

平成25年度 新学術領域研究（研究領域提案型） 中間評価結果（所見）

研究領域名

生命素子による転写環境とエネルギー代謝のクロストーク制御

研究期間

平成23年度～平成27年度

領域代表者

深水 昭吉（筑波大学・生命環境系・教授）

研究領域の概要

遺伝子発現は、ゲノム・エピゲノム情報や転写制御因子等が形成する『転写環境』によって動的制御を受けている。転写環境の形成には、エネルギー代謝過程等で生成するATP、アセチルCoA、SAMやNAD⁺などの《生命素子》が、化学修飾基の供与体または修飾酵素の補酵素として必須である。このように、生命素子を介する【転写】と【代謝】の密接な関係は、細胞種特有のアイデンティティーの確立や、増殖・分化などの多様な細胞機能を発揮するシステムとして重要なクロストークである。本提案では、若手研究者らと協力しながら、従来「異なる学問領域」として大きく発展してきた【転写】と【代謝】の研究の融合を図り、発生・分化のみならず、恒常性維持やストレス応答に関わる新たな分子機構の解明、さらには代謝性疾患やがん等の病態の理解や創薬への貢献が期待できる、まったく新しい学術領域の確立を目指す。

領域代表者からの報告

1. 研究領域の目的及び意義

【研究領域の目的】

転写環境の構築は、クロマチンや転写調節因子に対して修飾基を書き込む(=Writing)修飾酵素、修飾基を認識し結合して読み取る(=Reading)アダプター分子、および、修飾基を取り去る(=Erasing)脱修飾酵素に加えて、ヒストンのDNAからの一時的な解離等の混乱を書き換える(=Rewriting)機能によって動的に制御される。この制御には、代謝中間体からの修飾基供与や、修飾反応を効率的に促進する生命素子が供給されることが必要不可欠な要素であり、細胞や生体内ではエネルギー代謝と密接にリンクしている。

そこで本領域では、

- 1) 転写環境の形成に直結する化学修飾がエネルギー代謝に働きかける作用
- 2) エネルギー代謝の変化が転写環境の形成に及ぼす作用

というクロストークを支える分子実体と、その制御メカニズムを解明することを研究の目的とした。個別研究では成し得ないブレースルーとなるような成果を挙げるため、領域内で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いく横断的共同研究を推進する。

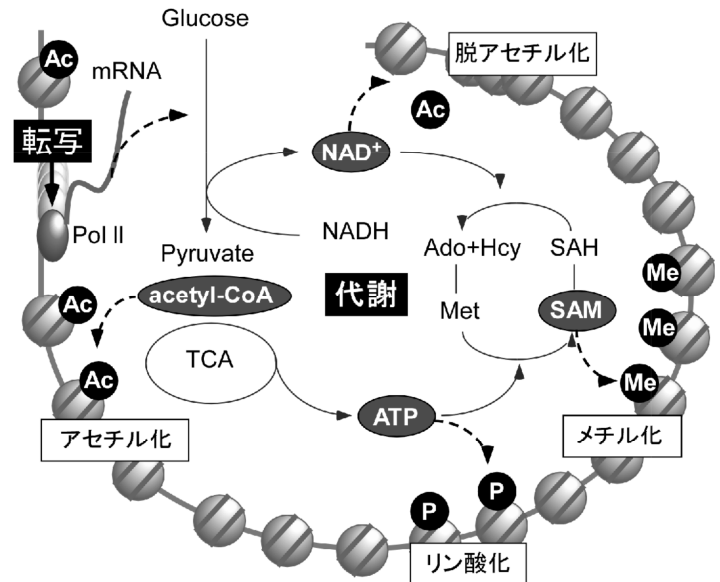
【研究領域の概要】

《転写環境とエネルギー代謝の新しい関係》

遺伝子発現は、DNAにコードされたゲノム情報、ヒストンやDNAのエピジェネティック修飾（リン酸化・アセチル化・メチル化等）などクロマチン機能に調節されたエピゲノム情報、そして転写因子作用のバリエーション等、これらが形成する転写環境によって制御される。このような転写環境は、細胞種特有のアイデンティティーの確立や、核内複合体と連動して、増殖・分化などの多様な細胞機能に深く関係し

ている。

一方、細胞のエネルギー代謝は、その増殖状態や分化段階によりダイナミックに制御され、恒常性維持や新しい定常状態への移行を実現している。その際、解糖系や TCA サイクルなどの代謝物 (=生命素子; **hub metabolites**) の一部は、転写環境の形成にも利用されている。例えば、ATP はリン酸化反応のリン酸基の提供と共に、生体内のメチル化反応に必須なメチル基供与体 SAM (*S*-adenosyl-L-methionine) の合成にも直接関わっている。また、アセチル CoA はアセチル基転移反応の提供体として、NAD⁺ は脱アセチル化や ADP リボシル化反応の補酵素として、そして FAD⁺ は脱メチル化酵素の補酵素として作用する。以上のように、転写環境の構築とエネルギー代謝のクロストーク (右図) が直感的には予測されてきたが、その分子実体と制御機構については殆ど明らかになっていない。この理由として、反応の素過程に主眼を置いた“転写研究”と、従来の生化学・内分泌学的な“代謝研究”とが、「異なる学問領域」として別々に発展してきたことが挙げられる。



