

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 研究進捗評価用〕

平成29年度採択分
令和2年3月31日現在

食を起源とする短寿命分子種の生命基盤

Life science basis of short-lived reactive species
originated from foods

課題番号：17H06170

内田浩二（UCHIDA, KOJI）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



研究の概要（4行以内）

生体内では、食品成分の代謝などに伴い、様々な不安定中間体や活性種が生成される。これらの分子種は、病気の発症や進展など、私たちの健康とも密接に関連している。本研究では、食を起源とする短寿命分子種の特定および特異的検出系の開発とともに、センサータンパク質の同定やタンパク質機能制御機構の解明、さらにタンパク質の機能獲得に関する研究を展開する。

研究分野：農芸化学 食品科学

キーワード：短寿命活性種、自然免疫、ポリスルフィド、タンパク質フォールディング

1. 研究開始当初の背景

食品素材としての植物は、ビタミンやミネラルなどの供給源であることはいまでもなく、老化や疾病に対する予防効果のあるポリフェノールや含硫化合物など様々な生体調節機能成分を含むなど、機能性成分の宝庫である。一方、これらの食品成分は、代謝などを介して様々な中間体を生成する。また、その多くは極めて不安定であるため、その化学構造を含めて実態が不明なものが多い。こうした“短寿命分子種”の生成は、それ自身が機能性の起源である可能性があり、細胞機能の制御だけでなく、病気の発症や進展の制御などが予想される。また、それらの多くは、反応性に富み、電子が豊富な官能基をもつ生体成分と反応する。特に、こうした不安定中間体によるタンパク質の修飾は、他の翻訳後修飾のようなタンパク質の活性制御を伴うほか、最近では内因性代謝物に起因した修飾タンパク質が自然免疫のリガンドとして作用することが明らかになってきた。

2. 研究の目的

本研究では、食を起源とする不安定な短寿命分子種に関して、それらの分子種の特定および特異的検出系の開発とともに、翻訳後修飾を伴うセンサータンパク質の同定やタンパク質機能制御機構の解明、さらに疾病や健康に関わるタンパク質の新しい機能獲得（gain-of-function）に関する独創的研究を展開する。

3. 研究の方法

本研究では、短寿命分子種としての抗酸化性植物成分の酸化代謝中間体および過硫黄分子パースルフィドに関して、それらの高感度検出法の構築、タンパク質との相互作用により生成した修飾タンパク質構造の化学的解析、修飾タンパク質の新規機能獲得に関する研究を行う。具体的には、以下の4項目に関し重点的に研究を実施する。

1. 抗酸化剤に由来する短寿命分子種の同定・検出
2. 短寿命抗酸化剤代謝物によるタンパク質の新機能獲得
3. 過硫黄分子によるタンパク質パースルフィド化
4. 短寿命分子種による細胞内タンパク質機能制御

4. これまでの成果

1. 抗酸化剤に由来する短寿命分子種の同定・検出

(1) レスベラトロールの代謝物（ピセアタンノール）がタンパク質に作用して生成される短寿命分子として酸化修飾リジンと同定し、高感度検出にも成功した。ピセアタンノールとの反応により生ずるタンパク質の構造変化を機器分析によりリジン架橋構造を特定した。

(2) 抗酸化性ペプチドであるイミダゾールジペプチド（IDPs）の酸化代謝物である2-オキソイミダゾールジペプチド（2-oxo-IDPs）の生体組織における存在を世界で初めて証

明した。2-oxo-IDPs は IDPs の 35,000 倍の抗酸化性を示し、既知の抗酸化性物質であるグルタチオンやアスコルビン酸よりも高い活性を持つことを明らかにした。

2. 短寿命抗酸化剤代謝物によるタンパク質の新機能獲得

(1) 酸化型ビタミンC修飾アルブミンの結合タンパク質としてヒストンを同定した。修飾アルブミンがヒストンH2Bに結合することでプラスミノーゲン活性化を阻害し、単球・マクロファージの細胞浸潤を抑制することが明らかとなり、酸化型ビタミンCによる新たな炎症応答調節機構の存在が示唆された。

(2) 高脂血症患者血清においてS-チオール化（システイン化及びホモシステイン化）血清アルブミンの比率が増加し、さらにジスルフィド結合を形成するシステインにおけるS-チオール化を発見した。

