【領域番号】 3307

【領域略称名】 転写代謝システム

【領域代表者（所属）】 深水昭吉（筑波大学・生命環境系・教授）

【深水（高橋）班】

我々は、メチル化修飾反応のメチル基供与体である *S*-adenosyl-L-methionine (SAM) を起点として、その生成を規定する代謝反応と転写環境を一体として捉え、メチオニン代謝と転写環境構築のクロストーク制御機構の全容解明を目指している。これまでに、本計画研究の基盤技術となるメチオニン及び SAM について質量分析計を用いた定量方法を確立し、五十嵐、菅澤、本橋や清水（敏）らとの共同研究も進展している。また、線虫を用いた栄養合成培地での飼育に成功し、摂取メチオニン量の変化が体内 SAM 量に顕著な影響を与えること、さらにはそれに伴ってヒストンメチル化修飾が変化することを明らかにした。これにより、代謝による生命素子量の変化と転写環境構築の関係性を明確に示すことができた。当初の計画が順調に進展しているのに加え、線虫メタボローム解析を用いた探索から、老化に伴って α -ケトグルタル酸、アコニット酸やメチルヒスチジン等の代謝産物が増加していることが明らかになり、未解明のメチル化酵素が寿命を制御するという事実を見出すなど、転写と代謝を結ぶ新しい研究が展開している。

【五十嵐班】

高等生物における代謝と遺伝子転写の共役機構を解明するために、エピゲノム制御におけるメチル基供与体 SAM 合成酵素 MATII (methionine adenosyltransferase II) の核内機能を対象に研究を進めてきた。この2年間の研究により、MATII が転写因子 MafK-Bach1 二量体と間接的に結合すること、さらにヒストンメチル化酵素 SetDB1 との高次複合体を形成することを明らかにした。この複合体の標的遺伝子として、炎症応答において重要な Cyclooxygenase-2 を同定した (*J. Biol. Chem.* 2013)。さらに、深水班との共同研究により、MATII の触媒サブユニット α の核移行を、これまで機能が不明だった β サブユニットが促進することを見いだした。一方、Bach1 がヘム受容体であることを報告してきたが、Bach1 がマウスにおける鉄欠乏に対する適応応答に必須であることを見いだした。これにより、酸化還元反応や電子伝達、酸素運搬で中心的機能を担う鉄・ヘムの代謝と遺伝子発現を Bach1-MafK 二量体が結びつける可能性が浮かび上がってきた。さらに、MATII-Bach1-MafK 複合体を介して鉄代謝がエピゲノム機能を調節する可能性も考えられる。この点も今後の計画研究でとりあげていく。

【中尾班】

エピジェネティクス機構は、刺激に応じた応答、そして、刺激を受容した記憶を行うことで、遺伝子とクロマチンの制御に働いている。転写環境としてのエピゲノムには、DNA のメチル化とヒストンの修飾が関わるが、代謝恒常性の維持と破綻における役割については不明な点が多い。本研究では、フラビン (FAD) 依存性のリジン脱メチル化酵素 LSD1 がエネルギー代謝調節に重要な役割を果たすことを明らかにした (*Nature Commun.* 2012)。脂肪細胞・組織において、LSD1 を機能阻害すると、蓄積脂肪の分解とミトコンドリア呼吸の向上を認めた。LSD1 活性に細胞内 FAD とその合成経路が必要であることも判明した。また、癌細胞で高発現する LSD1 を阻害すると、解糖系の活性が低下し、ミトコンドリア呼吸が増強して、所謂、Warburg 効果が逆転することを見出した (投稿中)。さらに、メチル化 DNA 結合タンパク質の共役因子 MCAF1 がクロマチンの変換に関わることが分かった。

