

シリーズ ポリアミン研究

草野 友延

鈴木 秀之、栗原 新

留学体験記

植村 武史

学会より

日本ポリアミン学会

The Japanese Society of Polyamine Research

# ポリアミン Polyamine

Vol. 1 No. 2  
Oct. 2014

---

## 巻頭言

ポリアミン学会の更なる発展を 大澤 仲昭 4 0

## シリーズ ポリアミン研究

環境ストレスからの生体防御における植物ポリアミンの役割 草野 友延 4 2

大腸菌のポリアミン代謝 鈴木 秀之、栗原 新 4 7

## 留学体験記

Arizona Cancer Center に留学して 植村 武史 5 5

## 学会より

第 6 回年会のお知らせ 6 0

第 7 回年会のお知らせ 6 2

ポリアミン関連書籍出版のご案内 6 3

編集後記 6 5





# ポリアミン学会の更なる発展を

大澤 仲昭

日本ポリアミン学会 評議員

藍野大学 学長

日本ポリアミン学会の学会誌はオンライン誌なので、アナログ時代の私にとりましては扱いが苦手ということもあり、創刊号を印刷してもらいましたところ、39 頁になる立派な冊子であり、大島会長の巻頭言、五十嵐評議員の「シリーズ ポリアミン研究」をはじめ、学会関係の情報も充実しており、これで学会の基盤も整ったとうれしく思いました。小黑広報委員長をはじめ担当の皆様に厚くお礼申し上げますと共に、今後の発行が順調にいくことを心から願っております。

その第2号の巻頭言を書くことを私が依頼されました。私が適当かどうかわかりませんが、たまたま今年が私の7廻り目の当たり年ということでお引受けすることに致しました。

日本ポリアミン学会は設立されてまだ5年程しかたちませんが、その前身の日本ポリアミン研究会の長い歴史を通じて、ポリアミン研究の学際的な交流の場として、極めて大きな役割を果たしてきたことは間違いないところだと思います。創刊号では大島会長が述べられてましたように、小さな学会ではありますが、大きな学会と異なり、学会本来の目的を守り実践している日本ポリアミン学会であります。ただ欲を言えば、もう少しポリアミンに興味を持つ種々の領域の研究者、特に若手、中堅の研究者の参加が増え、学会が更に活性化されればと願っております。

このような状況は我が国の状況だけでなく、Wallace, H.M. (2004) が「The Polyamines: past, present and future」で述べておりますように、ポリアミンがすべての生物種の細胞で本質的で必須の要素であるにも関わらず、生化学や細胞生物系の広い領域でそれに値するだけの十分な注目が与えられていないと歎いています。その証拠に、1900 年以来ポリアミンに関する研究論文が 75000 以上もあり、その半分以上が 1990 年以後に発表されているにもかかわらず、標準の教科書ではほとんど述べられていないというわけです。

ポリアミン研究を更に活性化させ、生命科学や医学の領域においてその位置づけを確立するにはどうしたらよいかを検討することは、日本ポリアミン学会の重要なテーマではないかと考えられます。私自身はその一つとして、ポリアミン研究が学際的意味をもつところから、トランスレーショナルリサーチがあげられるのではないかと考えております。

日本ポリアミン学会設立シンポジウムで、私は「ポリアミンのトランスレーショナルリサーチ」と題して講演を致しました。その主旨は「ポリアミンは微生物、植物、動物、ヒトを通じて、生命の基本物質であり、その研究は学際的である。本学会はその学際性を基盤とすれば大きく発展することが期待される。トランスレーショナルリサーチはその一つである。」ということでありました。

その講演の中で私はポリアミンのトランスレーショナルリサーチで得られた成果として「腫瘍マーカーとしての尿中総ポリアミン測定法の開発」を紹介させていただきました。1980 年頃、がん





研究の領域では腫瘍マーカーの開発は非常に大きなテーマの一つでありました。1971年に Russell, D.H. らによって癌患者では尿中総ポリアミン量が増加していると報告されて以来、その測定が注目されておりましたが、尿中ポリアミンが抱合体であるためにその加水分解と分析技術が困難で実用化が不可能視されておりました。その頃東京大学今堀研究室で、その水解酵素 (Acylpolyamine amidohydrolase) が岡田博士 ((株) 徳山曹達) により取り出され、その応用が検討されておりました際、私の共同研究者で今堀研究室に出向しておりました久保田博士 (帝京平成大) に相談があり、私が内科学、特に内分泌が専門で、ホルモンの測定法の開発と臨床応用につとめておりましたこともあり、私自身はポリアミンについては十分な知識はなかったのですが、共同で簡便な尿中総ポリアミン測定法を開発を行いました。詳細ははぶきますが、この検査法は厚生省の認可を受け、更に保険に採用されました。ちなみに我が国で薬や検査法が普及するには保険に採用されることは極めて大きな意義をもちます。腫瘍マーカーとしての尿中総ポリアミン測定は注目された結果、ポリアミンに興味をもつ臨床医が増えたこともあり、当時日本ポリアミン研究会の参加者も増加し、ついには臨床ポリアミン研究会を5回以上開催することにもなりました。このような経験をふまえて私自身もポリアミンに興味をもつようになりました。講演の中でも触れたのですが、現在でも日本ポリアミン学会で注目されている研究の中には、トランスレーショナルリサーチが有用として進められているものがあります。川喜田評議員の「腫瘍マーカーとしての DiAcSpm 研究」、五十嵐評議員の「無症候群脳梗塞のバイオマーカーとしてのアクロレイン」、早田評議員の「老化予防におけるポリアミン」など素晴らしい研究が発表されております。このような日本ポリアミン学会の現状と将来像を多くの研究者に知ってもらうためにも、学会誌の意義は極めて大きいものと思います。

ポリアミン研究には大きなポテンシャルがあると信じております。それがあからこそ、日本ポリアミン学会の更なる発展が期待されます。それを支える学会誌の益々の充実を心から願っております。



# 環境ストレスからの生体防御における 植物ポリアミンの役割

草野 友延

東北大学大学院生命科学研究科分子生命科学専攻遺伝子システム学講座

(980-8577 仙台市青葉区片平二丁目 1-1)

連絡先 草野友延、e-mail: kusano@ige.tohoku.ac.jp

## 端緒

前任地の奈良先端大遺伝子教育研究センター・佐野浩教授の研究室では、タバコモザイクウイルス (TMV) — タバコの系を用いて植物の病原菌応答の研究を行っていた。TMV に対し過敏反

応 (抵抗性) を示すタバコ植物で発現誘導される遺伝子解析の中でポリアミン合成系の遺伝子が見つかっていた。また 2000 年の暮れに、ドイツ・ゲーテ大学の共同研究者トーマス・ベルベリヒ博士へ過敏反応時のマーカー遺伝子 3 種を送り、

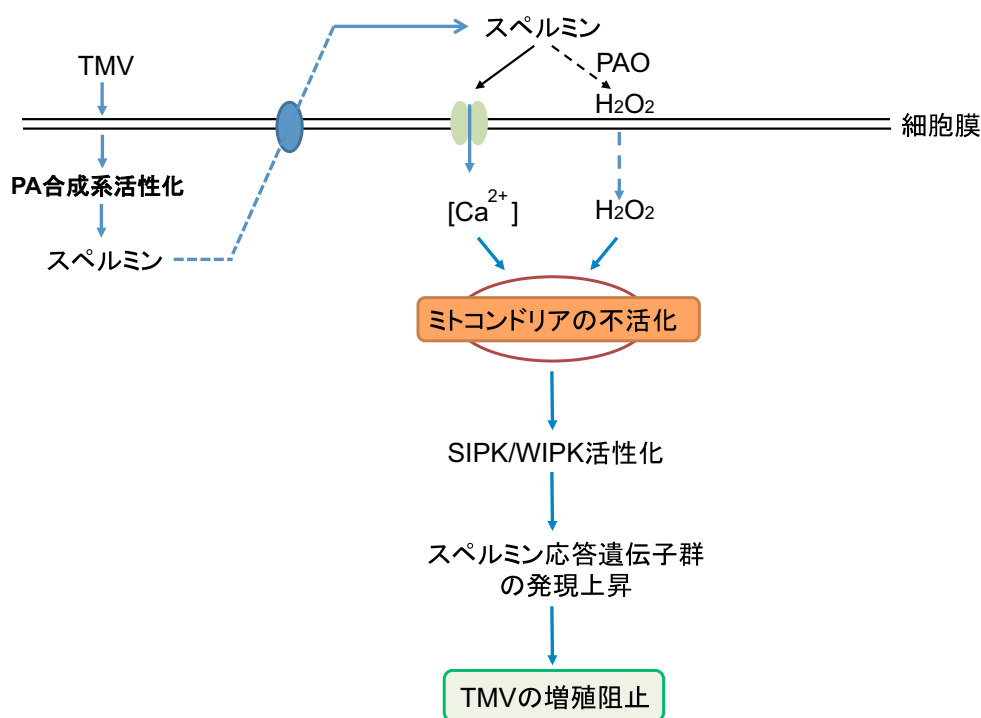


図1. スperlミンシグナル伝達経路の模式図

TMV に抵抗性をもつタバコに TMV 感染が起こると、ポリアミン合成系が活性化されスperlミン量が増加する。そのスperlミンが、未同定の排出型の輸送体で細胞間隙に運ばれる。細胞間隙に移動したスperlミンは、細胞内のカルシウム濃度の上昇と活性酸素種の発生を引き起こす。この両者が相まって、ミトコンドリア機能の失活が起こる。この情報伝達経路は、ポリアミン酸化酵素 (PAO) の阻害剤である MDL72527 処理によっても大きく減衰することから PAO によって発生する過酸化水素が活性酸素種の本体であると考えている。ミトコンドリアの機能不全は、2 種の MAP キナーゼのリン酸化活性を高め、下流のスperlミン応答遺伝子群が誘導される。この経路が動くことにより TMV の増殖阻害が導かれる。

