

ポリアミンと RNA、蛋白質との相互作用に基づく  
細胞機能のモジュレーション

課題番号 14370739

平成14年度～平成15年度科学研究費補助金〔基盤研究 (B) (2)〕研究成果報告書

平成16年3月

研究代表者 五十嵐 一衛  
(千葉大学大学院薬学研究院教授)

## はしがき

生理活性物質ポリアミン（プトレスシン、スペルミジン、スペルミン）の機能は、細胞増殖時に増加するポリアミンによる蛋白質合成促進に基づく遺伝情報伝達のリモジュレーションと、生命の維持に必須なイオンチャネル（NMDA 受容体、K<sup>+</sup>チャネル等）の活性を調節する機能の二つに大別される。前者は大腸菌を用いて研究し、現在までに栄養供給に関与するオリゴペプチド結合蛋白質（OppA）、cAMP を産生するアデニル酸シクラーゼ、RNA ポリメラーゼの開始因子  $\sigma^{38}$ 、鉄輸送蛋白質合成の転写促進因子 FecI ( $\sigma^{18}$ ) 及び rRNA、ある種の tRNA 合成の転写促進因子 Fis の合成がポリアミンにより翻訳レベルで合成促進を受けることを明らかにした。これら 5 種の蛋白質は、細胞増殖促進に関与する多くの mRNA の合成を促進し、細胞増殖に寄与している。一方、NMDA 受容体のポリアミンによる調節（脱分極時の促進、過分極時の阻害）に関しては、既に促進に関与するポリアミンの結合部位のモデル構造を 1999 年に報告しており、今回は阻害に関与するポリアミンの結合部位の構造を明らかにした。また、脳におけるポリアミンの輸送・放出を解析し、ポリアミンがニューロモジュレーターとして機能する可能性を強く示唆した。

## 研究組織

|       |       |                   |
|-------|-------|-------------------|
| 研究代表者 | 五十嵐一衛 | （千葉大学大学院薬学研究院教授）  |
| 研究分担者 | 柏木 敬子 | （千葉大学大学院薬学研究院助教授） |

## 研究経費

|        |            |
|--------|------------|
| 平成14年度 | 10, 100 千円 |
| 平成15年度 | 4, 000 千円  |
| 計      | 14, 100 千円 |