【柳澤班】

生命を維持するためには、エネルギーの生産系と消費系のバランスを保つことが必要である。我々の見出した新規核小体タンパク質複合体 eNoSC の中核分子・Nucleomethylin (NML) は、SAM と結合し、リボソーム遺伝子の転写を細胞内エネルギー状態に依存してエピジェネティックに制御することで、タンパク質合成量を調節する。本研究では eNoSC の中心的役割を担う NML を基軸とし、エネルギー情報とエピゲノム情報をつなぐ細胞内ネットワークを明らかにすることを目標として研究を進めている。さらに、エピゲノム情報が個体の肥満に影響するという中尾らの研究結果を踏まえ、NML 遺伝子欠損マウスを作製したところ、NML 遺伝子欠損マウスは高脂肪食負荷でもまったく太らないことが明らかとなった。この結果は、リボソーム遺伝子のエピゲノム情報が、個体の肥満状態に大きく影響することを示している。

【菅澤班】

ヌクレオチド除去修復 (NER) において DNA 損傷認識を担う XPC、DDB2 を標的としたクロマチン免疫沈降を行い、複数のアセチル化ヒストンが損傷認識複合体から積極的に排除されている可能性を見出した。一方、DDB2 の N 末端領域がユビキチン化、アセチル化、ADP リボシル化などの多彩な翻訳後修飾を受けること、この領域の欠失や修飾部位のアミノ酸置換変異が DDB2 の安定性、および細胞のゲノム損傷応答にさまざまな影響を与えることを明らかにした (*Cell* 2011、*J. Cell Biol.* 2011)。非常に興味深いことに、柳澤班との共同研究でこれら変異 DDB2 の安定過剰発現が、p53 応答性遺伝子群の恒常的な発現亢進を引き起こすことを見出し、現在詳細な分子機構の解析を進めている。さらに転写制御において重要な役割を持つ SAM が引き起こすメチル化損傷塩基を修復する AlkBH ファミリーの機能解析 (深水班との共同研究)、および能動的 DNA 脱メチル化に関わる塩基除去修復因子 TDG の分解制御に関わるユビキチンリガーゼの同定など、DNA 損傷修復とエピゲノム・転写環境との相互制御を理解する上で重要な結果を得ている。

【清水班】

生命素子の一つである SAM を利用するタンパク質のうち、アルギニン残基をメチル化する PRMT (Protein arginine methyltransferase) に着目する。特に、ユニークなドメイン構成をもつ PRMT7 およびユニークな基質を認識する PRMT8 について構造的な研究を進め、SAM などの生命素子をどのように利用しているかを得られた構造をもとに明らかにし、さらには基質認識機構を原子レベルで解明する。PRMT8 に関しては立体構造解析に成功し PRMT8 が多量体を形成していること、この多量体形成が活性と密接に関連していることを見出した。この結果は、深水班との共同研究による新学術のグループ研究の成果であり、多量体形成について原子レベルで明らかにしたのは初めてである (投稿準備中)。また、PRMT7 はそのホモログである線虫 PRMT-2 で結晶を得ている。さらに、核内で働く核内レセプターについても構造科学的な研究を進めている。

【本橋班】

本研究では、酸化ストレス応答と代謝応答のクロストークの解明を通して、細胞の増殖を支える転写制御を明らかにすることを目指している。これまでの2年半では、主としてがん細胞の増殖に焦点をあてて、転写因子 Nrf2 が細胞増殖を促進するメカニズムの解明に挑んだ。Nrf2 は生体防御系遺伝子群を活性化して、がんの治療抵抗性を増強する一方、グルコースやグルタミンの代謝を改変することにより、グルタチオン合成やプリンヌクレオチド合成を促進し、細胞の増殖に有利な代謝環境を実現していることを明らかにした (*Cancer Cell* 2012)。これは論文投稿後1年2ヶ月にわたる改訂作業を経て受理に至ったもので

あるが、その間、班会議での班員からのアドバイスや、深水・五十嵐両班員との討論により解析を順調にすすめることができた。また、変異 IDH1 が 2 ヒドロキシグルタル酸を産生することにより Nrf2 の機能が制限される局面を見だし、現在、グルタミン代謝をめぐる代謝フラックスについて深水との討論を行いつつ、分子機構の解明に取り組んでいる。

