



2025年5月1日

国立大学法人群馬大学

国立大学法人筑波大学

細胞内相分離によるプリンヌクレオチド合成の活性化 —生体内プリン量を適切に保つ仕組みと治療応用の可能性—

群馬大学（群馬県前橋市）未来先端研究機構の高稲正勝助教（当時）は筑波大学計算科学研究センターの森田陸離研究員（当時）、群馬大学生体調節研究所の吉成祐人助教および西村隆史教授との共同研究により、細胞内でプリンヌクレオチド^{（注1）}（以下、プリン）合成が活性化する仕組みの一端を解明しました。

プリンはエネルギー代謝や核酸合成に関与する、生物にとって重要な代謝産物ですが、その合成を調節する仕組みは十分には解明されていませんでした。今回、研究チームはプリン合成の化学反応の一部を触媒する酵素が、細胞内の液-液相分離現象^{（注2）}により動的な凝縮体を形成することを発見しました（図1）。また分子動力学シミュレーション^{（注3）}から、凝縮体形成は酵素反応の効率を高めることが予測されました。この凝縮体形成は環境中のプリン塩基の量に依存し、実際に凝縮体を形成できない変異体酵素を持つ細胞では、プリン合成活性が低下していました。

プリンの過剰生産は高尿酸血症や痛風を誘発するほか、多くのガン細胞ではプリン合成が異常亢進しています。本研究結果により生体内のプリン量を減少させる阻害剤の標的となる分子が同定され、痛風やガンの治療薬の創発に繋がる可能性があります。

研究成果は2025年4月10日、米国のオープンアクセスジャーナル *PLOS Biology* 誌に掲載されました。

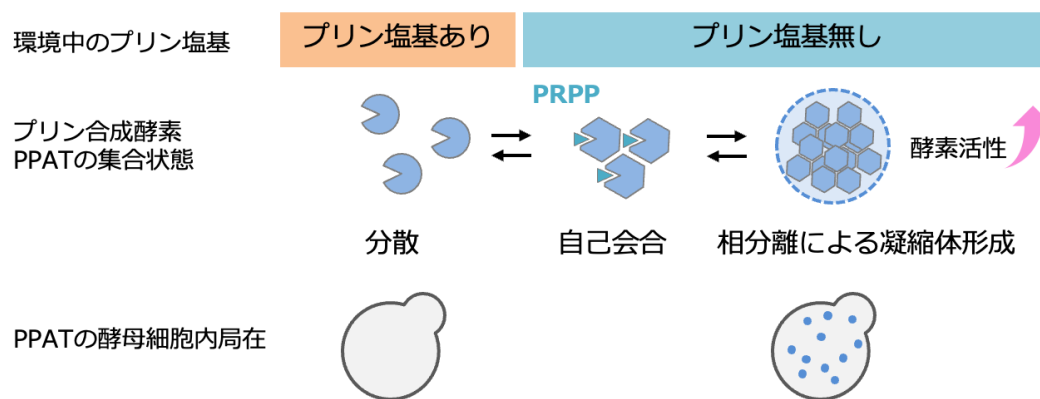


図1 環境中のプリン塩基に応じたプリン合成酵素PPATの凝縮体形成

本件のポイント

- プリンヌクレオチド（プリン）の過剰生産は通風やガンといった疾患と密接に関連する
- 細胞内プリン合成を活性化する仕組みは未だ不明な点が多い
- プリン合成に必須の酵素PPATが細胞内で動的な凝縮体を形成することを発見した
- 細胞質の相分離と代謝物の濃度変化がPPATの凝縮体形成を制御していた
- PPATの凝縮体形成は酵素活性を増大させ、プリン合成を促進することが示唆された
- 上記の結果は、生体内でのプリン生産量を低減させるための治療に繋がる可能性がある

