

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 26 日現在

機関番号： 15101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22791976
 研究課題名（和文）：N α アセチル基転移酵素標的蛋白質の同定とアセチローム制御による新規治療法の開発
 研究課題名（英文）：The identification of the target protein of N- α -acetyltransferase and the development of a newly therapy by the control of N- α -acetylome
 研究代表者 田窪千子（TAKUBO KAZUKO）
 鳥取大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：90379628

研究成果の概要（和文）：
 申請者は喉頭癌由来細胞株HEp-2において5-FU処理を行いN- α -acetyltransferase human (NATH) のmRNAおよび蛋白質発現量が減少することを見出だした。NATHによるアセチローム制御は癌細胞の制止を決定するのに重要な因子であることが示唆され、アセチローム制御に基づいた新規治療法の開発を目的としている。
 研究実績は以下の通りである。NATH標的蛋白質を同定するために、NATHに対するsiRNA (siNATH) またはネガティブコントロールsiRNA (siNC) をトランスフェクトしたHEp-2から蛋白質を回収し、プロテオーム解析にて発現の低下を認めた蛋白質2つ (HSP70, HSP90) と遺伝子発現量の低下を認めたTSにおいてウェスタンブロットを行った。しかしながらsiNATH群およびsiNC群に明らかな蛋白発現量の差は認めなかった。

研究成果の概要（英文）：

I found out that 5-FU the decreases mRNA and the protein revel of N- α -acetyltransferase (NATH) in laryngeal cancer origin HEp-2. It is suggested that the control of acetylome by NATH is an important factor for regulation of cancer cells. The aim of this study is to develop of a newly therapy based on control of acetylome.

The research results are as follows. In order to identify NATH target protein, protein was collected from HEp-2 which were transfected with siNATH and the negative control siRNA (siNC) and Western blot was done in two protein (HSP70, HSP90) which was admitted downregulation in proteomic analysis and TS which was admitted the downregulation of mRNA expression. However, the difference of the amount of protein revel was not accepted in siNATH group and siNC group in Western blot.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：アセチローム, α アセチル化, 細胞死, 5-FU

1. 研究開始当初の背景

口腔領域の悪性腫瘍の治療に際し、機能温存という目的から当科では5フルオロウラシル (5-FU) の持続動注を行っている。5-FU は

臨床的に最も優れた抗腫瘍薬の一つであるが、分解酵素 (Dihydropyrimidine dehydrogenase; DPD) の存在により効果は臓器および個々により多様である。DPD 活性の

低い大腸癌などと比べると、DPD 活性が存在する頭頸部癌では 5-FU の効果は未だ不十分である。申請者はこれまで 5-FU による殺細胞効果の作用機序について、喉頭癌由来 HEp-2 細胞株を用いて検討を行ってきた。その結果、5-FU 処理にて N-acetyltransferase human (NATH) 遺伝子の発現が低下することを見出した。

また siRNA により NATH 遺伝子発現を抑制すると、アポトーシスが誘導されることが明らかとなった。

蛋白質のアセチル化は、翻訳後修飾の一つである。ヒストンは、ヒストンアセチルトランスフェラーゼにより N-ε-アセチル化修飾を受け、細胞の増殖、分化、細胞死にとって重要なプロセスとして報告されている。一方、真核生物の可溶性蛋白質の約 70%が N-α-アセチル化修飾を受けることが知られているが、蛋白質の N-α-アセチル化修飾と細胞機能に関してはあまり知られていない。そこでプロテオーム解析を行い、heat shock protein 70 (HSP70)、enolase 1 (EN01) などの発現の低下、ras-related nuclear protein (RAN) などの発現の増加を認めたことから、これらの蛋白質の発現変動が 5-FU の細胞毒性に関連している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

NATH によるアセチロームの制御は癌細胞の制止を決定するのに重要な因子であることが示唆され、アセチローム制御に基づいた新規治療法の開発ならびに創薬の可能性について明らかにすることを目的としている。

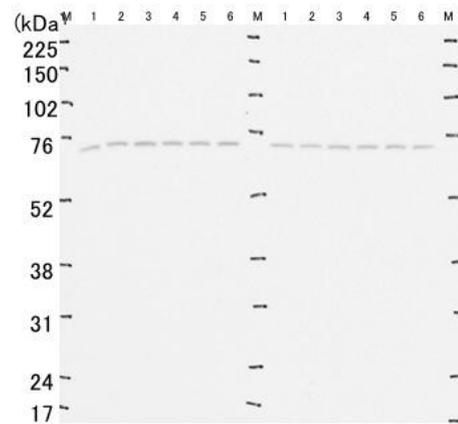
3. 研究の方法

NATH 標的蛋白質の同定 (NATH siRNA による 12 標的蛋白質の発現変化量の再確認) するために NATH に対する siRNA (siNATH; すでに作成・検討済み)、またネガティブコントロー