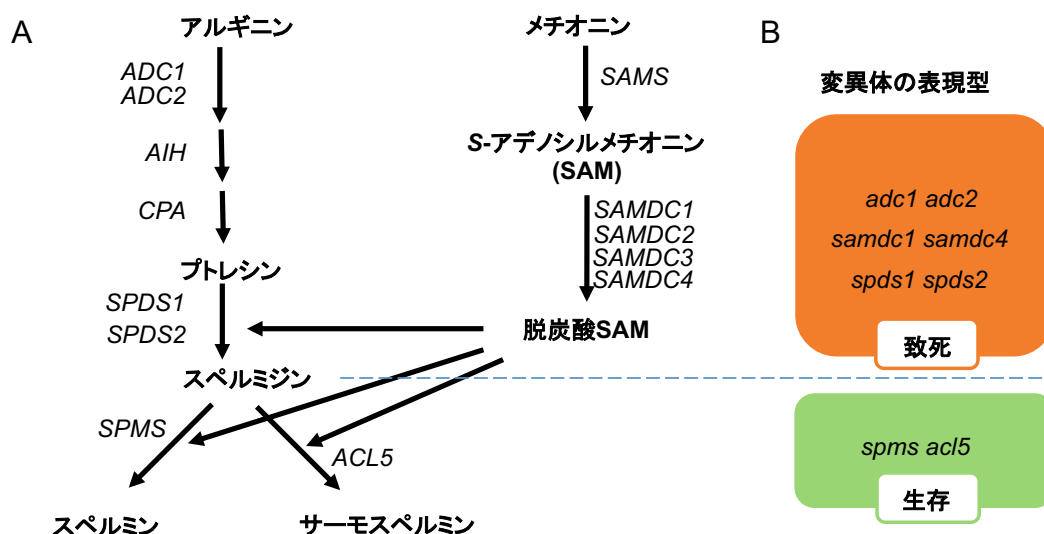


図2. シロイヌナズナにおけるポリアミン合成経路とポリアミン合成酵素遺伝子欠損株の表現型

A. シロイヌナズナにおけるポリアミン合成経路。この植物ではオルニチンからブトレシンへの経路が欠損している。遺伝子の略記とその遺伝子産物は以下の通り：ACL5 (ACAULIS5)、thermospermine synthase; ADC, arginine decarboxylase; AIH, agmatine iminohydrolase; CPA, N-carbamoylputrescine amidohydrolase; SAMDC, S-adenosylmethionine decarboxylase; SAMS, S-adenosylmethionine synthetase; SPDS, spermidine synthase; SPMS, spermine synthase。ADC と SPDS は、それぞれ2つの遺伝子が、SAMDC は少なくとも4つの遺伝子の存在が知られている。B. ポリアミン合成酵素遺伝子欠損株の表現型。ADC1 と ADC2 が共に機能を失った植物 (*adc1 adc2*) は、胚発生段階で死んでしまう。同様に、*spds1 spds2* 植物と *samdc1 samdc4* 植物も胚致死となる。ところが、テトラアミンを合成する酵素遺伝子の欠損植物 (*spms acl5*) は生活環を全うし、種子を得ることができる。

タバコをポリアミン処理した時のこれら遺伝子の発現量を調べてもらった。結果は、いずれのマーカー遺伝子もスペルミン処理により特異的に誘導されていた。従って、スペルミン特異的な情報伝達系が存在すると考えた。2001年、現在の所属先へ赴任した際に、新たな課題としてポリアミン研究を開始した。

### スペルミンシグナル伝達経路

実は1998年に、つくばにある農業生物資源研究所の大橋祐子先生のグループがTMV—タバコの同一実験系でTMV感染後のタバコ葉の細胞間隙にスペルミンが蓄積することを報告していた。タバコ葉を外生的にスペルミン処理することでタバコ葉の細胞間隙にスペルミンが蓄積することを再現できると考え、この条件で引き起こされる現象を探した。その結果、スペルミン処理によって46kDaの分子量をもつタンパク質のリン酸化活性

が著しく亢進することをin-gel kinase assay法により見つけた<sup>1)</sup>。当初、単一タンパク質と考えていたが、ペプチド抗体を用いた解析により、WIPK (傷誘導性のMAPキナーゼ) とSIPK (サリチル酸誘導性のMAPキナーゼ) の2種のMAPキナーゼのリン酸化活性がスペルミン処理で活性化されることを明らかにした。また、薬理学的アプローチと一過的な遺伝子不活性化法を用いた解析により、図1に示すようなスペルミンを起点としたシグナル伝達経路の存在を提唱した<sup>2)</sup>。ポリアミン酸化酵素 (PAO) の阻害剤であるMDL72527処理により、本経路のシグナル伝達が遮断されることからPAOの関与が強く示唆された。シロイヌナズナとキュウリモザイクウイルスの系でもスペルミンシグナル伝達経路が機能していることを明らかにした<sup>3)</sup>。



### スペルミンの生体防御能

最近になり、植物の発生や成長にポリアミンが関わっていることが、シロイヌナズナの変異株を用いた分子遺伝学的手法により明快に示されている (図2)。アルギニンからアグマチンへ変換する2つのアルギニン脱炭酸酵素遺伝子 (*ADC1* と *ADC2*) が共に欠損した植物胚は、致死となった。また、プトレシンからスペルミジンを作る2つのスペルミジン合成酵素遺伝子がいずれも欠損した場合、そして少なくとも4種類あるとされる S-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素遺伝子 (*SAMDC1*, -2, -3 そして -4) のうち、*SAMDC1* と *SAMDC4* の2つの遺伝子機能を失った二重変異体の胚も致死となった。従って、プトレシンとスペルミジンは植物の胚発生の過程において不可欠である。ところが、テトラアミンであるスペルミンとサーモスペルミンの合成酵素遺伝子である *SPMS* と *ACL5* の二重変異体は、通常の生育条件下で生活環を全うすることができる (図2)。筆者らは、スペルミンは環境ストレスから自己を防御する機能をもつと仮定し実験を行った。因みに、

サーモスペルミンは茎の伸長に重要な役割を持つことが岡山大の高橋卓教授らにより明らかにされていた。予想通りに、*spms acl5* 植物は高塩ストレスに対して高い感受性を示した (図3A)<sup>4)</sup>。さらに、塩処理の際、培地に 1 mM のスペルミンを加えておくと塩ストレスによる葉の白化が起らず、生育が改善した。この現象はスペルミン特異的に見られた (図3B)。スペルミン合成欠損植物は、乾燥ストレスそして熱ショックストレスにも高感受性になるが、これらの場合にもスペルミンを前処理しておくことで生育障害が回避されることも明らかとなった<sup>5), 6)</sup>。すなわち、スペルミンは環境ストレスから植物を保護する働きがあることが示された。

### 植物のポリアミン酸化酵素

上述のように、スペルミンシグナル伝達経路には PAO により生じる過酸化水素が関与すると考えたことから、2008 年ごろより PAO の研究を行っている。しかし、未だにスペルミンシグナル伝達系に関与する PAO を特定することができて

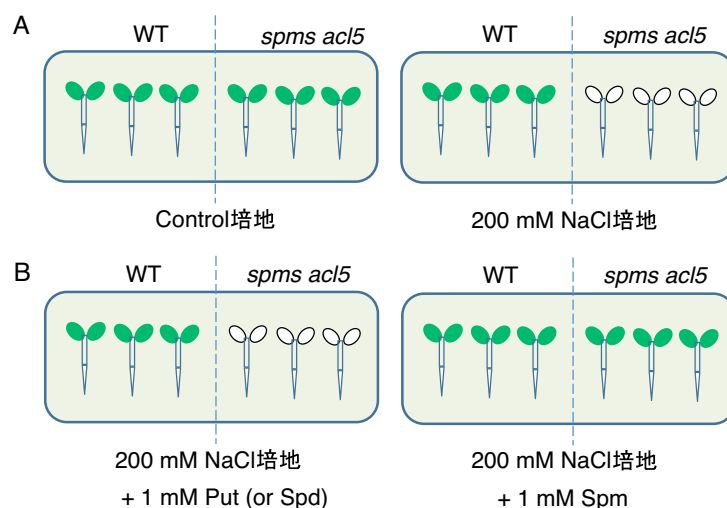
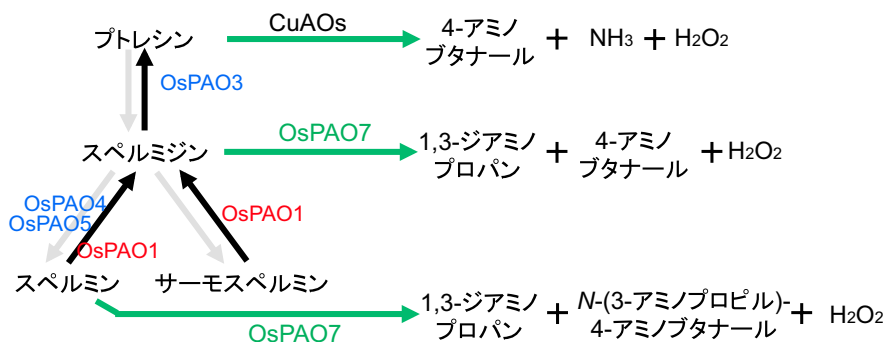


図3. テトラアミンを合成する酵素遺伝子の欠損植物 (*spms acl5*) の塩ストレスへの応答とスペルミンの保護効果

A. 野生型と *spms acl5* 植物の播種後 10 日たった幼植物体を、通常の Control 寒天培地と 200 mM NaCl 含有寒天培地に移植した場合の結果。B. 塩に高感受性を示す *spms acl5* 植物に対するスペルミン特異的な保護効果。



単子葉干デル植物の1つであるイネに

いない。ここでは、この間の研究で明らかになってきた植物 PAO について簡単に記す。シロイヌナズナには 5 種の PAO 遺伝子が存在する。植物で最初に特徴づけがされたトウモロコシや大麦の PAO は、いずれも末端分解経路 (terminal catabolism pathway) で機能することが示されたが、シロイヌナズナの 5 種の PAO はいずれも生合成の逆変換反応 (back conversion pathway) を触媒する。AtPAO1 と AtPAO5 の 2 種は細胞質に、他の 3 種の PAO はパーオキシゾームに局在することが示されており、アポプラスト局在のものは見つかってきていない。单子葉のモデル植物であるイネには 7 種の PAO 遺伝子が存在する。うち 4 種類の PAO 酵素は、逆変換反応を触媒する。このうちの 3 種の PAO (OsPAO3,-4,-5) はパーオキシゾームに局在し、OsPAO1 は細胞質に局在する (図 4)<sup>7)</sup>。OsPAO7 はアポプラストに局在し、末端分解経路の反応を触媒した<sup>8), 9)</sup>。OsPAO2 と OsPAO6 については未だ解析がなされていないが、アミノ酸配列等の解析から末端分解経路の反応を触媒すると予測されている。興味深いことに、OsPAO2、OsPAO6 そして OsPAO7 の発現する組織を調べてみると、花器官や成熟した茎などの特異な器官や生育段階であったりする。OsPAO7 の場