研究内容の詳細

【研究の背景】

アデノシン三リン酸（ATP）^{（注4）}に代表されるプリンヌクレオチド（以下、プリン）は、エネルギー代謝や核酸合成といった細胞内外の広汎な活動に関与する重要な代謝産物です。プリンは高度に保存された再利用経路または新規合成経路のいずれかで合成されます（図2A）。通常の状態では、細胞は主に再利用経路でプリンの大部分を合成します。これはペントースリン酸回路に由来するホスホリボシルピロリン酸（PRPP）を、細胞外から取り込まれたプリン塩基^{（注5）}に付加することによって行われます。一方、新規合成経路はPRPPをイノシンーリン酸（IMP）に変換する6つの酵素によって促進される、10段階の連続した化学反応から構成されています。細菌や哺乳類細胞では、細胞外プリン塩基が利用可能な場合、優先的に再利用経路を介して塩基をリサイクルすることでプリンが合成される一方、新規合成経路は著しく抑制されます。逆にプリンが欠乏している、またはプリン需要が高い状況（例えば活発に増殖しているガン細胞）では、新規合成経路が活性化され、十分量のプリンが供給されます。これらの制御メカニズムはまだ詳細に解明されていませんが、新規合成経路からのIMPの生成には5個のATPと4個のアミノ酸が必要となるため、細胞はエネルギーと資源を節約するために新規合成経路の使用を制限してい

ると考えられます。新規合成に関与する酵素の中で、PRPPアミドトランスフェラーゼ（以下、PPAT）^{（注6）}は律速酵素であり、新規合成の制御において重要な役割を果たすと考えられていますが、やはりその活性制御の仕組みは不明のままでした。

私たちは以前から真核細胞の実験モデルである出芽酵母（以下、酵母）^{（注7）}を使用して細胞内のエネルギー代謝を研究してきました。その結果、酵母細胞内では細胞周期や環境中の糖分に依存せずATP濃度を常に一定に保つ仕組みがあることを発見しました（ATP恒常性）^{（注8）}。引き続きATP恒常性の研究に取り組む過程で、プリン新規合成の活性が適切に制御されて、アデニンヌクレオチドの総量が保たれることがATP恒常性に重要だと示唆されました^{（注9）}。この結果から、酵母にも私達の細胞と同様に環境中のプリン塩基量を感じて、鋭敏にプリン新規合成活性を制御する仕組みがあると予想されました。そこで本研究では重要な酵素であるPPATに着目して、その活性が制御される可能性について検証しました。

【研究成果】

まずPPATの細胞内局在を観察したところ、培地からプリン塩基を欠乏させるとPPATは1時間以内に直径が1 μm以下の、数十個の動的な粒子を形成することがわかりました（図2B）。さらにこれらの粒子はタンパク質の変性によって形成されるような、強固な凝集体ではなく、細胞質の液-液相分離によって形成される、液体状の性質を持った「凝縮体」であることも確かめられました。近年の研究から細胞内の相分離は、ラパマイシン標的タンパク質複合体1（TORC1）が促進するリボソーム合成を介した分子混み合い効果により誘導されることがわかっています。そこでPPAT凝縮体に対するTORC1の影響を調べたところ、TORC1活性やリボソーム合成を阻害するとPPAT凝縮体が消失しました。これらの結果から、PPAT凝縮体の形成や維持にはTORC1依存的なリボソーム合成によって誘導される相分離が必要なことが示唆されました。