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. K. Nishimura, F. Nakatsu, K. Kashiwagi, H. Ohno, T. Saito, and K. Igarashi: Essential role of S-adenosylmethionine decarboxylase in mouse embryonic development. *Genes Cells* 7, 41-47 (2002)
2. K. Kashiwagi, T. Masuko, C. D. Nguyen, T. Kuno, I. Tanaka, K. Igarashi, and K. Williams: Channel blockers acting N-methyl-D-aspartate receptors: Differential effects of mutations in the vestibule and ion channel pore. *Mol. Pharmacol.* 61, 533-545 (2002)
3. K. Nishimura, Y. Ohki, T. Fukuchi-Shimogori, K. Sakata, K. Saiga, T. Beppu, A. Shirahata, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Inhibition of cell growth through inactivation of eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A) by deoxyspergualin. *Biochem. J.* 363, 761-768 (2002)
4. T. Nitta, K. Igarashi, and N. Yamamoto: Polyamine depletion induces apoptosis through mitochondria-mediated pathway. *Exp. Cell Res.* 276, 120-128 (2002)
5. G. Hirokawa, M. C. Kiel, A. Muto, M. Selmer, V. S. Raj, A. Liljas, K. Igarashi, H. Kaji, and A. Kaji: Post-termination complex disassembly by ribosome recycling factor, a functional tRNA mimic. *EMBO J.* 21, 2272-2281 (2002)
6. K. Kashiwagi, A. Innami, R. Zenda, H. Tomitori, and K. Igarashi: The ATPase activity and the functional domain of PotA, a component of the spermidine-preferential uptake system in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 277, 24212-24219 (2002)
7. M. Kawano, K. Igarashi, I. Yamato, and Y. Kakinuma: Arginine residue at position 573 in *Enterococcus hirae* vacuolar-type ATPase NtpI subunit plays a crucial role in Na<sup>+</sup> translocation. *J. Biol. Chem.* 277, 24405-24410 (2002)
8. G. Hirokawa, M. C. Kiel, A. Muto, G. Kawai, K. Igarashi, H. Kaji, and A. Kaji: Binding of ribosome recycling factor to ribosomes, comparison with tRNA. *J. Biol. Chem.* 277, 35847-35852 (2002)
9. M. Yoshida, K. Kashiwagi, G. Kawai, A. Ishihama, and K. Igarashi: Polyamines enhance synthesis of the RNA polymerase  $\sigma^{38}$  subunit by suppression of an amber termination codon in the open reading frame. *J. Biol. Chem.* 277, 37139-37146 (2002)
10. V. S. Raj, C. Füll, M. Yoshida, K. Sakata, K. Kashiwagi, A. Ishihama, and K. Igarashi: Decrease in cell viability in an RMF,  $\sigma^{38}$  and OmpC triple mutant of *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 299, 252-257 (2002)
11. K. Samata, T. Yamagishi, T. Ichihara, K. Nanaumi, T. Ikeda, H. Ikeya, A. Kuraishi, S. Nakaike, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Establishment and characterization of mouse FM3A cell mutant resistant to topoisomerase II-inhibitor NC-190. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 50, 367-372 (2002)
12. H. Tomitori, M. Neno, K. Mita, K. Daino, K. Igarashi, and S. Ichimura: Functional characterization of the human spermidine/spermine N<sup>1</sup>-acetyltransferase gene promoter. *Biochim. Biophys. Acta* 1579, 180-184 (2002)
13. T. Masuko, K. Kusama-Eguchi, K. Sakata, T. Kusama, S. Chaki, S. Okuyama, K. Williams, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Polyamine transport, accumulation, and release in brain. *J. Neurochem.* 84, 610-617 (2003)
14. K. Sakata, K. Kashiwagi, S. Sharmin, S. Ueda, and K. Igarashi: Acrolein produced from

- polyamines as one of the uremic toxins. *Biochem. Soc. Trans.* 31, 371-374 (2003)
15. K. Williams, M. Dattilo, T. N. Sabado, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Pharmacology of  $\delta 2$  glutamate receptors: Effects of pentamidine and protons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 305, 740-748 (2003)
  16. K. Sakata, K. Kashiwagi, S. Sharmin, S. Ueda, Y. Irie, N. Murotani, and K. Igarashi: Increase in putrescine, amine oxidase and acrolein in plasma of renal failure patients. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 143-149 (2003)
  17. C.-M. Low, P. Lyuboslavsky, A. French, P. Le, K. Wyatte, W. H. Thiel, E. M. Marchan, K. Igarashi, K., Kashiwagi, K. Gernert, K. Williams, S. F. Traynelis, and F. Zheng: Molecular determinants of proton-sensitive *N*-methyl-D-aspartate receptor gating. *Mol. Pharmacol.* 63, 1212-1222 (2003)
  18. M. Kai, C. Kaito, H. Fukamachi, T. Higo, E. Takayama, H. Hara, Y. Ohya, K. Igarashi, and K. Shiokawa: Overexpression of *S*-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC) in *Xenopus* embryos activates maternal program of apoptosis as a "fail-safe" mechanism of early embryogenesis. *Cell Res.* 13, 147-158 (2003)