合は、葯や花粉で特異的に発現しており、葯壁のリグニン合成に関与することが示唆された。

現時点で、アセチル化を伴わない逆変換経路が植物の主たるポリアミン分解経路であると言える。

今しばらく、植物ポリアミン研究を楽しみたい  
と考へている。

## 参考文献

1. Takahashi Y, Berberich T, Miyazaki A, Seo S, Ohashi Y, & Kusano T: Spermine signaling in tobacco: activation of mitogen-activated protein kinases by spermine is mediated through mitochondrial dysfunction. *Plant J.* 36: 820-829 (2003)
2. Kusano T, Berberich T, Tateda C, & Takahashi Y: Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta.* 228: 367-381 (2008)
3. Mitsuya Y, Takahashi Y, Berberich T, Miyazaki A, Matsumura H, Takahashi H, Terauchi R, & Kusano T: Spermine signaling plays a significant role in the defense response of *Arabidopsis thaliana* to cucumber mosaic virus. *J Plant Physiol.* 166: 626-643 (2009)
4. Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Miyazaki A, Takahashi T, Michael A, & Kusano T:



- The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. FEBS Letters. 580: 6783-6788 (2006)
5. Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, Imai A, Takahashi T, Michael A, & Kusano T: A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis*. Biochem Biophys Res Commun. 352: 486-490 (2007)
6. Sagor GHM, Berberich T, Takahashi Y, Niitsu M, & Kusano T: The polyamine spermine protects *Arabidopsis* from heat stress-induced damage by increasing expression of heat shock-related genes. Transgenic Research. 22: 595-605 (2013)
7. Ono Y, Kim DW, Watanabe K, Sasaki A, Niitsu M, Berberich T, Kusano T, & Takahashi Y: Constitutively and highly expressed *Oryza sativa* polyamine oxidases localize in peroxisomes and catalyzed polyamine back conversion. Amino Acids. 42: 867-876 (2012)
8. Liu T, Kim DW, Niitsu M, Maeda S, Watanabe M, Kamio Y, Berberich T, & Kusano T: *Oryza sativa* polyamine oxidase 7 catalyzes terminal catabolism reaction and specifically expressed in anthers. Plant Cell Physiol. 55: 1110-1122 (2014)
9. Kusano T, Kim DW, Liu T, & Berberich T: Polyamine catabolism in plants. In Polyamines: A universal nexus for growth, survival and specialized metabolism. Springer (2014)

#### ミニコラム：putrescine の日本語表記

皆さんは putrescine を日本語表記にする場合、どのように書いていますか？「プトレシン」、「プトレッシン」、「プトレスシン」？

実は本号では putrescine の日本語表記が執筆者により異なり、この3種類で記載されています。ポリアミン学会員であれば、「プトレシン」、「プトレッシン」、「プトレスシン」の全てが「putrescine」を示していると理解できると思います。では、ポリアミンのことをほとんど知らない人がこれらを目にした時に、同一のものと認識してもらえるでしょうか？「スperlミン」と「スperlミジン」が異なる物質で、「プトレシン」と「プトレスシン」が同じ物質？混乱しそうですね。

この学会誌で連載している「シリーズ ポリアミン研究」は、学生や専門外のポリアミンに馴染みのない人達に向けた入門書的な日本語の総説を作りたい、という思いから企画されています。そのような人達を読者に想定した場合、putrescine の日本語表記はいずれかに統一されているのが望ましいのではないかと考えます。現在、少なくとも学会誌上だけでも統一の表記ができないかを検討しているところです。ただ、どれが正しくて、どれが間違いということではないので、とても難しい問題です。この putrescine の日本語表記方法について、学会員の皆さんからも広くご意見を頂ければ幸いです (polyamine@jikei.ac.jp まで)。(小黒)

# 大腸菌のポリアミン代謝

鈴木 秀之<sup>1</sup>、栗原 新<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科応用生物学部門 (606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町)

<sup>2</sup> 石川県立大学腸内細菌共生機構学寄附講座 (921-8836 石川県石川郡野々市町末松1丁目 308)

連絡先 鈴木秀之、e-mail: hideyuki@kit.ac.jp

ポリアミンは、転写と翻訳段階の調節に関与しており、細菌の増殖に重要である。そのため、菌体内のポリアミン濃度は、生合成、分解、菌体外からの取り込みと排出の各段階で厳密に調節されている。本稿では、大腸菌のポリアミンの代謝について紹介する。ほ乳類でよく知られているオルニチン脱炭酸酵素によってプトレッシンを生合成する経路以外に、大腸菌を初めとする細菌は、アルギニンからアグマチンを経由してプトレッシンを生合成する経路を持っている。一方、大腸菌には、プトレッシンを $\gamma$ -アミノ酪酸を経由してコハク酸にまで異化する経路として、アミノ基転移酵素が関与する経路と $\gamma$ -グルタミル化を経る経路 (Puu 代謝経路) の2つが知られている。過剰なスペルミジンはアセチル化されてアセチルスペルミジンとなるが、真核生物のように細胞外に排出されるかは不明であり、またこれまでのところアセチルスペルミジンを酸化してスペルミジンに戻す、ポリアミン酸化酵素は見つかっていない。

## キーワード:

トランスポーター、スペルミジンアセチル基転移酵素、 $\gamma$ -グルタミル中間体、 $\gamma$ -グルタミル化、Puu 代謝経路、アミノ基転移酵素、 $\gamma$ -アミノ酪酸、コハク酸

## はじめに

大腸菌が主として生合成するポリアミンは、プトレッシン、スペルミジン、カダベリンの3種であり、スペルミンは合成しない。真核生物翻訳開始因子 5A (eIF5A) の前駆体のリジン残基がスペルミジンをういたハイプシン化により活性化される必要があるため、ポリアミンは、真核生物の細胞にとって、増殖に必須の因子である<sup>1)</sup>。それに対して、大腸菌は、好気条件下において、すべてのポリアミン生合成経路を欠損していても、増殖速度が遅いものの、ポリアミンを含まない培地中で増殖できる<sup>2)</sup>。しかし、大腸菌においてもポリアミンは、転写および翻訳を含む様々な増殖過程に関与しているため、その菌体内濃度は生合成、

分解、菌体外からの取り込みと排出の各段階で厳密に調節されている<sup>3)</sup>。

## ポリアミンの生合成経路

大腸菌においてプトレッシンは、動物と同様、オルニチン脱炭酸酵素 (SpeC) によりオルニチンから生合成されるほか、多くの植物と同様、アルギニン脱炭酸酵素 (SpeA) とアグマチナーゼ (SpeB) によりアルギニンからも生合成される (図1)<sup>4)</sup>。スペルミジンは、アデノシルメチオニン脱炭酸酵素 (SpeD) により、S-アデノシルメチオニンから生合成されたデカルボキシ S-アデノシルメチオニン (=S-アデノシルメチオニナミン) のアミノプロピル基が、スペルミジンシンターゼ

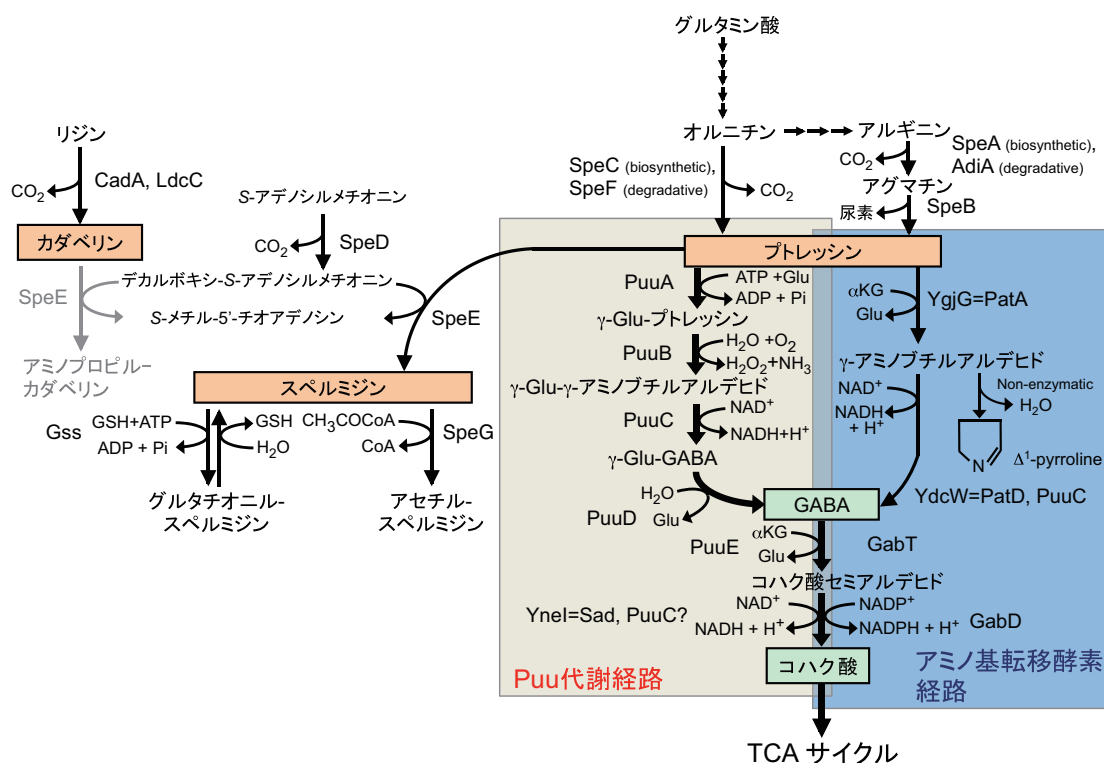


図1 大腸菌のポリアミン代謝経路

ポリアミンをオレンジ色の四角に入れて示した。プトレッシンから GABA を経てコハク酸に代謝する経路については、アミノ基転移酵素経路を青色の背面で、Puu 代謝経路をグレーの背面で囲って区別した。

(SpeE) によってプトレッシンに転移されることにより生成される。カダベリンは、リジン脱炭酸酵素 (LdcC) によりリジンから生成される。大腸菌は、スペルミジンが欠乏する状況において、カダベリンにアミノプロピル基を転移したアミノプロピルカダベリンを生成し、これがタンパク質の合成や細胞増殖にスペルミジンと同様の効果を持つ<sup>5)</sup>。

一方、大腸菌は、環境が酸性下にあるとき、より塩基性の物質に変換することにより、環境を中性の方向に戻すことにより生育環境を維持しようとするメカニズムを発達させている<sup>6)</sup>。その例として、酸性化で誘導されアルギニン、オルニチン、リジン、グルタミン酸を脱炭酸して、アグマチン、プトレッシン、カダベリン、GABA を合成する AdiA, SpeF, CadA, GadA/B がある (図2)。それぞれの遺伝子の隣あるいはすぐ近傍には、アン

