

28P-pm01S

グリコサミノグリカン鎖合成に対するポリアミンの効果

○今村 正隆¹, 東 恭平¹, 降幡 知巳¹, 西村 和洋¹, 五十嵐 一衛², 戸井田 敏彦¹
(¹千葉大院薬, ²アミンファーマ研)

[目的] ポリアミンは生物に普遍的に存在する塩基性生理活性アミンであり、細胞増殖・分化に必須の因子である。ポリアミンは大腸菌において、特定蛋白質の合成を翻訳レベルで促進することにより、細胞増殖や生存率の維持に関与することが明らかになりつつある。しかしながら、真核細胞におけるポリアミンの生理作用はほとんど明らかとなっていない。私達はポリアミンにより発現調節を受ける真核細胞の遺伝子を探索すべく、初期胚の細胞質分裂や形態形成・骨格形成など数多くの生命現象に関与するグリコサミノグリカン (GAG)、特にヘパラン硫酸 (HS)及びコンドロイチン硫酸 (CS)に注目し、ポリアミンの有無による GAG の二糖組成及び量を検討した。

[方法] ポリアミン生合成律速酵素阻害剤である α -difluoromethyl ornithine (DFMO) を添加し、細胞内ポリアミン量を減少させた。GAG はイオン交換スピンカラムを用いて精製し、特異的分解酵素により不飽和二糖へと分解した後、ポストカラム HPLC 法により検出した。

[結果・考察] ポリアミンの有無による HS の二糖組成はほとんど変化しなかったが、ポリアミン量の減少により、HS 量の減少傾向が認められた。そこで、ポリアミンの有無による HS ポリメラーゼの発現量をウェスタンブロット法で検討したところ、細胞内ポリアミン量の減少により EXT2 の発現量が減少していた。次にポリアミンの有無による、CS の組成及び量を検討した。その結果、ポリアミン減少によりコンドロイチン 6 硫酸に対する 4 硫酸の比 (4S/6S 比)が減少していた。更にコンドロイチン 4 硫酸-O-硫酸基転移酵素 C4ST-1 の発現量がポリアミンにより著しく減少していることを RT-PCR により明らかにした。以上の結果より、ポリアミンは EXT2 及び C4ST-1 の発現量を調節することで HS と CS の組成及び量をそれぞれ変化させていることが示唆された。