## (2) 口頭発表

1. 吉田 円, 柏木敬子, 河合剛太, 石浜 明, 五十嵐一衛: ポリアミンレギュロンの翻訳レベルでの発現調節機序. 日本ポリアミン研究会-第 17 回研究発表会, 平成 14 年 1 月
2. 柏木敬子, 益子 崇, 久野智子, 田中郁子, K. Williams, 五十嵐一衛: NMDA 受容体チャネル領域の構造. 日本ポリアミン研究会-第 17 回研究発表会, 平成 14 年 1 月
3. 新田 剛, 五十嵐一衛, 山本三毅夫, 山本直樹: B 細胞のアポトーシスにおけるポリアミンの役割. 日本ポリアミン研究会-第 17 回研究発表会, 平成 14 年 1 月
4. 坂田かおり, 柏木敬子, S. Sharmin, 上田志朗, 白幡 晶, 五十嵐一衛: 腎不全患者血中におけるポリアミンの尿毒素への変換. 日本ポリアミン研究会-第 17 回研究発表会, 平成 14 年 1 月
5. 柏木敬子: NMDA (*N*-methyl-D-aspartate) 受容体の構造・機能解析並びに脳機能改善薬の開発. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
6. 柏木敬子, 五十嵐一衛: ポリアミンと脳機能. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
7. 西村和洋, 中津 史, 柏木敬子, 大野博司, 齋藤 隆, 五十嵐一衛: *S*-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素遺伝子 (*Amd1*) ノックアウトマウスの胚性致死の解析. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
8. 植村武史, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 出芽酵母 GABA 輸送蛋白質 UGA4 によるポリアミン輸送. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月, 114 (2002)
9. W. Soksawatmaekhin, 小林名都子, 柏木敬子, 五十嵐一衛: カダベリン輸送蛋白質 CadB の構造と機能. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
10. 吹譯友秀, 久野智子, 柏木敬子, 五十嵐一衛: NMDA 受容体の調節領域タンパク質の精製とその性質. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
11. 益子 崇, 草間國子, 柏木敬子, 木村榮一, 五十嵐一衛, 草間 貞: 大環状ポリアミンによる NMDA 受容体活性調節. 日本薬学会第 122 年会, 平成 14 年 3 月
12. 吉田 円, 柏木敬子, 河合剛太, 石浜 明, 五十嵐一衛: ポリアミンによる RNA ポリメラーゼ  $\sigma^{38}$  サブユニットの合成促進機序. 第 4 回日本 RNA ミーティング (第 4

- 回日本 RNA 学会年会), 平成 14 年 7 月
13. 廣川 剛, M. C. Kiel, 六藤愛子, V. S. Raj, 梶 日出子, 五十嵐一衛, 梶 昭: RRF と EF-G による翻訳終結後複合体からの mRNA 遊離には tRNA の遊離が必須ではあるが十分では無い. 第 4 回日本 RNA ミーティング (第 4 回日本 RNA 学会年会), 平成 14 年 7 月
  14. 柏木敬子, 五十嵐一衛: タンパク質との相互作用に基づくポリアミンの生理作用. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  15. 坂田かおり, 柏木敬子, 上田志朗, 五十嵐一衛: 腎不全疾患におけるポリアミンの尿毒性発生機序. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  16. 山下智子, 西村和洋, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 細胞周期におけるポリアミンの機能解析. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  17. 吉田 円, 柏木敬子, 河合剛太, 石浜 明, 五十嵐一衛: ポリアミンによる RNA ポリメラーゼ  $\sigma^{38}$  サブユニットの合成促進機序. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  18. 廣川 剛, M. C. Kiel, 六藤愛子, V. S. Raj, 梶 日出子, 五十嵐一衛, 梶 昭: 翻訳終結後複合体分解反応における各種蛋白質合成阻害剤の影響. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  19. W. Soksawatmaekhin, 倉石愛子, 柏木敬子, 五十嵐一衛: *cadBA* オペロンの生理的な役割に関する研究. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  20. 善田理沙, 印南 朱, 柏木敬子, 五十嵐一衛: スペルミジン優先取り込み系の PotA ATPase の活性調節と複合体形成時における PotB および PotC との相互作用. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  21. 新田 剛, 五十嵐一衛, 山本直樹: 細胞内ポリアミンの減少によるアポトーシスとその実行経路の解析. 第 75 回日本生化学会大会, 平成 14 年 10 月
  22. 柏木敬子, 五十嵐一衛: ポリアミンによる NMDA 受容体活性調節. 第 24 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 平成 14 年 11 月
  23. 植村武史, 立原 健, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 出芽酵母における細胞内ポリアミン濃度調節に果たす液胞の役割. ファーマ・バイオフィォーラム 2002, 平成 14 年 11 月
  24. 山下智子, 西村和洋, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 細胞周期におけるポリアミンの機能解析. ファーマ・バイオフィォーラム 2002, 平成 14 年 11 月
  25. 五十嵐一衛: ポリアミンは蛋白質合成の潤滑剤. 「ゲノム広場」 in 東京, 平成 14 年 11 月
  26. M. Yoshida, K. Kashiwagi, G. Kawai, A. Ishihama, and K. Igarashi: Polyamine modulation of protein synthesis through its interaction with RNA-Mg<sup>2+</sup>. *The 2nd Symposium on Chemical Biology of Metal Sensors with Switching Functions*, Kyoto, Japan, 平成 14 年 10 月
  27. K. Igarashi: Acrolein produced from polyamines as one of the uremic toxins. *Biochemical Aspects of Health and Disease*, London, UK, 平成 14 年 12 月
  28. 善田理沙, 印南 朱, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 大腸菌と *Thermotoga maritima* のスペルミジン優先取り込み系 ATPase PotA の機能. 日本ポリアミン研究会-第 18 回研究発表会, 平成 15 年 2 月
  29. 富取秀行, 根井 充, 三田和英, 台野和広, 五十嵐一衛, 市村幸子: スペルミジン/スペルミン N<sup>1</sup> アセチル転移酵素の遺伝子転写制御領域の解析. 日本ポリアミン研究会-第 18 回研究発表会, 平成 15 年 2 月
  30. 吉田 円, 柏木敬子, 石浜 明, 五十嵐一衛: ポリアミンモジュロンによる遺伝子発現調節と新規モジュロンの同定. 日本ポリアミン研究会-第 18 回研究発表会, 平成 15