チポーターである AdiC, PotE, CadB, GadC が存在しており、生成したアグマチン、プトレッシン、カダベリン、GABA をそれぞれ菌体外のアルギニン、オルニチン、リジン、グルタミン酸と交換することによって菌体外の pH の上昇を図るシステムとなっており、ポリアミンが関与している<sup>7), 8)</sup>。

### プトレッシン異化経路

大腸菌は、プトレッシンを  $\gamma$ -アミノ酪酸を経由してコハク酸にし、TCA サイクルに送って C 源・エネルギー源として生育できる。また、プトレッシンからコハク酸にする間に2つあるアミノ基を外し、N 源としても生育できる。プトレッシンを GABA にする経路として、アミノ基転移酵素がまず働くアミノ基転移酵素経路と  $\gamma$ -グルタミルプトレッシン合成酵素がまず働く Puu 代謝

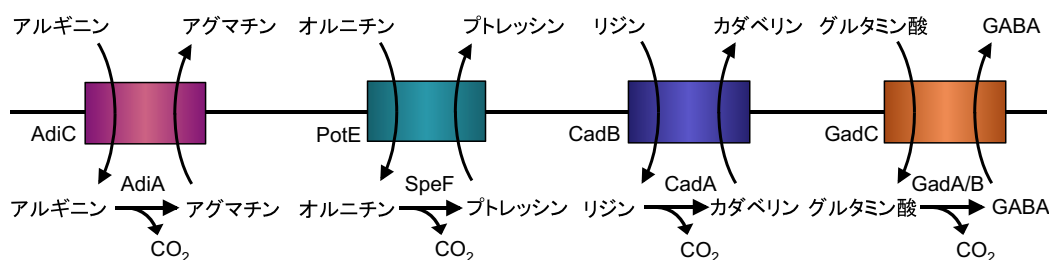


図2 大腸菌の耐酸性機構

大腸菌で知られているアミノ酸の脱炭酸反応を利用した耐酸性機構の概略を示した。

(putrescine utilization) 経路の2つがある。

#### アミノ基転移酵素経路

アルギニンとオルニチン異化経路を構成する一部としてアミノ基転移酵素経路が Shaibe らによって、報告されたのは1985年のことであった(図1)<sup>9)</sup>。しかし、この経路の酵素の遺伝子がクローニングされたのは今世紀に入ってからである。アルギニンあるいはオルニチンは、プトレッシンとGABAを経てコハク酸にまで異化され単一N源となる。まず、プトレッシンの一方のアミノ基がプトレッシンアミノ基転移酵素 (PatA = YgiG) によって $\alpha$ -ケトグルタル酸に移されて $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドとグルタミン酸が生成する。 $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドは $\gamma$ -アミノブチルアルデヒド脱水素酵素 (PatD = YdcW) によって酸化されGABAとなる。GABAのアミノ基は、GABAアミノ基転移酵素 (GabT) によって $\alpha$ -ケトグルタル酸に転移され、コハク酸セミアルデヒドとグルタミン酸が生成する。コハク酸セミアルデヒドは、コハク酸セミアルデヒド脱水素酵素 (GabD) によってコハク酸へと酸化される。

酵素活性自体は古くから知られていたが、PatAの遺伝子 (*patA* = *ygiG*) がクローニングされ、PatAタンパク質が高発現株から精製されたのは2003年が最初であった<sup>10)</sup>。一方、PatDは精製酵素のトリプシン消化物のアミノ酸配列を決定し、その配列をコードする遺伝子が大腸菌のゲノム

データベースで検索することにより、PatDをコードしている遺伝子は*ydcW*であると同定された<sup>11)</sup>。

*gabDTP* はオペロンを形成し、GABAをN源として利用する経路をコードしている。しかし、 $\Delta$ *gabDT*株はプトレッシンをN源とする培地に生育し、GABAアミノ基転移酵素とコハク酸セミアルデヒド脱水素酵素活性を残していたことから、プトレッシンから生成したGABAを異化できる別の経路があることが予想されていた<sup>12)</sup>。

#### Puu代謝経路

GABAを経由してプトレッシンをコハク酸にまで異化するもう一つの経路として、私たちはPuu代謝経路を発見した<sup>13)</sup>。この経路では菌体外のプトレッシンをトランスポーターであるPuuPによって細胞内に取り込み<sup>14)</sup>、まずPuuAがプトレッシンの一方のアミノ基にATPを使ってグルタミン酸を結合して $\gamma$ -グルタミルプトレッシンを生成する<sup>15)</sup>。 $\gamma$ -グルタミルプトレッシンはPuuBによって酸化されて $\gamma$ -グルタミル $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドに、さらにPuuCによって $\gamma$ -グルタミル-GABAへと酸化されると考えられる。次に、 $\gamma$ -グルタミル基はPuuDによって切断され、グルタミン酸とGABAが遊離する<sup>16)</sup>。GABAはPuuEによりアミノ基がはずされ、コハク酸セミアルデヒドとなる。コハク酸セミアルデヒドは、YneI (= Sad) によって酸化されてコハク酸となる<sup>17)</sup>。こ

れら Puu 代謝経路の遺伝子は *yneI* を除いて、遺伝子クラスターを形成している (図 3) <sup>13)</sup>。

PuuC は元々、Puu 代謝経路の  $\gamma$ -グルタミル- $\gamma$ -アミノブチルアルデヒド脱水素酵素として見つかった <sup>13)</sup>。一方、Schneider と Reitzer (2012) は、PuuC は広い基質特異性を持つ酵素で、 $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドやコハク酸セミアルデヒドも基質とし、さらに PatD に代わって PuuC によってプロレシンを単一 N 源として生育できると報告した <sup>18)</sup>。しかし、PuuC が十分なコハク酸セミアルデヒド脱水素酵素活性を持っていて、GabD に代わって PuuC によってプロレシンを単一 C 源として菌株が生育できるかについては報告していない。前述したように Puu 代謝経路の遺伝子は、遺伝子クラスターを作っていることから PuuC の本来の基質は  $\gamma$ -グルタミル- $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドと考えられる。さらに、プロレシンを単一 C 源とする M9 プロレシン・アンモニア培

地において、 $\Delta gabD \Delta yneI aldA^+ puuC^+$  株は生育できないが、 $\Delta gabD yneI^+ aldA^+ puuC^+$  株は 20°C で生育できることから、GabD 欠損下においてプロレシンを単一 C 源として菌株の生育を可能にしているのは PuuC ではなく、YneI であると考えられる <sup>17)</sup>。 *puu* 遺伝子群と *yneI* 遺伝子はともにプロレシンによって誘導されるが、ゲノム上の座位は異なっている。

アミノ基転移酵素経路の中間体である  $\gamma$ -アミノブチルアルデヒドは不安定で、非酵素的に  $\Delta^1$ -ピロリンになりやすいと報告されている <sup>9)</sup>。それに対して、Puu 代謝経路では、プロレシンの反応性に富む 2 つあるアミノ基の一方をまず ATP を使って  $\gamma$ -グルタミル化することにより保護してから、もう一方のアミノ基側を酸化する。次いで、 $\gamma$ -グルタミル基を切り離し、遊離したもう一方のアミノ基側をさらに酸化してコハク酸にまで代謝する。この反応性に富むアミノ基の  $\gamma$ -グル

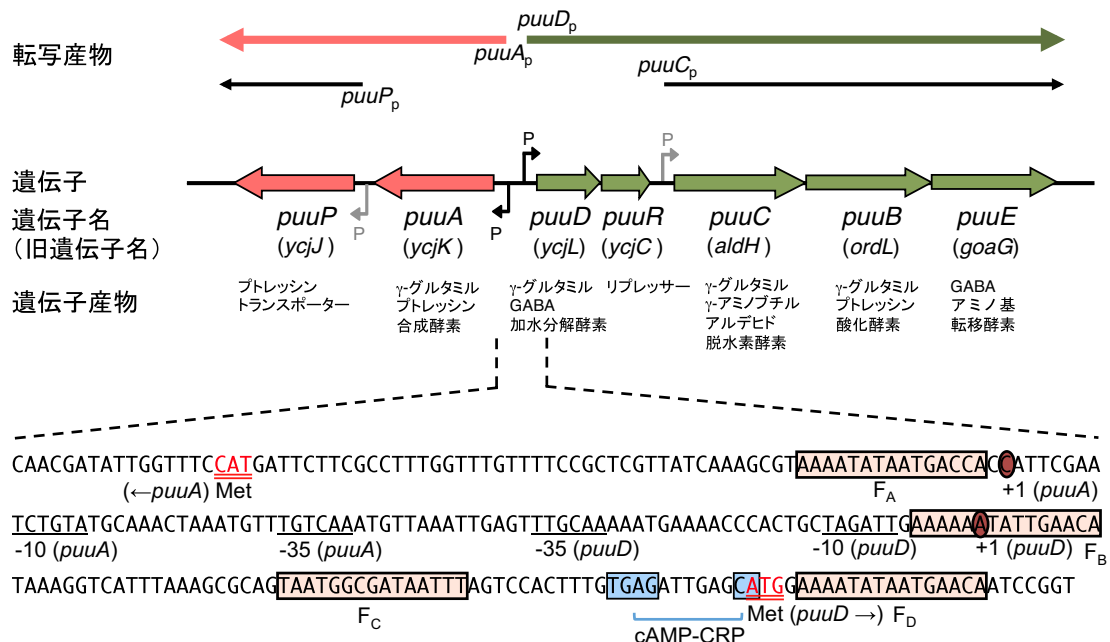


図3 大腸菌の *puu* 遺伝子クラスターとその調節領域

*puu* 遺伝子クラスターの遺伝子と転写産物の長さ、各遺伝子からできてくるタンパク質の種類、*puuA*-*puuD* 間の転写調節部位を示した。-35, -10 と付した下線を引いた塩基が *puuA* と *puuD* のプロモーター、茶色の丸で囲った塩基が *puuA* と *puuD* の転写開始点、薄オレンジの四角で囲ったところが PuuR 結合部位、青い四角で囲ったところが cAMP-CRP 結合部位、赤色にした塩基が *puuA* と *puuD* の翻訳開始点を示している。



タミル化と脱 $\gamma$ -グルタミル化は、化学合成の過程で官能基を保護・脱保護することに類似している。これは $\gamma$ -グルタミル化の生理的役割としては数少ない例である<sup>19), 20)</sup>。

PuuD は、 $\gamma$ -グルタミル-GABA を加水分解する。もし、PuuD が $\gamma$ -グルタミルプトレッシンも良い基質とするのなら、折角 PuuA が ATP を消費して生成した $\gamma$ -グルタミルプトレッシンを分解してしまうことになる。調べたところ、PuuD の $\gamma$ -グルタミルプトレッシンと $\gamma$ -グルタミル-GABA に対する  $K_m$  値は 18.5 と 2.93 mM であり、 $k_{cat}/K_m$  値も 23.5 と 850 と大きな差があったことから、PuuD は $\gamma$ -グルタミルプトレッシンより $\gamma$ -グルタミル-GABA をずっと良い基質としており、合目的にできていることが確かめられた。