【研究領域の設定目的の達成度】

転写研究と代謝研究は、それぞれ別分野において大きく発展してきたが、両分野を俯瞰した概念を持ち、最も重要である生命機能とリンクした学問領域は未だ確立されていない。本領域では、「転写環境の形成とエネルギー代謝シグナル間の“クロストーク”を解明することが、生命機能を制御する新しい基本原理の理解へとつながるブレークスルーをもたらす」と考えている。これらの問題意識を共有・発展させ、『**転写代謝システム (Transcription-metabolism system)**』という新しい学術領域を創出することを目指すため、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き、細かい研究項目は設定していない。平成 23 年度 (8 月～) から開始した計画研究班では、2つの目的について、以下の結果を得てきた。

- 1) 転写環境の形成に直結する化学修飾がエネルギー代謝に働きかける作用
- 2) エネルギー代謝の変化が転写環境の形成に及ぼす作用

深水グループ: 線虫を用いて SAM 合成酵素の *in vivo* 機能を解明 (*J. Recept. Signal Transduct.* 2013)

高橋ら: 分裂酵母を用いてヒストンアセチル化酵素である SAGA 複合体がロイシン等のアミノ酸の細胞外からの取込みを制御していることを発見 (*J. Biol. Chem.* 2012)

五十嵐グループ: SAM 合成酵素 MATII (methionine adenosyltransferase II) が転写因子 MafK-Bach1 二量体と間接的に結合すること、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解明 (*J. Biol. Chem.* 2013)。

中尾グループ: マウスを用いて LSD1 がエネルギー代謝調節に重要な役割を果たすことを解明 (*Nature Commun.* 2012)

菅澤グループ: UV-DDB と結合した CUL4 リガーゼによるユビキチン化が、DDB2 の分解を介して細胞の DNA 損傷応答に影響を与えることを解明 (*Cell* 2011)

清水(敏)グループ: 構造生物学的アプローチから PRMT 8 の構造科学的な研究を行い活性型となるらせん状構造の解明に成功 (第 12 回アジア結晶学会、アデレード、2012、投稿準備中 [深水らと共同研究])

柳澤グループ：核小体が細胞内のエネルギー状態と細胞周期の調節をつなげるセンサーとして働くことを証明 (**J. Biol. Chem.** 2011)

本橋グループ：酸化ストレス応答の鍵因子・Nrf2 が増殖シグナルにより機能を拡大し、がん細胞の代謝リプログラミングを促進することを解明 (**Cancer Cell** 2012)

矢作グループ：グリコーゲン不足を検出するグリコーゲンセンサーが肝臓内に存在し、そのスイッチングのトリガーとなることを解明 (第 35 回日本分子生物学会、福岡、2012、投稿中)

また、平成 24 年度から開始した公募研究班 (25 グループ、p. 5~p. 6) と共同研究が組めるよう、A) 情報交換・材料供与、B) 共同研究構想、C) 共著論文作成、D) 共著論文発表、という 4 つのステージを設定した。その結果、1 年程度で A) が 21 件、A) → B) へ進展したものが 17 件、B) → C) へ発展したものが 8 件となっており (p. 6~p. 7)、領域研究 (p. 15~p. 18) が着実に進展していると考えている。共同研究を推進し、それらによって成し得るブレークスルーについて、D) に結実できるよう、さらに努力していきたい。

【研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況】

領域発足時に開始した計画研究班間の共同研究 (清水・深水、清水・柳澤、菅澤・柳澤、五十嵐・深水、本橋・深水) の進展に時間を要したが、共著論文作成の時期に来ているものもあり、公募・計画や公募・公募間の共同研究にも加速効果が表れている。

2. 研究の進展状況及び成果の概要

【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やすいことが判明し、「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。
当該領域の研究班は、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 が通常条件下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。