年 2 月

31. 柏木敬子, 益子 崇, 廣瀬直雄, 草間國子, 坂田かおり, 草間 貞, 茶木茂之, 奥山茂, K. Williams, 五十嵐一衛: スペルミンによる NMDA 受容体活性調節. 日本ポリアミン研究会-第 18 回研究発表会, 平成 15 年 2 月
32. 室積 香, 西村和洋, 柏木敬子, 五十嵐一衛: スペルミジン含有タンパク質 eIF5A の細胞増殖に果たす役割. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
33. 東 恭平, 吉田 円, 坂田かおり, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 翻訳過程における frameshift 及び suppression に対するポリアミンの効果. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
34. 佐久間愛, 坂田かおり, 柏木敬子, 五十嵐一衛: ウサギ網状赤血球および FM3A 細胞を用いた蛋白質合成開始機序の解析. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
35. 植村武史, 立原 健, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 出芽酵母ポリアミン輸送蛋白質の細胞内分布とその活性調節. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
36. 草間國子, 伊東育己, 山本誠人, 須田篤博, 草間 貞, 渡邊和子, 池上文雄, 五十嵐一衛, F. Lambein: ラット初代培養脊髄細胞の細胞内カルシウムイオン動態に対する  $\beta$ -ODAP の影響. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
37. 益子 崇, 草間國子, 坂田かおり, 草間 貞, 茶木茂之, 奥山 茂, 渡辺和子, 柏木敬子, 五十嵐一衛: シナプスにおけるポリアミン輸送系. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
38. 鈴木郁子, 益子 崇, 草間國子, 渡辺和子, 柏木敬子, 五十嵐一衛, 草間 貞: Monoamine による *N*-methyl-D-aspartate 受容体活性調節. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月
39. 植村武史, 立原 健, 友成由紀, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 出芽酵母プトレスシン輸送蛋白質の同定と解析. 東京慈恵会医科大学学外共同研究シンポジウム ポリアミンと核酸の共進化 第 2 回合同シンポジウム, 平成 15 年 9 月
40. 真鍋育子, 坂田かおり, 廣川 剛, 柏木敬子, 五十嵐一衛: 小麦胚蛋白質合成系を用いた *S*-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC) の uORF の機能解析. 東京慈恵会医科大学学外共同研究シンポジウム ポリアミンと核酸の共進化 第 2 回合同シンポジウム, 平成 15 年 9 月
41. 坂田かおり, 臼井照喜, 西村和洋, 柏木敬子, 上田志朗, 五十嵐一衛: 腎不全疾患の尿毒素としてのアクロレインと発生機序. 東京慈恵会医科大学学外共同研究シンポジウム ポリアミンと核酸の共進化 第 2 回合同シンポジウム, 平成 15 年 9 月
42. M. Yoshida, K. Kashiwagi, A. Ishihama, and K. Igarashi: Identification of polyamine modulons and regulation of gene expression by the modulons. 第 76 回日本生化学会大会, 平成 15 年 10 月
43. W. Soksawatmaekhin, A. Kuraishi, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Excretion and uptake of cadaverine by CadB and its physiological functions. 第 76 回日本生化学会大会, 平成 15 年 10 月
44. K. Kashiwagi, K. Williams, M. Dattilo, T. N. Sabado, and K. Igarashi: Properties of  $\delta$ 2 glutamate receptors: effects of pentamidine and protons. 第 76 回日本生化学会大会, 平成 15 年 10 月
45. M. Tamura, T. Hirose, T. Hoshino, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Molecular determinants involved in spermine regulation of NMDA receptors. 第 76 回日本生化学会大会, 平成 15 年 10 月
46. G. Hirokawa, H. Kaji, K. Igarashi, and A. Kaji: Ribosomes are released from the end of mRNA and inactivated upon *in vivo* removal of ribosome recycling factor (RRF). 第 76 回日本生化学会大会, 平成 15 年 10 月