Puu 代謝経路は、好気条件下プトレッシンによって誘導され、グルコース、コハク酸あるいは $\text{NH}_4\text{Cl}$ によって抑制される<sup>13), 16)</sup>。この経路を構成する酵素、トランスポーター、リプレッサーは、図3に示したように遺伝子クラスターを形成しており、これらは4箇所のプロモーターから転写される。この遺伝子クラスター内の *puuR* は、*puuAP* と *puuDRCBE* オペロンのリプレッサー PuuR をコードしている。PuuR は、ヘリックス・ターン・ヘリックス DNA 結合モチーフを持ち、*puuA* 遺伝子と *puuD* 遺伝子の間に存在する4箇所の結合サイトに結合することにより、これら2つのオペロンの転写を抑制するが、*puuA-puuP* と *puuR-puuC* 間には結合しない。PuuR とその結合サイトとの結合は、プトレッシンが存在すると減少するが、スペルミジンの影響は受けない<sup>21)</sup>。*puuD* 遺伝子の転写開始点と開始コドンの間には cAMP-CRP 結合サイトがあり<sup>22)</sup>、*puuD* プロモーターからの *puuR* の発現はグルコースにより正に制御されている<sup>23)</sup>。つまり、グルコース存在下では cAMP の濃度が減少するため、cAMP-CRP

が *puuD* 遺伝子の前にある結合サイトに結合できなくなるために *puuD* プロモーターからの転写抑制が解除され、生成した PuuR によって結果的に *puuA* と *puuD* のプロモーターが抑制される<sup>23)</sup>。

Puu 代謝経路に考えられるもう一つの調節機構は、金属が触媒する PuuA の酸化修飾と酸化された PuuA のプロテアーゼによる分解である。この調節機構はアンモニア同化の鍵酵素であるグルタミン合成酵素の調節機構の一つとして提唱された<sup>24)</sup>。グルタミン合成酵素と PuuA は、非常に類似した酵素である。グルタミン合成酵素がグルタミン酸の $\gamma$ 位のカルボキシル基とアンモニアを結合して $\gamma$ -グルタミル基を生成するのに対して、PuuA は、グルタミン酸の $\gamma$ 位のカルボキシル基とプトレッシンのアミノ基を結合して $\gamma$ -グルタミル基を生成する。いずれもリガーゼであり、アミノ酸配列もよく似ている。グルタミン酸、ATP、 $\text{Mg}^{2+}$  などの結合サイトは非常に良く保存されているが、グルタミン合成酵素のアンモニア結合サイトに相当する部分は PuuA には類似性が見られない。グルタミン合成酵素の His-269 の Asn 残基、Arg-344 の Gln 残基への酸化修飾が酵素活性を低下させ、プロテアーゼによる分解を受け易くなることが報告されている。これらの残基は PuuA でも保存されていること<sup>15)</sup>から、PuuA も金属が触媒する酸化修飾とプロテアーゼによる分解により調節されている可能性が考えられる。

### スペルミジンの異化経路

大腸菌は、プトレッシンからスペルミジンを生合成するか、菌体外からトランスポーターである PotABCD によってスペルミジンを取り込むことにより菌体内のスペルミジン濃度を上昇させる<sup>25)</sup>。一方、スペルミジンアセチルトランスフェラーゼ (SpeG) がアセチル CoA からアセチル基をスペルミジンに転移してアセチルスペルミジンに

することによって菌体内のスペルミジン濃度を低下させている<sup>26)</sup>。真核生物は、アセチルスペルミジンを細胞外に排出したり<sup>27)</sup>、あるいはポリアミン酸化酵素によって、プトレッシンに戻したりする<sup>28)</sup>。しかし、大腸菌では生成したアセチルスペルミジンがどう処理されているか不明である。培地に 0.5 mM のスペルミジンを添加しても、添加しない場合に比べて、野生株の菌体内のスペルミジン濃度に大きな違いは見られないが、SpeG 欠損株ではスペルミジンが蓄積する<sup>29)</sup>。

SpeG 以外に菌体内のスペルミジン濃度を低下させる可能性のある酵素は、グルタチオニルスペルミジン合成酵素 / アミダーゼ (Gss = Gsp) である。この酵素は 2 つのドメインからなっており、それぞれグルタチオンとスペルミジンから ATP を使ってグルタチオニルスペルミジンを合成する反応を触媒するドメインと逆にグルタチオニルスペルミジンをグルタチオンとスペルミジンに分解する反応を触媒するドメインを構成している<sup>30)</sup>。<sup>31)</sup> Gss は 3 次元構造も報告されており、2 つのドメインは全く独立していて、その間はリンカーで接続された形になっている<sup>32)</sup>。グルタチオニルスペルミジンはグルタチオンより優れた還元剤であり、菌体内の酸化還元反応に関与しているが<sup>33)</sup>、菌体内のスペルミジン濃度の調節を積極的に行っているかは不明である。

### カダベリンの異化経路

大腸菌で、カダベリン特異的な異化経路は、報告されていない。しかし、*in vitro* の結果として、PatA はプトレッシンに相当する活性をカダベリンに示すこと<sup>10)</sup>、PuuA はプトレッシンに対する活性の 3 分の 1 程度の活性をカダベリンに示すこと<sup>15)</sup>、さらに、*Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株の Puu 代謝経路に対応する Pau 代謝経路はプトレッシンの他にカダベリンとスペルミジンも異

化できること<sup>20)</sup> から、アミノ基転移酵素経路と Puu 代謝経路が *in vivo* でカダベリンの異化経路として働いていることが示唆される。

### おわりに

大腸菌のようにポリアミン代謝が徹底的に研究されたと思われがちなものにおいてもなお？の部分が残っている。具体的には、アセチルスペルミジンの代謝あるいは放出経路、グルタチオニルスペルミジンの生理的役割等があげられる（グルタチオニルスペルミジンによるタンパク質の修飾の研究をしている研究室は国内になく残念である）。さらに、カダベリンが大腸菌でも PuuA や PatA により異化されるとすれば、その結果生じるグルタル酸の異化経路が必要となる。しかし、グルタル酸の異化経路は大腸菌では報告されていない。

大腸菌は最も遺伝子の解明が進んだ細菌であるが、その機能についての実験的な報告がないものの割合は半分近くにのぼる<sup>34)</sup>。さらに、大腸菌においてすらアノテーションも付かない遺伝子が相当数存在する。多くの細菌研究において、ホモロジーによる遺伝子機能のアノテーションは重要な情報として用いられているが、アノテーションの基盤となる大腸菌における情報の欠如は、これらの研究の進展を遅らせる原因となっている。前述のグルタル酸異化経路を構成する酵素群がこの機能未知遺伝子の中から発見される可能性は大きい。

ポリアミン代謝系にとどまらず、大腸菌の機能未知遺伝子を着実に解明していくことは、今後の微生物学の発展に大きく寄与すると考えている。本稿は、Springer 社から出版予定の Polyamines, a universal molecular nexus for growth, survival and specialized metabolism に著者らが書いた原稿を Springer 社の許可を得て書き換えたものである<sup>35)</sup>。本稿では、転写調節機構については触れてい

ない。また、大腸菌についてのみまとめており、他の細菌に見られる異なった代謝経路については省略した。詳しくは、上記書籍の4章をご覧ください。

## 参考文献

1. Park MH: The post-translational synthesis of a polyamine-derived amino acid, hypusine, in the eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A). *J. Biochem.* 139:161-169 (2006)
2. Chattopadhyay MK, Tabor CW, & Tabor H: Polyamines are not required for aerobic growth of *Escherichia coli*: preparation of a strain with deletions in all of the genes for polyamine biosynthesis. *J. Bacteriol.* 191:5549-5552 (2009)
3. Igarashi K, & Kashiwagi K: Modulation of cellular function by polyamines. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42:39-51 (2010)
4. Tabor CW, & Tabor H: Polyamines in microorganisms. *Microbiol. Rev.* 49:81-99 (1985)
5. Igarashi K, Kashiwagi K, Hamasaki H, Miura A, Kakegawa T, Hirose S, & Matsuzaki S: Formation of a compensatory polyamine by *Escherichia coli* polyamine-requiring mutants during growth in the absence of polyamines. *J. Bacteriol.* 166:128-134 (1986)
6. Richard HT, & Foster JW: Acid resistance in *Escherichia coli*. *Adv. Appl. Microbiol.* 52:167-186 (2003)
7. Gong S, Richard H, & Foster JW: YjdE (AdiC) is the arginine:agmatine antiporter essential for arginine-dependent acid resistance in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 185:4402-4409 (2003)
8. Soksawatmaekhin W, Kuraishi A, Sakata K, Kashiwagi K, & Igarashi K: Excretion and uptake of cadaverine by CadB and its physiological functions in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 51:1401-1412 (2004)
9. Shaibe E, Metzger E, & Halpern YS: Metabolic pathway for the utilization of L-arginine, L-ornithine, agmatine, and putrescine as nitrogen sources in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 163:933-937 (1985)
10. Samsonova NN, Smirnov SV, Altman IB, & Ptitsyn LR: Molecular cloning and characterization of *Escherichia coli* K12 *ygjG* gene. *BMC Microbiol.* 3:2 (2003)
11. Samsonova NN, Smirnov SV, Novikova AE, & Ptitsyn LR: Identification of *Escherichia coli* K12 YdcW protein as a  $\gamma$ -aminobutyraldehyde dehydrogenase. *FEBS Lett.* 579:4107-4112 (2005)
12. Schneider BL, Ruback S, Kiupakis AK, Kasbarian H, Pybus C, & Reitzer L: The *Escherichia coli* *gabDTPC* operon: specific  $\gamma$ -aminobutyrate catabolism and nonspecific induction. *J. Bacteriol.* 184:6976-6986 (2002)
13. Kurihara S, Oda S, Kato K, Kim HG, Koyanagi T, Kumagai H, & Suzuki H: A novel putrescine utilization pathway involves  $\gamma$ -glutamylated intermediates of *Escherichia coli* K-12. *J. Biol. Chem.* 280:4602-4608 (2005)
14. Kurihara S, Tsuboi Y, Oda S, Kim HG, Kumagai H, & Suzuki H: The putrescine importer PuuP of *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 191:2776-2782 (2009)
15. Kurihara S, Oda S, Tsuboi Y, Kim HG, Oshida M, Kumagai H, & Suzuki H:  $\gamma$ -Glutamylputrescine synthetase in the putrescine utilization pathway of *Escherichia coli* K-12. *J. Biol. Chem.* 283:19981-19990 (2008)
16. Kurihara S, Oda S, Kumagai H, & Suzuki H:  $\gamma$ -Glutamyl- $\gamma$ -aminobutyrate hydrolase in the putrescine utilization pathway of *Escherichia coli* K-12. *FEMS Microbiol. Lett.* 256:318-323 (2006)
17. Kurihara S, Kato K, Asada K, Kumagai H, & Suzuki H: A putrescine-inducible pathway comprising PuuE-Ynel in which  $\gamma$ -aminobutyrate is degraded into succinate in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 192:4582-4591 (2010)
18. Schneider BL, & Reitzer L: Pathway and enzyme redundancy in putrescine catabolism in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 194:4080-4088 (2012)

