

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |         |                                                               |         |         |              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------|---------|---------|--------------|
| 研究テーマ<br>(和文) AB                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |         | ヒ素の毒性発現に関わるリン酸化シグナル伝達経路の特定およびその作用機構解析                         |         |         |              |
| 研究テーマ<br>(欧文) AZ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |         | Involvement of phospho-signaling pathways in arsenic toxicity |         |         |              |
| 研究氏<br>代<br>表<br>名<br>者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | カナ CC   | 姓)タカハシ                                                        | 名)ツトム   | 研究期間 B  | 2010～ 2011 年 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 漢字 CB   | 高橋                                                            | 勉       | 報告年度 YR | 2012 年       |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | ローマ字 CZ | Takahashi                                                     | Tsutomu | 研究機関名   | 東北大学         |
| 研究代表者 CD<br>所属機関・職名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         | 東北大学大学院薬学研究科・助教                                               |         |         |              |
| <p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本申請者はヒ素の毒性発現機構を明らかにするため、これまでに真核生物モデルとして有用な出芽酵母を用いたヒ素の感受性決定に関わる因子の網羅的スクリーニング法を確立し、その方法によって、ヒ素化合物の一つである亜ヒ酸に対する感受性に影響を与える遺伝子を多数同定することに成功した。その中には、リン酸化シグナル伝達経路の調節に関わるプロテインキナーゼやプロテインホスファターゼが多数含まれていた。また、これらの一部については、ヒト細胞においても同様の機能を有していることを明らかになったことから、リン酸化シグナル伝達経路が酵母のみならずヒト細胞においても、ヒ素の毒性発現機構において重要な役割を果たしていると考えられる。リン酸化シグナル伝達経路に関わる因子は、酵母に比べヒトでは非常に多く存在する (プロテインキナーゼ/プロテインホスファターゼ: 酵母では約 100 種/約 50 種、ヒト細胞では約 1,000 種/約 250 種)。</p> <p>本研究では、ヒト細胞におけるヒ素の毒性発現におけるリン酸化シグナル伝達経路の全容を明らかにするため、亜ヒ酸感受性決定に関わるリン酸化シグナル伝達因子の網羅的スクリーニング法の確立を試みた。本方法は、プロテインキナーゼ (約 1,000 種) およびプロテインホスファターゼ (約 200 種) をコードするヒト遺伝子を、合成 siRNA 断片を用いて一つずつノックダウンし、亜ヒ酸感受性を検討するものであり、亜ヒ酸感受性に影響を与える遺伝子群をその機能を指標として網羅的に検索・同定することが可能である。本スクリーニングの結果、ノックダウンによって細胞に亜ヒ酸高感受性を与えるプロテインキナーゼ候補として IHPK3、ANKK1、NME3、WEE1、ノックダウンによって細胞に亜ヒ酸高感受性を与えるプロテインホスファターゼ候補として MTMR8、PTPLA、CSC25C、PPP2CA を同定することに成功した。本スクリーニング法で同定された遺伝子はこれまでにヒ素毒性との関係性について検討されたことのないものであった。今後、これらの遺伝子とヒ素毒性との関係を明らかにすることによって、新たなヒ素毒性発現に関わるリン酸化シグナル伝達経路の全容解明に繋がるものと期待される。</p> |         |                                                               |         |         |              |
| キーワード FA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | ヒ素      | 毒性                                                            | キナーゼ    | ホスファターゼ |              |

(以下は記入しないでください。)

|            |  |  |  |  |           |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA |  |  |  |  | 研究課題番号 AA |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 研究機関番号 AC  |  |  |  |  | シート番号     |  |  |  |  |  |  |  |  |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） |                    |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|--|--|--|--|--------------------|--|
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | ～ | 発行年 <sup>GE</sup> |  |  |  |  | 巻号 <sup>GD</sup>   |  |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |  |  |  |  | 総ページ <sup>HE</sup> |  |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |  |  |  |  |                    |  |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |  |  |  |  | 総ページ <sup>HE</sup> |  |

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Arsenic is a trace element ubiquitously present in the environment. The excessive intake of arsenic compounds causes health problems, such as skin pigmentation and cancers. However, the mechanisms underlying arsenic toxicity and biological defense mechanisms against it are unclear. We demonstrated previously that phospho-signaling proteins (protein kinases and protein phosphatases) is involved in protection of yeast cells against arsenic toxicity.

In this study, we employed gene knockdown using siRNA to search for phosphor-signaling proteins (about 1,000 protein kinases and about 200 protein phosphatases) involved in the manifestation of arsenic toxicity. We found that the inhibition of expression of the genes for protein kinases (IHPK3, ANKK1, NME3, and WEE1) and protein phosphatases (MTMR8, PTPLA, CSC25C, and PPP2CA) sensitized human embryonic kidney (HEK293) cells to arsenite. None of the genes identified by this screening have been examined regarding their relationships with arsenic toxicity. Thus, examining the relationships between these genes and arsenite toxicity may reveal unknown mechanisms of arsenic toxicity.