審査部会における所見

C（研究領域の設定目的に照らして、研究成果が見込まれないため、研究費の減額又は助成の停止が適当である）

1. 総合所見

本研究領域は、転写環境の形成に直結する化学修飾がエネルギー代謝に働きかける作用と、エネルギー代謝の変化が転写環境の形成に及ぼす作用という「クロストーク」を支える分子実体（生命素子）と、その制御メカニズムを解明することを目的とするものである。転写環境を構成する4要素としてクロマチンや転写調節因子への修飾基の、1. 書き込み、2. 読み取り、3. 取り去り、4. 書き換え、を想定し、それぞれに計画研究を配置している。2年目の途中で停止した1件の計画研究を除き、転写環境とエネルギー代謝とのクロストークを少数の生命素子を基軸に理解するとの目的に沿った計画研究は概ね順調に進展している。「生命素子」と定義した分子の同定、それらの間の相互作用や制御機構の解析についての知見が集積され、基盤を構築しつつある。今後は、これら生命素子の間を定量的に繋げる数理モデルを用いたクロストークの解析、ならびに本研究領域組織内の共同研究を積極的に推進することによって、クロストーク制御という当初の目標に到達することが期待される。

組織変更等の大幅な計画変更として、「2. 読み取り」を担当する1つの計画研究の廃止と、それに替わる計画研究の「3. 取り去り」担当としての追加が申請された。前者については、研究代表者の体調不良という理由であり、当該計画研究の廃止を承認する。一方、計画研究の追加に関しては、真にやむを得ない場合に限る研究代表者の変更には該当しないことから、これを認めない。

廃止される計画研究は本研究領域創設時の目標達成の柱の一つであることから、本研究領域が当初掲げた目標の達成は困難と考えられる。また、計画研究1件を廃止するという大幅な変更を予定するにもかかわらず、それを補いうることの説明が中間評価報告書ならびにヒアリングにおいて十分になされなかった。

以上のことに鑑み、領域全体の研究経費を減額することが適当と判断した。また、重要な計画研究の廃止、ならびに研究費の減額により、計画全体について見直しが必要と考える。従って、本研究領域全体の研究方針及び各計画研究の見直しをする目的で、総括班ならびに全ての計画研究の継続に係る審査を実施することとする。

2. 評価に当たっての着目点ごとの所見

(a) 研究の進展状況

「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」としては、エピジェネティクス制御の解明を共通の課題として、旧来の転写と代謝の研究を連携させる試みが具体的に実施されている。公募研究を含む連携研究を4ステージに分けることによって進行状況を明確に可視化している点は特に評価できる。現状ではこれらの連携研究の論文発表はまだ多くはないが、今後の成果発信が十分に期待できる。また、構造生物学や計算シミュレーションモデルを組み入れた異分野連携も順調に進展している。「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」の重要な成果として SAM 定量系の開発が挙げられる。後半期間では、ミニシステムズバイオロジーのように全体を定量的に繋げるモデル解析など、生物情報学的な視点の研究を強化することによる成果の統合的理解を図る方策を用意することが望まれる。また、「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」としては、LSD1 と FAD 合成系によるミトコンドリア機能と脂質代謝制御を介すエネルギー代謝調節の発見、酸化ストレス応答性転写因子 Nrf2 の癌細胞での同化反応促進の発見に代表されるように、学術的価値の高い成果が得られており、他分野への波及効果を及ぼしつつある。また、Met-SAM-H3K4me3 軸の発見は、生命素子によるエピゲノム修飾を実証する成果であり、今後の展開によっては転写や代謝分野だけでなく、老化研究も含む広範な生命科学分野へ影響を及ぼすポテンシャルを持つ。

(b) 研究成果

本研究領域が掲げる転写環境とエネルギー代謝とのクロストークを少数の生命素子を基軸に理解するとの目的に沿った計画研究は、概ね順調に進展している。異分野連携については、領域代表者が具体例として示している構造生物学的手法による連携研究が 4 件実施中であり、成果が得られつつある。特に PRMT の構造生物学は独創性が高く、PRMT8 に加えて PRMT7 の立体構造が解明できれば SAM のバイオロジーを理解する上で重要な成果になると予想される。一方、廃止される研究計画に関しては、予定していた研究成果が得られていない。

(c) 研究組織

領域組織内の連携を積極的に進めており、また、若手研究者の育成・支援に尽力している。特に若手研究者による自主的な研究会の開催は評価できる。

一方で、1 つの計画研究を廃止する組織変更については、当該計画研究の廃止による領域全体への影響について、どのように対処するかを明確にする必要がある。

(d) 研究費の使用

研究費の使用については、特に問題点はなかった。

(e) 今後の研究領域の推進方策

見いだした生命素子の間を定量的に繋げる数理モデルを用いたクロストークの解析が必要と考える。さらに、本研究領域全体として実験的研究が中心であるため、今後は生物情報学的な視点の研究を強化することによる成果の統合的理解を図る方策を用意することも必要と思われる。

(f) 各計画研究の継続に係る審査の必要性・経費の適切性

廃止される計画研究は、本研究領域創設時の目標達成の柱の一つであることから、その廃止は領域全体に多大な影響を与えると思われる。また、総括班及び計画研究に係る経費の減額に伴い、各計画研究について見直しが必要と考える。従って、全ての計画研究の継続に係る審査を実施することにより、本研究領域全体の研究方針及び各計画研究の見直しを求める。