19. de Azevedo Wasch SI, van der Ploeg JR, Maire T, Lebreton A, Kiener A, & Leisinger T: Transformation of isopropylamine to L-alaninol by *Pseudomonas* sp. strain KIE171 involves N-glutamylated intermediates. Appl. Environ. Microbiol. 68:2368-2375 (2002)
20. Yao X, He W, & Lu CD: Functional characterization of seven  $\gamma$ -glutamylpolyamine synthetase genes and the *bauRABCD* locus for polyamine and  $\beta$ -Alanine utilization in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. J. Bacteriol. 193:3923-3930 (2011)
21. Nemoto N, Kurihara S, Kitahara Y, Asada K, Kato K, & Suzuki H: Mechanism for regulation of the putrescine utilization pathway by the transcription factor PuuR in *Escherichia coli* K-12. J. Bacteriol. 194:3437-3447 (2012)
22. Shimada T, Fujita N, Yamamoto K, & Ishihama A: Novel roles of cAMP receptor protein (CRP) in regulation of transport and metabolism of carbon sources. PLoS One 6:e20081 (2011)
23. Terui Y, Saroj SD, Sakamoto A, Yoshida T, Higashi K, Kurihara S, Suzuki H, Toida T, Kashiwagi K, & Igarashi K: Properties of putrescine uptake by PotFGHI and PuuP and their physiological significance in *Escherichia coli*. Amino Acids 46:661-670 (2014)
24. Liaw SH, Villafranca JJ, & Eisenberg D: A model for oxidative modification of glutamine synthetase, based on crystal structures of mutant H269N and the oxidized enzyme. Biochemistry 32:7999-8003 (1993)
25. Igarashi K, & Kashiwagi K: Polyamine transport in bacteria and yeast. Biochem. J. 344 Pt3:633-642 (1999)
26. Fukuchi J, Kashiwagi K, Takio K, & Igarashi K: Properties and structure of spermidine acetyltransferase in *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 269:22581-22585 (1994)
27. Gerner EW, & Meyskens FL, Jr.: Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. Nat. Rev. Cancer 4:781-792 (2004)
28. Coffino P: Regulation of cellular polyamines by antizyme. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2:188-194 (2004)
29. Fukuchi J, Kashiwagi K, Yamagishi M, Ishihama A, & Igarashi K: Decrease in cell viability due to the accumulation of spermidine in spermidine acetyltransferase-deficient mutant of *Escherichia coli*. J. Biol. Chem. 270:18831-18835 (1995)
30. Bollinger JM, Jr., Kwon DS, Huisman GW, Kolter R, & Walsh CT: Glutathionylspermidine metabolism in *Escherichia coli*. Purification, cloning, overproduction, and characterization of a bifunctional glutathionylspermidine synthetase/amidase. J. Biol. Chem. 270:14031-14041 (1995)
31. Kwon DS, Lin CH, Chen S, Coward JK, Walsh CT, & Bollinger JM, Jr.: Dissection of glutathionylspermidine synthetase/amidase from *Escherichia coli* into autonomously folding and functional synthetase and amidase domains. J. Biol. Chem. 272:2429-2436 (1997)
32. Pai CH, Chiang BY, Ko TP, Chou CC, Chong CM, Yen FJ, Chen S, Coward JK, Wang AH, & Lin CH: Dual binding sites for translocation catalysis by *Escherichia coli* glutathionylspermidine synthetase. EMBO J. 25:5970-5982 (2006)
33. Chiang BY, Chen TC, Pai CH, Chou CC, Chen HH, Ko TP, Hsu WH, Chang CY, Wu WF, Wang AH, & Lin CH: Protein S-thiolation by glutathionylspermidine (Gsp): the role of *Escherichia coli* Gsp synthetase/amidase in redox regulation. J. Biol. Chem. 285:25345-25353 (2010)
34. Riley M, Abe T, Arnaud MB, Berlyn MKB, Blattner FR, Chaudhuri RR, Glasner JD, Horiuchi T, Keseler IM, Kosuge T, Mori H, Perna NT, Plunkett G III, Rudd KE, Serres MH, Thomas GH, Thomson NR, David Wishart D, & Wanner BL: *Escherichia coli* K-12: a cooperatively developed annotation snapshot —2005. Nucleic Acids Res. 33:1-9 (2006)
35. Suzuki H, & Kurihara S: Polyamine catabolism in prokaryotes. In Polyamines, a universal molecular nexus for growth, survival and specialized metabolism. Ed. by Kusano T, Suzuki H. in press.



# Arizona Cancer Center に留学して

植村 武史

京都府立医科大学大学院医学研究科

## はじめに

私は、2007年10月から2012年3月までの4年6ヶ月にわたり、米国アリゾナ州ツーソンにあるアリゾナ大学 Arizona Cancer Center の Eugene W. Gerner 先生の下にポスドクとして留学し、動物細胞のポリアミン輸送系について研究を行ってきました。Arizona Cancer Center はアリゾナ大学病院に隣接し、がんの治療や予防について基礎研究を通してサポートするため多くの研究者が研究を行っています。Gerner 先生は、ポリアミンの細胞内濃度を低下させることにより、大腸癌を予防するための研究を主導しており、今回の留学において多くのことを学ぶことが出来ました。ここでは、ツーソンでの生活や研究について紹介させていただきます。

## 研究内容

ポリアミンは、ほとんど全ての生物に存在する生理活性アミンであり、細胞の機能、特に細胞増殖に重要な役割を果たしています。我々の体内には主としてプトレスシン、スペルミジン、スペルミンの3種があり、2価以上のカチオンとしてはマグネシウムに次いで多く存在しています。ポリアミンの歴史は古く、1678年に Antonie van Leeuwenhoek がヒト精液中からスペルミンの結晶を発見したことに始まります。そして、1973年、Russell らが癌患者の尿中にポリアミンを見出し、癌との関連が指摘されると、注目を集めるようになります<sup>1)</sup>。1978年にはポリアミン生合成阻害剤  $\alpha$ -Difluoromethylornithine (DFMO) が合成され、抗癌剤としての試験が行われましたが、期待された効果は得られませんでした<sup>2)</sup>。その原因

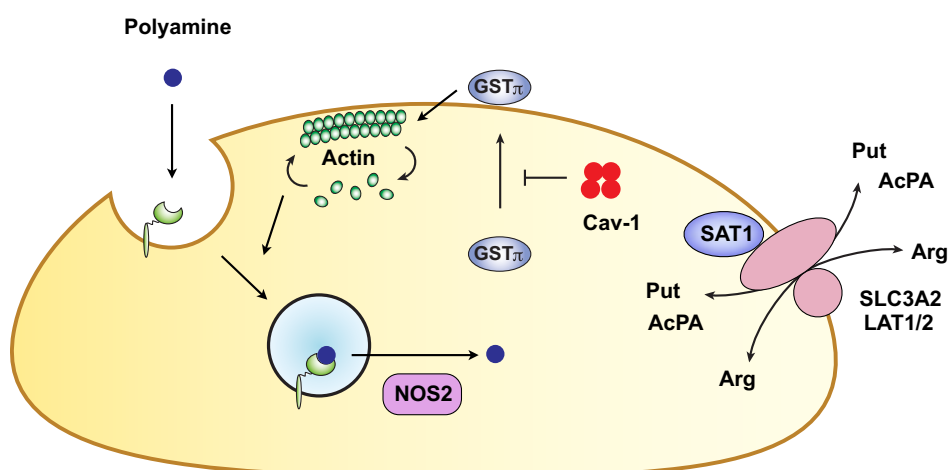


図1 動物細胞のポリアミン輸送系

プトレスシン、アセチルポリアミンは、SLC3A2 複合体によって細胞外へ排出される。GST  $\pi$  を介したアクチンの再構成によって、エンドサイトーシスによるポリアミンの取り込みが促進する。この経路は、Caveolin によって負に調節されている。取り込まれた小胞からのポリアミン遊離には、NOS2 が関わる。



は、食物や腸内細菌由来のポリアミンを取り込むことにより、生合成阻害の効果が打ち消されたためだと考えられました<sup>3)</sup>。すなわち、生合成阻害剤と取り込みの阻害剤もしくは排出誘導剤を併用することにより、細胞内のポリアミン量を低下させることが出来れば、抗癌作用が期待できます。しかしながら、動物細胞のポリアミン輸送メカニズムは明らかになっておらず、輸送系の阻害剤の開発も困難でした。私は、Gerner 先生の下で動物細胞のポリアミン輸送系について研究を行いました (図 1)。

大腸癌細胞を用いてポリアミンの輸送機構を解析した結果、ポリアミンの取り込みは caveole 依存のエンドサイトーシスによることが明らかになりました。がんの進行に伴って caveolin の発現が低下すると、エンドサイトーシスの頻度が増加し、ポリアミンの取り込み活性が上昇します。取り込まれたポリアミンは、NOS2 の働きによって細胞内小胞から遊離し、細胞増殖促進作用を発揮します。すなわち、NOS2 阻害剤によりポリアミンの取り込みを抑制することが出来ると示唆されました<sup>4)</sup>。また、ポリアミンの排出機構について研究を行った結果、SLC3A2 を含む輸送体がブトレスシン、アセチルポリアミンの排出を行っていることが明らかになりました<sup>5)</sup>。ポリアミンのアセチル化を促進することにより、排出が促進され、細胞内のポリアミン量が低下していました。また、非ステロイド系抗炎症薬 Sulindac によりポリアミンのアセチル化が促進されることが分かりました。これらの知見を応用し、ポリアミンの生合成酵素阻害薬 DFMO と Sulindac を併用した臨床試験では、家族性多ポリープ症からの大腸癌が 70% 減少しました<sup>6)</sup>。この DFMO/Sulindac 併用療法は、ポリアミン生合成酵素の遺伝子多型により感受性が異なることが示唆されています。今後の研究によって、遺伝子多型と薬剤による癌



