

抗生物質が引き起こす哺乳動物細胞セレンタンパク質合成異常 「セレンって何？」から、「セレンってなんだか面白そう！」への変化に期待を込めて

がん、心疾患、脳疾患、これらは近年多くの先進国において上位に挙げられる死亡原因である（2013年 World Health Organization の調査報告による）。本稿で対象とするセレン（Selenium）は、これら疾病の発生率減少に寄与する重要な栄養素である。セレンは、鉄や亜鉛などと同様に哺乳類における必須元素であり、酸素や硫黄と同じ第16族に属する。高い抗酸化作用からがんやほかの疾患の発生率を減少させるだけでなく、老化やウィル

ス感染、精子運動能、免疫システムにも重要な役割を果たしている⁽¹⁾。セレンは、日本ではまだまだあまり馴染みがないが、欧米の国々でサプリメントとして一般的に販売されており、その有効性が注目されている。

生体内において、多くのセレンは“21番目のアミノ酸”であるセレノシステイン残基（Sec）として存在する。システインと類似した化学構造をとる（硫黄の代わりにセレンが入る）が、セレンは硫黄よりも求核反応性

表1 ■ 哺乳類（ヒト）のセレンタンパク質とその機能

	セレンタンパク質		機能
1	ヨードチロニン脱イオン酵素1	DIO1	活性甲状腺ホルモンの生産と制御
2	ヨードチロニン脱イオン酵素2	DIO2	
3	ヨードチロニン脱イオン酵素3	DIO3	
4	グルタチオンペルオキシダーゼ1	GPx1	抗酸化酵素、H ₂ O ₂ およびそのほかの水溶性有機過酸化物の還元を触媒
5	グルタチオンペルオキシダーゼ2	GPx2	
6	グルタチオンペルオキシダーゼ3	GPx3	
7	グルタチオンペルオキシダーゼ4	GPx4	
8	グルタチオンペルオキシダーゼ6	GPx6	
9	セレノプロテインH	SelH	レドックス関連プロセスに関与
10	セレノプロテインI	SelI	機能未知
11	セレノプロテインK	SelK	酸化ストレスに対する心筋細胞の保護
12	セレノプロテインN	SelN	突然変異はリジッド背骨筋ジストロフィー、multiminicore病、マロリー体ライクデスミン関連ミオパシーにつながる
13	セレノプロテインM	SelM	Sep15に関連し、がん病因に役割を果たしている可能性がある
14	セレノプロテインO	SelO	機能未知
15	セレノプロテインP	SelP	酸化からセレンを保護し、各組織へのセレンの輸送および配給
16	セレノプロテインR	SelR	損傷したタンパク質中の酸化メチオニン残基の還元
17	セレノプロテインS	SelS	細胞の酸化還元バランスと炎症反応に影響
18	セレノプロテインT	SelT	レドックスおよび細胞接着に関与
19	セレノプロテインV	SelV	機能未知
20	セレノプロテインW	SelW	心筋および骨格筋の抗酸化保護
21	15 kDaセレノプロテイン	Sep15	セレンの化学予防効果と細胞アポトーシスに影響
22	セレノリン酸合成酵素	SPS2	セレノシステイン合成酵素の一つ
23	チオレドキシ還元酵素1	TrxR1	チオレドキシンの還元を触媒し、細胞生存および増殖のための重要な細胞内の酸化還元状態を維持
24	チオレドキシ還元酵素2	TrxR2	
25	チオレドキシ還元酵素3	TrxR3	

が高く、主に還元酵素の活性中心として機能する。Secを含むタンパク質は、セレンタンパク質と総称され、ヒトでは現在25種類のセレンタンパク質遺伝子が見いだされている⁽²⁾ (表1)。セレンタンパク質には、生体内の抗酸化における主要な2つの系(グルタチオン系およびチオレドキシニン系)の鍵となる酵素、チオレドキシニン還元酵素(TrxR)やグルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)が含まれる。しかし、重要であるがゆえに、セレン欠乏状態、またはセレノシステインの挿入異常などにより、その触媒活性が低下すると生体内の抗酸化作用が大きく損なわれ、生体に多大な影響を与える⁽¹⁾。そのため、セレンタンパク質の合成は、ほかのタンパク質とは異なり、非常に複雑かつ厳格に制御されている(図1)。近年、このセレンタンパク質とがんとの関係が注目されており、米国において臨床試験も行われている(例NPC:Nutritional Prevention of Cancer trial, 1989-

SELECT:Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial, 2001-2004)。がん細胞は、正常な細胞に比べ増殖速度が速く、より多くの酸化作用を受けるため、増殖のためにはより効率的な抗酸化機構を必要とすると考えられる。セレンタンパク質の一つであるTrxR1は、多くのがん細胞やがん組織において特異的に高発現しており⁽³⁾、いくつかの抗がん剤の標的とされている⁽⁴⁻⁶⁾。