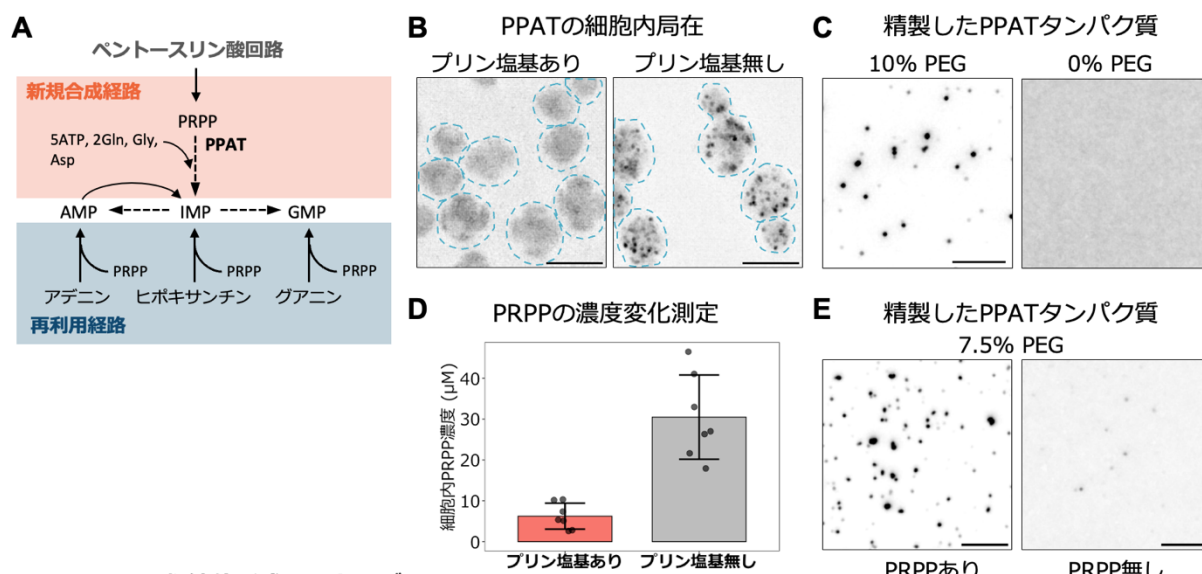


図2 PPATの凝縮体形成のメカニズム

- A. 2つのプリン合成経路の概略図。再利用と比べて新規合成にはATPとアミノ酸というコストがかかる。
B. 酵母細胞内におけるPPATの凝縮体形成。点線は細胞の輪郭を示す。
C. 精製PPATタンパク質の試験管内における凝縮体形成。細胞内とほぼ同じ大きさの凝縮体が形成される。
D. 環境中のプリン塩基と細胞内PRPP濃度の関係。環境中のプリン塩基が無いとPRPP濃度は増大する。
E. PRPPによる凝縮体形成の促進。PRPPの添加により、PPAT単独では凝縮しない7.5% PEG下でも凝縮体が形成される。画像は白黒を反転させて表示。スケールバーは全て5 μm。

さらにPPAT凝縮体形成の詳細なメカニズムを探るため、酵母細胞からPPATタンパク質を精製して、その性質を試験管内で調べました。ポリエチレングリコール（PEG）添加により、人為的に細胞内と同程度の分子混み合い環境を再現したところ、精製PPATは細胞内と同様の大きさの凝縮体を形成しました（図2C）。このことからPPAT分子の自己会合が凝縮体形成の十分条件であることがわかりました。

次に環境中のプリン塩基濃度が低下すると、PPAT凝縮体が形成される仕組みを探索しました。TORC1の活性はプリン塩基濃度が変化しても一定に保たれていたため、プリン塩基濃度変化に応じて濃度が変化する細胞内代謝産物^{（注10）}が、凝縮体形成の制御に関与しているという仮説を立てました。そこで質量分析法^{（注11）}により代謝産物の量を測定したところ、環境中のプリン塩基濃度の減少に反比例して細胞内PRPPの濃度が増大することがわかりました（図2D）。実際にPRPPは試験管内でのPPAT凝縮体形成を促進し（図2E）、またPRPPと相互作用できないPPAT変異体は細胞内で凝縮体を形成しないことも確認できました。これらの結果から、環境中のプリン塩基が欠乏すると細胞内PRPP濃度が増大して、PPAT分子と相互作用することで凝縮体形成を誘導するという仕組みが明らかになりました。