図 2 Gerner 研究室のメンバー

ロシア、チリ、インド、メキシコ、日本など、様々な国からスタッフが集まってきており、非常に国際的な研究室である。左から Natasha、Rami、Bonnie、Gerner 先生、Kim、筆者、Dave、Edwin、Jenaro。

予防効果が明らかになると、効率的な癌抑制療法として確立されることが期待されています。

## Gerner 研究室

Gerner 研究室は、ポリアミンの生理的機能を明らかにし、細胞内ポリアミン濃度をコントロールすることによって、癌などの細胞増殖異常による疾患をコントロールすることを目的とする研究室です。Gerner 先生を筆頭に、准教授の Natasha、Lab tech の Dave、Karen、院生の Edwin、Jenaro、統計の専門家 Bonnie、秘書の Kim と私の総勢 9 人という、小規模な研究室ですが、一人一人が独立した自分のプロジェクトを持って研究にあたっています (図 2)。各人が自分のプロジェクトについて責任を与えられ、また、Gerner 先生も個人の意見を非常に尊重してくれるので、自分のアイデアや仮説を思い切り追求することが出来ます。当然、プロジェクトの方向性は各人の興味によるので、Gerner 研究室では様々なテーマを扱うことになります。私は輸送系について研究を行っていましたが、他のメンバーはマイクロ RNA、遺伝子多型、遺伝子発現機構や癌



図3 Gerner 家のクリスマスパーティー

私を暖かく、家族の一員として迎えてくれた。

治療中の食餌の影響などに焦点をあてて研究を行っていました。それぞれの扱うテーマは多岐にわたっていますが、ポリアミンの生理的機能を明らかにするという点を共有しているので、ポリアミンを軸にしてお互いのデータや研究計画について頻繁に議論していました。自分一人で考え込んでいると抜け道を見失ってしまうことも多いのですが、Gerner 研究室ではいろいろなテーマを扱う人がいろいろな角度から意見や質問を投げかけてくれるので、意外な解決策や新しいアイデアにたどり着くことも多く、非常に有益でした。帰り際の挨拶から数時間のディスカッションに発展し、生まれたアイデアを試すためにそのまま実験を開始することもよくありました。このように、いろいろな方向から問題を議論し、解決する事が出来たので、今後の研究を行う上で大変有益な勉強が出来たと思います。

Gerner 研究室では、毎週金曜日に研究室セミナーを行います。研究室メンバー全員の前で1週間の研究成果をプレゼンし、今後の研究方針についてディスカッションをします。スライドと板書を用いて全員に分かりやすく説明しなくてはならないので、プレゼンテーションのトレーニングとしては最適でした。また、月曜日には Cancer Center のセミナー、木曜日にはアリゾナ大学の

生物系のセミナーなど、多くの講演を聴く機会がありました。セミナー後は演者と食事をし、自分の研究を紹介しながらディスカッションをする事が出来、思いもよらないアイデアが生まれるなど、大変充実した生活を送ることが出来ました。

Gerner 先生は研究だけではなく、私のアメリカでの生活についても大変気にかけてくれました。まずは生活があつてこそ良い研究が出来るのだから、何か問題があればすぐに相談しなさいと常々言ってくれました。また、感謝祭やクリスマスは家族の一員として迎え入れてくれました(図3)。海外での生活は想像していたほど簡単ではありませんでしたが、Gerner 先生や家族、研究室のメンバー、その他友人達の助けによって、充実した日々を送ることが出来ました。

### 留学の経緯

私が初めて Gerner 先生と出会ったのは、2003 年にイタリア、ローマで行われた 8th International Congress on Amino Acids and Proteins においてです。当時私は出芽酵母のポリアミン輸送系について研究を行っており、動物細胞への応用と病態との関連について研究を進展させたいと考えていました。Gerner 先生は大腸癌のポリアミン濃度調節機構について関心を持っていたので、夕食の時に是非動物細胞のポリアミン輸送系について研究をしたい旨を伝えました。それからメールでのやりとりを開始し、留学後のテーマ、給料、ポジション等について詳細を決めました。私が留学したのは 2007 年ですから、実に 4 年間をかけて留学の準備をしたことになります。

私が Gerner 研究室を留学先に選んだ一番の理由は、Gerner 先生の人柄です。Gerner 先生のプレゼンテーションは大抵数個のセクションから

なっているのですが、各セクションには必ずそのプロジェクトに携わった人の写真と名前がありました。この発見を成し遂げたのはこの人物であると明らかにしてあったのです。このことから、Gerner 先生が弟子をいかに大切にし、その仕事を認めてくれるかが分かりました。私はせっかく海外で研究をするのだから、有名な研究室で大勢の研究者に埋もれてしまうよりも、小規模でも自分の研究が出来、認めてもらえる環境へ行きたいと考えていました。Gerner 研究室は、規模は小さいけれども自分の仕事を自分の研究として行うことの出来る研究室でした。Gerner 先生との会話でそれを確信し、留学を決意しました。Gerner 先生と初めて話したときの、「Tell me what you want to do, I can help you」という言葉がとても印象に残っています。

### ツーソン生活

ツーソンはフェニックスに次ぐアリゾナ州第2の都市であり、アリゾナ大学を中心として広がる大学都市です。人口は約75万人でメキシコ人の移民が多く、街中では英語とスペイン語がほぼ同



図4 砂漠の風景

大学から車で20分走ると、周りは砂漠の光景になる。大きなサボテン Saguaro は、ツーソンを含む Sonora 砂漠にのみ見られる。これらのサボテンは、樹齢数百年を超える。



図5 アリゾナでの魚釣り

砂漠に囲まれて、魚を釣るのは大変気持ちが良い。釣った魚は、焼いて食べることが出来る。左から Kyle、Chris、Benn。

じ割合で使用されています。Sonora 砂漠の一部に属し、固有種である Saguaro というサボテンが印象的な光景を生み出しています(図4)。日差しが非常に強く、夏は連日40℃を超えてとても暑いですが、湿度がとても低いので、日本の夏よりも過ごしやすいです。その代わり、常に水を携帯していないと、命の危険があります。一方、冬は寒く、夜には氷点下になります。山の頂上付近では雪も降るので、砂漠の中でスキーを楽しむことも出来ます。1年を通して雨はほとんど降らないのですが、5月から6月にかけて夕方に1時間ほど強い雨が降ります。この時期になるとサボテンの花が一斉に咲き、非常に美しい光景です。また、周囲を囲む山の中腹には、人造湖があり、鱒などの魚釣りを楽しめます(図5)。車で数時間走れば、雄大なグランドキャニオンやアリゾナ大隕石孔を見ることが出来ます。

外国で生活するに当たり、問題となるのは、食事だと思います。アリゾナでは日本食や寿司が人気で、街中に中国人や韓国人オーナーによる店が結構あるのですが、値段が高く、味も良いとはいえません。日本食の材料を手に入れるために車で片道3時間ほどかけて買い出しに行き、帰り道で冷凍品が全て溶けてしまう事もよくありました。



しかし、郷に入っては郷に従えということで、アメリカの食事を取り入れると、急に生活が楽になりました。牛肉は安くておいしく、特に T-bone ステーキは忘れられない味です。また、ツーソンはメキシコ料理も多いのですが、タコス、ブリトーなどは手軽で安く、栄養も良いのでポスドクには最適の食事でした。

ツーソンの人々はとても穏やかで、外国人である私にもとても親切にしてくれました。バスの中やスーパーマーケットで英語が分からず困っていると、必ず誰かが助けてくれました。また、ツーソンでは日本人の結束が強く、色々な会社や研究機関から留学に来ている人たちや、ツーソンに移住した人たちと出会うことが出来ました。生活様式や食事など、慣れないことの多い時期に、色々と助けてくれました。留學生活を無事に過ごせたのも、こういった多くの人たちの助けがあつてのことで、大変感謝しています。

## おわりに

ここまで、まとまりのない話になってしまいましたが、最後に私が、留學前にここをもっと勉強しておけば良かったと思ったことを紹介したいと思います。私がアリゾナに行ってまず驚いたのは、多くの人が日本についてとても興味を持っていたということです。特に日本の歴史やそれに対する日本人としての意見を多く聞かれました。太平洋戦争について日本人はどう考えているのか、現在の日米関係について、毎年のように首相が代わるのはどういったことか等の話や、侍や忍者の話、切腹の意義について等よく聞かれました。これらの質問について、私は正確に答えることが出来ませんでした。自分が日本という国について実はよく知らないと言うことがつきました。日本人として、外国人に日本という国についてきちんと説

明できる程度に、日本について勉強しておけば良かったと反省しています。

以上が私のアリゾナ留學体験です。全く要領を得ない文章になってしまって申し訳ありませんが、これから留學される方々の参考に少しでもなれば幸いです。最後に、アメリカで研究をするという夢を叶えてくれた Gerner 先生、学生時代からご指導いただき、留學に際しても多くのお力添えを頂きました五十嵐一衛先生に感謝致します。最後まで拙い文章を読んでいただきましてありがとうございました。

## 参考文献

1. Russell, D. H. Increased polyamine concentrations in the urine of human cancer patients. *Nature New Biol.* 233, 144–145 (1971).
2. Metcalf, B. W. et al. Catalytic irreversible inhibition of mammalian ornithine decarboxylase (E.C.4.1.1.17) by substrate and product analogs. *J Am Chem Soc* 100, 2551–2553 (1978).
3. Gerner, E. W. Impact of dietary amino acids and polyamines on intestinal carcinogenesis and chemoprevention in mouse models. *Biochem Soc Trans* 35, 322–325 (2007).
4. Uemura, T., Stringer, D. E., Blohm-Mangone, K. A. & Gerner, E. W. Polyamine transport is mediated by both endocytic and solute carrier transport mechanisms in the gastrointestinal tract. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 299, G517–22 (2010).
5. Uemura, T. et al. Identification and characterization of a diamine exporter in colon epithelial cells. *J Biol Chem* 283, 26428–26435 (2008).
6. Laukaitis, C. M. & Gerner, E. W. DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 25, 495–506 (2011).