47. T. Yamashita, K. Nishimura, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Role of polyamines on cell cycle progression. 第76回日本生化学会大会, 平成15年10月
48. 柏木敬子, 田村真紀, K. Williams, 五十嵐一衛: グルタミン酸受容体膜領域の役割. 第25回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 平成15年11月
49. 五十嵐一衛: ポリアミンは蛋白質合成の潤滑剤. 「ゲノム広場」 in 東京, 平成15年11月
50. K. Igarashi: Acrolein produced from polyamines is correlated with the degree of seriousness of chronic renal failure and cerebral ischemia. *2nd Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences: "Pharmacy of Better Quality of Life"*, Bangkok, Thailand, 平成15年5月
51. M. Yoshida, K. Kashiwagi, A. Ishihama, and K. Igarashi: Identification of polyamine modulons and regulation of gene expression by the modulons. *Gordon Research Conference on Polyamines*, New London, CT, USA, 平成15年6月
52. K. Nishimura, K. Murozumi, A. Shirahata, M. H. Park, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Independent role of eIF5A and polyamines in cell proliferation. *Gordon Research Conference on Polyamines*, New London, CT, USA, 平成15年6月
53. T. Uemura, H. Tomitori, K. Tachihara, K. Kashiwagi, and K. Igarashi: Cellular localization of TPO proteins and regulation of TPO activity by phosphorylation. *Gordon Research Conference on Polyamines*, New London, CT, USA, 平成15年6月
54. K. Kashiwagi: Polyamine transport in eukaryotic and prokaryotic cells. *Gordon Research Conference on Polyamines*, New London, CT, USA, 平成15年6月
55. K. Kashiwagi, W. Soksawatmaekhin, A. Kuraishi, K. Sakata, and K. Igarashi: Role of CadB in cell growth and viability at acidic pH. *The Awaji International Forum on Infection and Immunity*, Awaji, Japan, 平成15年8月
56. K. Kusama-Eguchi, M. Yamamoto, T. Ueda, A. Suda, T. Kusama, Y. Ito, F. Ikegami, K. Igarashi, F. Lambein, and K. Watanabe: *In vivo* and *in vitro* study on the mechanism of pathogenesis of neurolathyrism. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*, Rome, Italy, 平成15年9月
57. K. Igarashi: Identification of polyamine modulons and regulation of gene expression by the modulons. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*, Rome, Italy, 平成15年9月
58. K. Kashiwagi, T. Uemura, H. Tomitori, K. Tachihara, and K. Igarashi: Cellular localization of polyamine transporters TPO1 to TPO4 and regulation of TPO1 activity by phosphorylation. *8th International Congress on Amino Acids and Proteins*, Rome, Italy, 平成15年9月

(出版物)

1. 五十嵐一衛 (分担翻訳): レーニンジャーの新生化学第3版 (下巻), 廣川書店 (2002)
2. 五十嵐一衛 (分担執筆): 分子生物学第2版, 丸善 (2003)
3. 五十嵐一衛 (分担翻訳): マシューズ ホルダ アハーン カラー生化学, 西村書店 (2003)