筆者らは、ある種の抗生物質ががん細胞の増殖を特異的に阻害する⁽⁷⁾ことに着目し、抗菌性抗生物質として広く使用されているドキシサイクリン(Dox)、クロラムフェニコール(Cp)およびジェネティシン(G418)が、セレンタンパク質の合成を阻害することでマウス乳がん細胞の増殖を低下させることを見いだした⁽⁸⁾。この研究では、これら抗生物質がセレンタンパク質(TrxR1, GPx1およびGPx4)の合成量に与える影響を⁷⁵Seを用いた放射性同位体ラベルによる解析とウェスタンブロッ

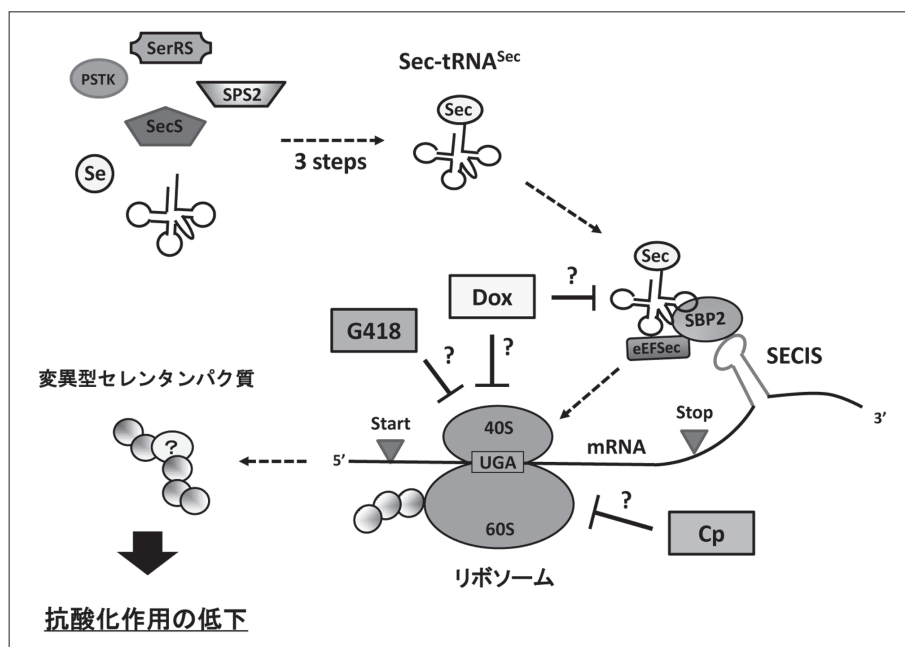


図1 ■哺乳類におけるセレンタンパク質の生合成と各抗生物質の作用

セレノシステイン(Sec)は、以下の3段階の反応を経てtRNA上で合成される。(1)セリルtRNA合成酵素(SerRS)の働きにより、セレノシステイン専用のtRNA^[Sec]にセリンが付加される(Ser-tRNA^[Sec])。 (2)ホスホセリルtRNAキナーゼ(PSTK)により、tRNA^[Sec]上のセリンがリン酸化される(Sep-tRNA^[Sec])。 (3)セレノリン酸合成酵素(SeS)により、ホスホセリンがセレノシステインに変換される(Sec-tRNA^[Sec])。また、合成されたSec-tRNA^[Sec]は、セレノシステイン専用の伸長因子(eEFSec)により認識され、3'の非翻訳領域に存在するセレノシステイン挿入配列(SECIS)を認識したSBP2とeEFSecが結合することでタンパク質中にセレノシステインが挿入される。メッセンジャーRNA(mRNA)上のUGAコドンが終止コドンとなるか、またはセレノシステインとして翻訳されるかはSECISの有無により決定されている。ドキシサイクリン(Dox)、クロラムフェニコール(Cp)およびジェネティシン(G418)は、おそらく哺乳類のリボソームに結合し、セレンタンパク質の生合成を阻害する。その結果、生体内の抗酸化作用が低下し、がん細胞の増殖が抑制される。



トによる解析の2つの方法で調べた。その結果、 ^{75}Se のラベルによる解析では、各セレンタンパク質の合成量がこれら抗生物質の添加量依存的に減少した。一方、各タンパク質の抗体を用いたウェスタンブロットによる解析では、逆にこれら抗生物質の量依存的にタンパク質量の増加が認められた (GPx1を除く)。 ^{75}Se による解析では、それぞれ正常に合成されたセレンタンパク質のみが検出できるのに対し、ウェスタンブロットによる解析ではSecの代わりにほかのアミノ酸が挿入された形で検出できる。つまり、この結果は、これら抗生物質の添加により、Secの位置にほかのアミノ酸が誤って挿入されたことを示唆していた。実際に、これら抗生物質により、Secを活性中心とするセレンタンパク質 TrxR1 および GPx1 の酵素活性が阻害されていた。また、細胞周期を解析した結果、これら抗生物質で処理された細胞は、DNA複製期 (S期) の細胞が増えており、細胞内の酸化状態によりDNAが損傷を受けていることが示唆された。