## 学会より

### ○第6回年会のお知らせ

拝 啓

長かった酷暑もようやく一段落し、さわやかな季節を迎え、皆様におかれましては益々ご清栄のこととお慶び申し上げます。

さて、日本ポリアミン学会第6回年会を東京都港区にて開催させていただきます。是非、ご参加くださいますようお願い申し上げます。

まだ詳細なご案内をするにいたっていない点があり申し訳ありませんが、以下に、年会の概要等をご案内いたします。

敬 具

第6回年会担当 石田真巳

#### 1. 年会概要

会期：平成27年1月19日（月）～20日（火）

会場：東京海洋大学 品川キャンパス 楽水会館 大会議室

住所：〒108-8477 東京都港区港南4-5-7 東京海洋大学品川キャンパス

Tel：03-5463-0586； Fax：03-5463-0589

URL：<http://www.kaiyodai.ac.jp>（東京海洋大学のホームページ）

懇親会：1月19日（月）18時頃～

会場（予定）東京海洋大学 大学会館 生協食堂ホール

スケジュール（案）：1月19日（月）13：00～20日（火）15：00

特別講演については追ってお知らせいたします。

一般講演は、すべて口頭発表で行います。

発表10分、討論3分、合計13分（予定）

発表データはWindows版Microsoft PowerPointで作成してください。発表データはあらかじめUSBメモリに保存したものをご持参ください。会場のPCにはWindows 7、PowerPoint 2010を用意する予定です。Mac版で作成された場合には、ご自身のPC並びに接続アダプタをお持ちください。

#### 2. 参加費用等について

| 年会参加費 | 正会員     | 学生会員    | 非会員     | 学生非会員   |
|-------|---------|---------|---------|---------|
| 事前登録  | 2,000 円 | 1,000 円 | 4,000 円 | 2,000 円 |
| 当日参加  | 3,000 円 | 2,000 円 | 4,000 円 | 2,000 円 |

\* 懇親会費については追ってお知らせいたします。





## 事務連絡

- ・ 宿泊について

会場の周辺のホテルについて追ってお知らせいたします。

- ・ 2日目の昼食

学内の学生食堂（生協）が通常営業しております。在学生も利用する平日のため、多少混雑が予想されます。学外の周辺に徒歩 10 分程度の範囲に多数の食堂やレストランもございます。

### 3. 演題申込みおよび事前参加申込み

詳細につきましては追ってご案内いたします。申込期限は平成 26 年 12 月初旬を予定しております。

### 4. 交通アクセスについて

東京海洋大学のホームページ（URL：<http://www.kaiyodai.ac.jp> の「大学紹介」→「交通案内 品川キャンパス」）をご覧ください。大学に近い駅は、JR 線・京浜急行線「品川駅」と東京モノレール・りんかい線「天王洲アイル駅」です。鉄道では、「品川駅・港南口（東口）」から徒歩約 10 分、または、りんかい線「天王洲アイル駅」から徒歩約 20 分で東京海洋大学の正門に着きます。空路では羽田空港から、京浜急行線で「品川駅」下車、または東京モノレールで「天王洲アイル駅」下車（徒歩約 15 分）で東京海洋大学の正門に着きます。大学の正門から楽水会館までは徒歩約 1 分です。

お問い合わせは、年会担当の石田まで e-mail でお願いいたします。

第 6 回年会専用 e-mail: 6th\_polyamine@m.kaiyodai.ac.jp

日本ポリアミン学会第 6 回年会事務局

〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

東京海洋大学大学院 海洋科学系 海洋環境学部門

海洋生化学研究室

石田 真巳

Tel : 03-5463-0586 Fax : 03-5463-0589

第 6 回年会専用 e-mail: 6th\_polyamine@m.kaiyodai.ac.jp



## 事務連絡

### ○第7回年会のお知らせ

会期：平成27年11月13日（金）・14日（土）

会場：京都工芸繊維大学（京都市）を予定しています

年会担当：鈴木秀之（〒606-8585 京都市左京区松ヶ崎御所海道町 京都工芸繊維大学大学院  
工芸科学研究科応用生物学部門微生物工学研究室）

電話：075-724-7763

e-mail：未定

11月は京都観光のピークシーズンです。間際になってからだと京都市内の宿泊施設は予約が困難になることが予想されます。各自、早めのご予約をお勧めいたします。

### ○学会費の納入をお願いいたします

平成26年度の年会費の納入をお願いいたします。

1. 会費（年額）正会員 一般 4,000 円・学生 2,000 円  
賛助会員 30,000 円

2. 振込先

三菱東京 UFJ 銀行

支店名：虎ノ門（とらのもん） 支店番号：041

口座種類：普通口座

口座番号：0084363

口座名義：日本ポリアミン学会 事務局 松藤千弥

よろしくお願いいたします。

納入方法はポリアミン学会 HP からご覧になれます。

<http://pa.umin.jp/gakkaihi.html>



### ポリアミン関連書籍出版のご案内

2013年3月、仙台市の東北大学川内キャンパス内で行われた日本農芸化学会の年会にてポリアミンに関するシンポジウムを開催した際、スプリンガー社の方から、ポリアミンに関する英文書籍の出版を提案された。上述の経緯を持って、以下の書籍がまもなく（2014年11月予定）出版される。ポリアミンに興味のある多くの方々に手に取っていただけたら、幸いである。

＜草野友延・鈴木秀之＞

Title: Polyamines: A universal molecular nexus for growth, survival and specialised metabolism

Co-editors: Tomonobu Kusano, Hideyuki Suzuki

#### Table of contents

##### Preface

##### Biosynthesis of polyamines

Chapter 1. Biosynthesis of polyamines in eukaryotes, archaea, and bacteria  
---Anthony J. Michael

Chapter 2. Long-chain and branched polyamines in thermophilic microbes  
---Wakao Fukuda, Ryota Hidese, and Shinsuke Fujiwara

Chapter 3. Regulation of polyamine biosynthesis in plants  
---Taku Takahashi and Wurina Tong

##### Catabolism of polyamines

Chapter 4. Polyamine catabolism in prokaryotes  
---Hideyuki Suzuki and Shin Kurihara

Chapter 5. Mammalian polyamine catabolism  
---Tracy Murray-Stewart and Robert A. Casero, Jr.

Chapter 6. Polyamine catabolism in plants  
---Tomonobu Kusano, Dong Wook Kim, Taibo Liu, and Thomas Berberich

##### Polyamine homeostasis

Chapter 7. Antizyme  
---Noriyuki Murai

Chapter 8. Bacterial antizyme  
---Yoshiyuki Kamio, Yoshihiro Yamaguchi, and Jun Kaneko

Chapter 9. Polyamine homeostasis in plants: The role(s) of evolutionarily conserved upstream ORFs  
---Sunil Kumar Thalor, Thomas Berberich, and Tomonobu Kusano

##### Roles of polyamines on growth

Chapter 10. Role of the polyamine spermidine as a precursor for hypusine modification in eIF5A  
--- Edith C. Wolff and Myung Hee Park

Chapter 11. The polyamine modulon: Genes encoding proteins whose synthesis is enhanced by polyamines at the level of translation  
---Kazuei Igarashi, Yusuke Terui, and Keiko Kashiwagi



Chapter 12. Protein synthesis and polyamines in thermophiles: Effect of polyamines on nucleic acid maintenance and gene expression

--- Shinsuke Fujiwara, Ryota Hidese, and Wakao Fukuda

Roles of polyamines on survival

Chapter 13. Polyamines in plant stress response

---Thomas Berberich, G.H.M. Sagor, and Tomonobu Kusano

Polyamine transporters

Chapter 14. Recent advances in bacterial polyamine transport systems

---Shin Kurihara and Hideyuki Suzuki

Chapter 15. Polyamine transport systems in plants

---Miki Fujita and Kazuo Shinozaki

Polyamine-derived secondary metabolites

Chapter 16. Polyamine-derived alkaloids in plants: Molecular elucidation of biosynthesis

---Tsubasa Shoji and Takashi Hashimoto

Chapter 17. Polyamine toxins from spiders and wasps

---Xiaofeng Xiong and Kristian Strømgaard

Action of polyamines on ion channels

Chapter 18. Polyamine block of inwardly rectifying potassium (Kir) channels

---Harley T. Kurata

Chapter 19. Polyamine action on plant ion channels and pumps

---Igor Pottosin

Chapter 20. Regulation of N-methyl-D-aspartate receptors by spermine and ifenprodil

--- Keiko Kashiwagi, Keith Williams, and Kazuei Igarashi

Polyamines and life longevity

Chapter 21. Polyamines and longevity in mammals

---Mitsuharu Matsumoto

Chapter 22. Polyamine interactions with plant hormones: Crosstalk at several levels

---Raheel Anwar, Autar K. Mattoo, and Avtar K. Handa

Diagnosis and drug targets

Chapter 23. N<sup>1</sup>,N<sup>12</sup>-diacetylspermine in human urine: Performance as a tumor marker, quantification, production, and excretion

---Masao Kawakita, Kyoko Hiramatsu, Shun-suke Moriya, Keijiro Samejima, and Kei-ichi Takahashi

Chapter 24. Targeting the polyamine biosynthetic pathway in parasitic protozoa

---Nahir Velez and Margaret A. Phillips







肌寒い季節になりましたが、皆さんいかがお過ごしでしょうか。

第1巻2号の「ポリアミン」が完成し、学会誌としての形ができたのではないかと思います。この形を大切にしつつ、さらに進化させていきたいと考えています。大澤先生の巻頭言にもありましたが「基礎から応用へ」と常に考えつつ、基礎研究の発展の大切さも考えなければいけないと思います。本学会所属の先生がたも基礎研究の成果を臨床に役立てるためのトランスレーショナルリサーチを実践し、素晴らしい研究を展開しております。この学会誌「ポリアミン」では、今後、基礎研究に関する総説をたくさん掲載する予定です。さらに、ポリアミン研究に関するトランスレーショナルリサーチを皆様に紹介できるようにしたいと考えております。また、①新規にポリアミンの研究を始める若手研究者や外部参加者の研究が効率よく進むためのサポートを目的とした学術的に有益な情報を提供する、②若手研究者の意見の発表の場として利用してもらう、③ポリアミン学会の存在を他の研究領域の研究者にアピールする、という課題を設定し、学会誌「ポリアミン」が貢献出来ることを突き詰めていきたいと思っています。

読者のみなさまからのご提案があれば、議題に挙げて話し合っていきたいと思いますので、是非ともご意見お願いします。「ポリアミン」の広報委員会のメンバーで新しい試みを提案し、形に出来るように努力していきたいと考えております。できれば、どの学会誌でも実現していない全く新しい有意義な企画を立案したいと思っています。

(広報委員会 委員 松本靖彦)

広報委員会よりお知らせ

2014年9月1日付けで、根本直樹先生（千葉工業大学）が新たに広報委員に就任したことをお知らせいたします。さらにパワーアップして編集作業を進めて参ります。

**日本ポリアミン学会 学会誌「ポリアミン」**  
**第1巻2号（2014年10月）**

発行：日本ポリアミン学会

<http://pa.umin.jp/>

[polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)

製作：日本ポリアミン学会 広報委員会