【矢作班】

本研究では、従来から進めてきた中性脂肪合成系の転写調節カスケードの解明をさらに進め、SREBP-1c の上流の KLF15 遺伝子の、さらにその上流の調節因子について、独自の *in vivo Ad-luc* 解析手法により代謝シグナル投射領域の特定を行った。さらにその領域に対して TFEL scan 法による網羅的な転写複合体解析を加え、絶食シグナルの KLF15 遺伝子発現調節領域への投射メカニズムを non-biased な手法に基づき解明した。さらにその中で、KLF15 の発現調節を担っていることが明らかになった転写因子 X は、**hub metabolite** による分子修飾を通じて機能調節を受けるらしいことが判明し、「摂食シグナル」が **hub metabolite** を介して核内に伝達されるしくみの一端がまさに解明されつつある。

【応募時に設定した「研究の対象」に照らした発展性】

研究領域として設定した対象は、以下 (2) ~ (4) の 3 点である。当研究領域は、アイデアや材料交換、および技術交流を行い、相互の研究成果をヒントとして積極的に共同研究を展開することを主眼に置いており (p. 5)、細かい研究項目を当初から設定していないため、p. 6 ~ p. 7 の【連携状況】にもとづいて計画班と公募班を併せて発展性について記述する。

(2) 異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。

当領域の研究班は、オリジナリティーの高い分子を研究していることもあり、構造生物学の清水 (敏) ら (計画班) が中核となって、4 件の共同研究が進行中であり、当該研究領域が大きく発展している。

(3) 多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの。

大澤ら (公募班) はスーパーコンピューターの計算シミュレーションモデルを構築し、代謝経路のダイナミクスを議論できる手法を有しており、現在 3 件の共同研究が進行中である。特に、深水ら (計画班) が取り組んでいる新しい代謝系の同定に大きく貢献している。さらに、石濱ら (計画班) や松本 (雅) ら (公募班) はプロテオミクス的手法に長けており、特に公募班同士で 6 件の共同研究が進行している。また、深水ら (計画班) は SAM の定量法を確立し、細胞や個体において 3 件の共同研究を推進している。

(4) 当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの。

申請時に提出した領域計画書 (様式 S-1-18-1)、および本中間評価報告書 (p. 4) に『転写環境とエネルギー代謝のクロストークに着目することは、発生・分化のみならず、恒常性維持やストレス応答の新しい分子機構を明らかにすることにつながり、代謝性疾患やがん等の発症原因の理解と治療ターゲットの検証にも貢献することが期待できる。』と記載したが、林 (公募班) らは第 35 回日本分子生物学会・ワークショップで「生命現象をエネルギー代謝から理解する」のオーガナイザーとして、種々のモデル生物を用いて、発生を含む多様な生命現象における代謝の役割を横断的に討論することで、最新の情報を他の領域へ提供した。

また、中尾ら (計画班) は、脂肪細胞において FAD 依存性のリジン脱メチル化酵素を機能阻害すること

で、脂肪分解やミトコンドリア呼吸が向上する新しい恒常性の制御機構を発見し (**Nature Commun.** 2012)、中井ら (公募班) は熱ショック因子 HSF1 が通常条件でストレス蛋白質遺伝子の転写を制御することを明らかにした (**Mol. Cell** 2012)。さらに、尾野ら (公募班) は miRNA-33 が動脈硬化病変の進行抑制やプラークの安定化にも影響を与えうることを示唆し (**J. Am. Heart Assoc.** 2012)、本橋ら (計画班) は酸化ストレス応答転写因子 NrF2 ががん細胞の代謝リプログラミングを促進することを明らかにしており (**Cancer Cell** 2012)、栄養生理学や細胞生物学、基礎医学および臨床医学等の他の研究領域への大きな波及効果を生んでいる。