次に、Secの挿入過程 (翻訳過程) において、実際にどのようなことが起こっているのかを明らかにするために、TrxR1、GPx1 および GPx4 の各タンパク質を精製し、Sec挿入部の解析を行った。質量分析法 (MS) によるペプチド解析を行った結果、それぞれのセレンタンパク質にはSecの代わりにシステイン、アルギニン、トリプトファン残基の挿入およびSecの位置で翻訳が終了した不完全体 (TrxR1のみ) が認められた。これらアミノ酸に対するコドンは、アルギニン (AGA, AGG, CGU, CGC, CGA, CGG)、システイン (UGU, UGC)、トリプトファン (UGG) であり、セレノシステイン (UGA) とそれぞれ一つ異なる。つまり、これら抗生物質により、UGAコドンの読み違い (misreading) が誘発されたと考えられる。さらに、どのアミノ酸が挿入されるか、またはその変異の割合は、セレンタンパク質や抗生物質の種類により異なった。これは、各セレンタンパク質におけるSecの位置やtRNAの修飾、そして各抗生物質の作用機序によるものであると考えられた。

抗生物質 Dox や Cp は、細菌のリボソームに結合し、タンパク質合成を阻害することが知られている^(9,10)。細菌と哺乳類ではリボソームの構造が異なるため、Dox や Cp は哺乳類細胞にはほぼ無害と考えられていたが、実際には哺乳類細胞のタンパク質 (特にセレンタンパク質) の合成も阻害することが本結果により示された (図

1)。Dox や Cp は、医薬品として広く使用されている。さらに、Dox は分子生物学におけるトランジェニックマウスやトランスフェクション細胞の遺伝子発現の誘導にも用いられている。また、G418 は、トランスフェクション細胞の選択薬剤として用いられている。つまり、これら抗生物質は抗菌作用や使用目的のほかに副作用として、セレンやセレンタンパク質の欠乏を引き起こし、生体の抗酸化機能に影響を及ぼしていると考えられる。

最後に、セレンタンパク質は真正細菌から古細菌、そしてヒトを含む真核生物に至るまで幅広い生物において保存されている⁽¹⁾。ある種の生物は、セレンタンパク質を1種類しかもたないにもかかわらず、その合成のためにエネルギーを消費し、セレンタンパク質の合成のためだけの特異的な因子を合成している。これはセレンタンパク質が生命の歴史上、重要なタンパク質として、多くの生物種において普遍的に維持されてきたことを示している。しかし、ヒトのセレンタンパク質の機能の解明はまだ始まったばかりである。生体内において、微量なセレンがどのように識別され、どのように代謝されているのかなど、いまだ明確にされていない部分が多く残っている。本稿を通して、少しでも多くの研究者またはこれから研究者になる方々が、セレンやセレンタンパク質に興味をもっていただけたら幸いである。

- 1) D. L. Hatfield *et al.*: "Selenium: Its molecular biology and role in human health," Springer Science+Business Media, 2011.
- 2) G. V. Kryukov *et al.*: *Science*, **300**, 1439 (2003).
- 3) D. T. Lincoln *et al.*: *Anticancer Res.*, **23**, 2425 (2003).
- 4) V. Gandin *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **79**, 90 (2010).
- 5) C. Yan *et al.*: *Mol. Pharmacol.*, **76**, 163 (2009).
- 6) R. Tobe *et al.*: *Biochem. J.*, **445**, 423 (2012).
- 7) L. K. Tan: *Singapore Med. J.*, **40**, 445 (1999).
- 8) R. Tobe *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **288**, 14709 (2013).
- 9) M. A. Kohanski *et al.*: *Nat. Rev. Microbiol.*, **8**, 423 (2010).
- 10) L. S. McCoy *et al.*: *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*, **2**, 209 (2011).

(戸部隆太, National Institutes of Health, National Cancer Institute)



プロフィール



戸部 隆太 (Ryuta TOBE)

<略歴>2004年東北大学農学部生物生産科学科卒業/2006年同大学大学院農学研究科修士課程修了/2009年京都大学大学院農学研究科博士後期課程単位取得退学/同年博士(農学)取得/同年アメリカ国立衛生研究所(NIH)国立癌研究所(NCI)博士研究員<研究テーマと抱負>肝臓がんおよび肺がんにおける各セレンタンパク質の機能解析<興味を持っていること>海外留学ポストドク問題<趣味>釣り, 映画鑑賞, スルメにマヨネーズで一杯やること