最後にPPAT凝縮体形成の生理的意義を調べました。基質であるPRPPが凝縮体形成を誘導することから、凝縮体はPPATの酵素活性を亢進させるのではないかと予測しました。そこで、凝縮体内で濃縮して近接したPPAT分子間で、中間基質であるアンモニアが効率的に受け渡しされて反

応速度が増大するというモデル（分子間基質チャネリングモデル）を立てて分子動力学シミュレーションで検証しました。その結果、驚くべきことに、先行研究で想定されていたPPAT分子内のチャンネルとは別のチャンネルからアンモニアが頻繁に分子外に漏出することが判明しました。この結果は上述の分子間基質チャネリングモデルの妥当性を支持しています（図3A）。実際に、凝縮体を形成できない変異体PPATを持つ酵母は野生型のPPATを持つ酵母と比較して、環境中のプリン塩基が無い培地における生育が遅延しました（図3B）。したがってPPATの凝縮体形成はプリン新規合成の促進、ひいては細胞増殖に重要であると示唆されました。

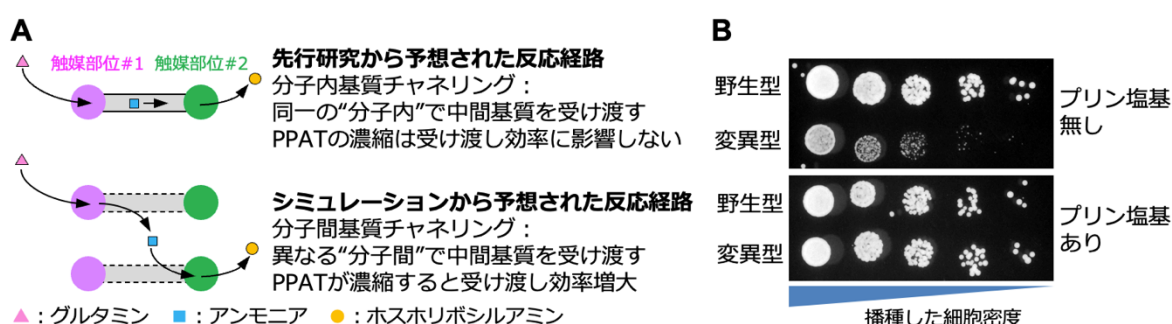


図3 凝縮体形成によりPPATの酵素活性が増大する

A. 先行研究および本研究の分子動力学シミュレーションから予測される、PPATの酵素反応経路
B. 野生型PPATおよび凝縮体を形成しない変異型PPATを持つ細胞の生育速度の比較。プリン塩基無し環境では変異型のコロニーは小さく、生育が遅れていることがわかる。

【今後の展望】

人体内のプリンの量は生合成由来が8割、食事由来が2割であるため、尿酸値を低く保つためには食事だけでなくプリン合成活性にも注意する必要があります。実際に遺伝や生活習慣の乱れによるプリンの過剰生産は高尿酸血症ひいては痛風を引き起こすことが知られています。本研究で明らかになった、PPATの凝縮体形成によりプリン合成を促進する仕組みは、生体内のプリンを減少させる阻害剤の標的となり得るため、痛風や高尿酸血症の治療薬の創発につながると期待されます。また、種々のガン細胞でPPATの発現増大がガン悪性化に寄与することが報告されています。そのためPPATはガン治療における有望な薬剤標的として注目されつつあります。凝縮体形成はPPATの活性化機構の一つと考えられるので、凝縮体形成を阻害するための分子標的が明らかになれば、新たなPPAT阻害剤すなわちガン治療薬の開発にも貢献できる可能性があります。

用語解説

（注1） **プリンヌクレオチド**（purine nucleotide）

細胞の中で使われる重要な分子の一種で、遺伝情報を伝えるDNAやRNAの材料になり、生命活動に欠かせない役割を担っている。

(注2) **液-液相分離** (liquid-liquid phase separation)