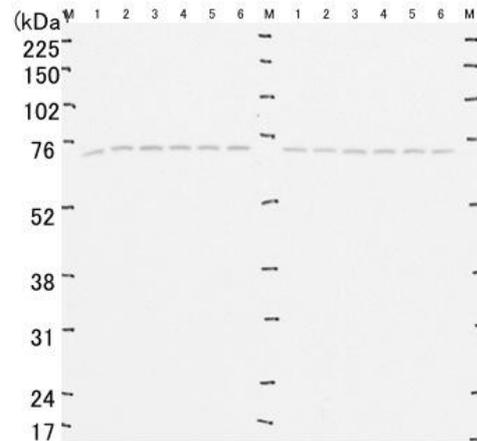
ル siRNA (siNC) をトランスフェクトした喉頭癌由来細胞株 HEp-2 (24 時間後 48 時間後) から蛋白質を海舟し、プロテオーム解析にて発現低下を認めた蛋白質 2 つ (HSP70, HSP90) と遺伝子発現両の低下を認めた TS においてウェスタンブロットにて確認を行う。

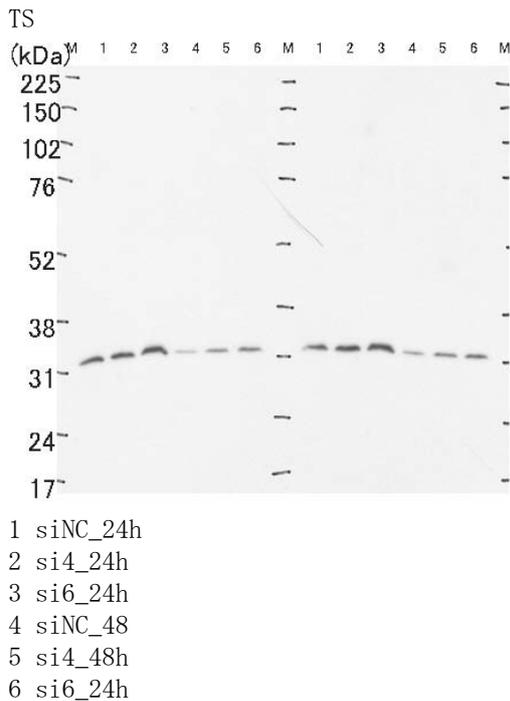
4. 研究成果

HSP70



HSP90





タンパク量を変えたり、同じタンパク量で数回ウェスタンブロットを行ったが、siNATH群および siNC 群に明らかな蛋白発減量の差は認めなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計 9 件)

①原田勇聖、岡本秀治、木谷憲典、田窪千子、土井理恵子、小谷勇、領家和男
口腔病変から HIV/AIDS 感染症の早期診断に至った 1 例
第 59 回日本口腔科学会中国・四国地方部会、愛媛、2011. 11. 26

②岡本秀治、田窪千子、領家和男
miRNA による骨分化制御
第 59 回日本口腔科学会中国・四国地方部会、愛媛、2011. 11. 26

③小笹美保、田窪千子、倉立至、池田貴之、小谷勇、領家和男
Beckwith-Wiedemann 症候群の 1 例
第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会、

大阪、2011. 10. 22

④谷尾俊輔、小谷勇、小川真史、小笹美保、木谷憲典、田窪千子、土井理恵子、領家和男
口腔粘膜に生じた自己免疫水泡性疾患—類天疱瘡、天疱瘡の臨床的検討—
第 40 回 (社) 日本口腔外科学会中・四国地方会、島根、2011. 5. 28

⑤岡本秀治、田窪千子、星川淑子、汐田剛史、領家和男
骨芽細胞分化に関与する miRNA の同定と anti-miRNA による骨芽細胞分化の検討
第 65 回 N P O 法人日本口腔科学会学術集会、東京、2011. 4. 21

⑥小川修史、田窪千子、沖美有紀、田村隆行、道田章仁、土井理恵子、小谷勇、領家和男
当科で経験した SAPHO 症候群の 4 例
第 58 回 N P O 法人日本口腔科学会中国・四国地方部会、広島、2010. 11. 6

⑦田窪千子、大久保知浩、木谷憲典、土井理恵子、小谷勇、領家和男
転移性悪性腫瘍との鑑別に苦慮した下顎骨悪性血管周皮腫の 1 例
第 55 回 (社) 日本口腔外科学会総会・学術大会、千葉、2010. 10. 16

⑧原田勇聖、雨河茂樹、廣田明恵、木谷憲典、田窪千子、小谷勇、領家和男
口腔内に初発した第二期梅毒の 1 例
第 64 回 N P O 法人日本口腔科学会学術集会、札幌、2010. 6. 24

⑨大久保知浩、土井理恵子、雨河茂樹、田窪千子、岡本充浩、小谷勇、領家和男
シェーグレン症候群患者にみられた線維素性唾液管炎の 1 例

第 39 回 (社) 日本口腔外科学会中・四国地
方会、徳島、2010. 5. 22

(1) 研究代表者

田窪千子 (TAKUBO KAZUKO)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90379628