(3) アクロレインは脂肪酸由来の短寿命活性種であるが、その修飾タンパク質がB細胞に認識されることを明らかにし、新規なトニックシグナルとしての役割が示唆された。

3. 過硫黄分子によるタンパク質パースルフィド化

(1) 活性硫黄分子種の生体内における存在を確立した。その主要な生体内産生系として、システインル-tRNA 合成酵素 (CARS) を同定し、システインパースルフィド合成酵素 (CPERS) 活性を有することを明らかにした。

(2) 活性硫黄分子種の特異的蛍光プローブを用いた蛍光イメージング法を開発した。

(3) チロシンおよびヒドロキシフェニル基含有化合物による活性硫黄分子種の安定化機構を確立し、硫黄メタボロームへ応用した。

(4) 新規活性硫黄ドナーを開発し、NF- κ B 抑制による抗炎症効果を見出した。

(5) 活性硫黄分子が、過度で不可逆的な酸化損傷からタンパク質チオールを保護していることを明らかにした。

4. 短寿命分子種による細胞内タンパク質機能制御

(1) 小胞体に存在するジスルフィド異性化酵素 (PDI) が定常状態においてスルフヒドリル化されていることを見出し、サルフェン硫黄ドナーによるCys修飾部位を同定した。

(2) NOによるタンパク質修飾に関し、小胞体ストレス分解 (ERAD) に関わるE2酵素のUBE2D1を新規NO標的として同定した。

(3) NO標的タンパク質として見出したDNAメチル化酵素であるDNMTに関し、変異体を用いた解析から標的Cysを同定した。

5. 今後の計画

1. 抗酸化剤に由来する短寿命分子種の同定・検出

抗酸化性ポリフェノールのリジルオキシダーゼ活性に着目し、卵殻膜リジルオキシダ

ーゼを用い、酸化的脱アミノ化を基軸に抗酸化剤の反応性に関する新たな知見を得る。

2. 短寿命抗酸化剤代謝物によるタンパク質の新機能獲得

核タンパク質として知られるヒストンのプラスミノーゲン受容体としての機能、特に炎症応答調節機構との関わりについてさらに掘り下げる予定である。また、組織タンパク質であるコラーゲンの機能改変について検討する。

3. 過硫黄分子によるタンパク質パースルフィド化

新しく発見したシステインル-tRNA 合成酵素の役割の解明を中心として、酸化制御システムの全貌解明に向けた研究を推進する。

4. 短寿命分子種による細胞内タンパク質機能制御

Cys-SSH などの低分子パースルフィド種に関し、シャペロン以外の機能性、例えばチオール基を介した酵素活性の on-off 制御の解析を進める予定である。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Hirose, S., Hioki, Y., Miyashita, H., Hirade, N., Yoshitake, J., Shibata, T., Kikuchi, R., Matsushita, T., Chikazawa, M., Itakura, M., Zhang, M., Nagata, K., and *Uchida, K. (2019) Apolipoprotein E binds to and reduces serum levels of DNA-mimicking, pyrrolylated proteins. *J. Biol. Chem.* 294, 11035-11045.
- Ihara, H., Kakihana, Y., Yamakage, A., Kai, K., Shibata, S., Nishida, M., Yamada, K., and *Uchida, K. (2019) 2-Oxo-histidine-containing dipeptides are functional oxidation products. *J. Biol. Chem.* 294, 1279-1289.
- Zhang, Y., Tan, H., Daniels, J. D., Zandkarimi, F., Liu, H., Brown, L. M., Uchida, K., O'Connor, O. A., and *Stockwell, B. R. (2019) Imidazole ketone erastin induces ferroptosis and slows tumor growth in a mouse lymphoma model. *Cell Chem. Biol.* 26, 623-633.
- Suzuki, T., Muramatsu, A., Saito, R., Iso, T., Shibata, T., Kuwata, K., Kawaguchi, S., Iwawaki, T., Adachi, S., Suda, H., Morita, M., Uchida, K., Baird, L., and *Yamamoto, M. (2019) Molecular mechanism of cellular oxidative stress sensing by Keap1. *Cell Rep.* 28, 746-758.

7. ホームページ等

<http://park.its.u-tokyo.ac.jp/foodchem/index.html>

E-mail: a-uchida@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp