

Pkm ノックアウトマウスの作製と解析

著者	田中 遼太
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17429号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00122108

学位論文要約

博士論文題目 Pkm ノックアウトマウスの作製と解析

東北大学大学院医学系研究科 医科学専攻

腫瘍制御研究部門 呼吸器外科学分野

学籍番号 B3MD5078 氏名 田中 遼太

解糖系酵素ピルビン酸キナーゼ M (Pyruvate kinase M; Pkm) による解糖系の流束調節は、ブドウ糖由来炭素の行方を決定するのに重要とされている。*Pkm* 遺伝子からは、*Pkm1* と *Pkm2* という二つのアイソザイムが選択的スプライシングによって作り分けられる。*Pkm1* が構成的活性化型を示すのに対し、*Pkm2* 活性はアロステリックな制御下にあり条件的活性型を示す。*Pkm1* が示す高活性は、乳酸産生よりもブドウ糖の酸化を促進する。一方、活性が低い *Pkm2* では逆に乳酸産生を促進する。がんを含め、増殖細胞の多くが *Pkm2* を発現し、低い PK 活性をもつことが知られる。がん組織における解糖系の亢進はワールブルグ効果と称され、がんの代謝的特徴のひとつであり、ワールブルグ効果の形成と維持には *Pkm2* の高発現が必須である。しかし、*Pkm2* の持つ低 PK 活性が本当に腫瘍の形成や増殖に有利であるかどうか、未だに解明されていないことが多い。

本研究では、*Pkm* 遺伝子をノックアウトすることで PK 活性を低下させたマウスを作製し、それらを用いた発がん実験によって低 PK 活性と腫瘍形成の関連を明らかにすることを試みた。

ゲノム編集技術のひとつである CRISPR/Cas9 システムを用いて、*Pkm* 遺伝子を破壊したマウスを作製した。変異アリル (*Pkm^A*アリル) は生殖系列に伝わり、ヘテロ変異マウス (*Pkm^{WT/A}*) の雄から変異子孫を得ることが可能だった。*Pkm^A*変異をヘテロにもつ細胞では *Pkm1* および *Pkm2* の両方の発現が野生型細胞の半分程度まで低下しており、PK 活性も低かった。よって、*Pkm^A*アリルは、機能性の *Pkm* を全く作れない変異体であることが強く示唆された。*Pkm^{WT/A}* マウスは正常に発育したが、ホモ変異体 (*Pkm^{AA}*) のほとんどは、おそらく胚の着床時、またはその直前に胎生致死となることが分かった。マウスの発生には、少なくとも最低限の PK 活性が必要であると考えられた。

Pkm^{WT/A} マウスを用いた発がん実験によって造腫瘍能を検討したが、野生型マウス (*Pkm^{WT/WT}*) との間に明らかな差を見出すことはできなかった。生体内における PK 活性の程度と造腫瘍能の関連についてはさらなる検討が必要と考えられ、今回作製した *Pkm* ノックアウトマウスは今後の研究において重要な役割を果たすことが期待される。