均質な液体が互いに異なる2つの液体相に分かれる現象。細胞内で膜を持たない構造体（液滴あるいは凝縮体）を形成する原動力となる。細胞内の多くの生物学的プロセスで重要な役割を果たしている。

(注3) **分子動力学シミュレーション** (molecular dynamics simulation)

原子や分子の動きをコンピュータ上で計算し、予測する手法。化学反応がどのように進行するか、あるいは特定の化学物質がどのように相互作用するかなどを調べることができる。

(注4) **アデノシン三リン酸** (adenosine triphosphate, **ATP**)

全ての生物がエネルギー源として利用している、生物が生きるために必須な生体物質。

(注5) **プリン塩基** (purine base)

プリン塩基はアデニン、ヒポキサンチン、グアニンなどの塩基の一種。プリンヌクレオチドはこのプリン塩基に糖（リボースまたはデオキシリボース）とリン酸が結合した分子。

(注6) **PRPPアミドトランスフェラーゼ** (PRPP amidotransferase, **PPAT**)

プリン新規合成の最初の反応を担う酵素、反応経路の律速酵素でもある。PRPPにグルタミン由来のアミノ基を転移させ、5-ホスホリボシルアミンを合成する反応を触媒する。

(注7) **出芽酵母** (budding yeast, 学名 : *Saccharomyces cerevisiae*)

直径約5 μmの単細胞性の酵母。遺伝子操作が極めて容易に行えるため真核細胞研究におけるモデル細胞として広く利用されている。

(注8) 2019年に発表した先行研究 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30858198/>

(注9) 2022年に発表した先行研究 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35438635/>
関連したプレスリリース <https://www.gunma-u.ac.jp/information/127008>

(注10) **代謝産物** (metabolite)

細胞内で行われる代謝反応（化学反応）により生成される物質。

(注11) **質量分析法** (mass spectrometry)

化学物質の質量を高精度で測定し、その組成や構造を分析するための技術。非常に感度が高く、微量の物質でも検出が可能。

論文詳細

掲載誌 : PLOS Biology

論文タイトル : Phase separation of the PRPP amidotransferase into dynamic condensates promotes de novo purine synthesis in yeast

(日本語訳) PRPPアミドトランスフェラーゼの動的凝縮体への相分離は酵母内のプリン新規合成を促進する

論文著者 :

Masak Takaine^{1*}, Rikuri Morita², Yuto Yoshinari³, Takashi Nishimura³

高稲 正勝^{1*}、森田 陸離²、吉成 祐人³、西村隆史³

(1. 群馬大学未来先端研究機構、2. 筑波大学計算科学研究センター、
3. 群馬大学生体調節研究所個体代謝生理学分野、* : 責任著者)

公開日 : 2025年4月10日

DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3003111>

本研究は通風・尿酸財団研究助成、日本学術振興会科学研究費補助金、および生体調節研究所内
分泌・代謝学共同研究拠点共同研究の助成を受けて行われました。

関連リンク

群馬大学	https://www.gunma-u.ac.jp/
群馬大学未来先端研究機構	https://www.giar.gunma-u.ac.jp/
群馬大学生体調節研究所	https://www.imcr.gunma-u.ac.jp/
筑波大学計算科学研究センター	https://www.ccs.tsukuba.ac.jp/

【本件に関するお問合せ先】

群馬大学 生体調節研究所 個体代謝生理学分野 教授 西村 隆史

TEL : 027-220-8866 E-MAIL : t-nishimura@gunma-u.ac.jp

群馬大学 研究推進課 未来先端研究支援係 (鈴木、杉山)

TEL : 027-220-8116 E-MAIL : kk-kensui4@ml.gunma-u.ac.jp

筑波大学 計算科学研究センター 広報・戦略室

E-MAIL: pr@ccs.tsukuba.ac.jp