

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：特定領域研究  
 研究期間：2004～2009  
 課題番号：16088101  
 研究課題名（和文） 遺伝子情報発現における DECODE システム解明の研究の推進  
 研究課題名（英文） Promotion of Studies on the DECODE System in the Genetic Information Expression  
 研究代表者  
 五十嵐 和彦（IGARASHI KAZUHIKO）  
 東北大学・大学院医学系研究科・教授  
 研究者番号：00250738

## 研究成果の概要（和文）：

本申請領域では、遺伝子発現機構を DECODE システム（a nuclear system to decipher operation code、核内オペレーションコード解読システム）として捉え、統合的に理解することを試みた。総括班では、領域全体の研究活性化や共同研究促進のために、ホームページやニュースレターを活用した情報発信、国際シンポジウム、合同班会議、計画研究ブレインストーミング、若手研究者海外派遣などを行い、研究代表者らの研究活動を後援してきた。

## 研究成果の概要（英文）：

This Project Grant aimed to promote researches on the DECODE system in the genetic information expression in diverse organisms. The managing team supported principle investigators and their colleagues in terms of organizing meetings, international symposia, web site, and news letters.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2004 年度	8,000,000	0	8,000,000
2005 年度	13,200,000	0	13,200,000
2006 年度	13,000,000	0	13,000,000
2007 年度	13,300,000	0	13,300,000
2008 年度	13,300,000	0	13,300,000
2009 年度	13,500,000	0	13,500,000
総計	74,300,000	0	74,300,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：遺伝子、転写、クロマチン、発現制御、蛋白質

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む全ての生命体は、そのゲノムにコードされた遺伝情報を基盤とした生涯をおくる。重要なことは、いかにプログラム通りにその情報を正確に読み出すかという点とともに、様々な生活環境に応じて、いかに

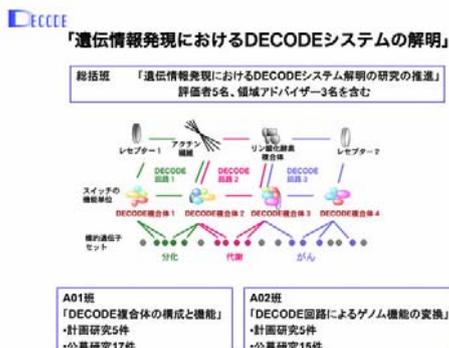
読み出す情報の量・質を柔軟に微調整できるかという点である。「遺伝情報読み出し（decode；解読）機構」の基盤の一つは、全ての細胞に均一に存在するゲノム DNA から、細胞・組織に対応した多様な RNA への変換プロセスであり、この意味で転写反応が根本

的に極めて重要な役割を担っている。転写調節の基本コンセプトはヤコブ・モノーのオペロン説から派生しており、ともすれば、全体像が理解されたかに思われている。しかしながら、高等生物の転写反応は多種多様な因子群が関わる非常に複雑でかつ動的な制御システムを構成しており、数多くの遺伝情報がいかに効率良く読み出され、それを通して、いかに遺伝子産物が一定の秩序をもった有機的な機能体を形成するのか、その仕組みは、21世紀に突入した現在でもほとんど理解されていない。このことの原因の一つは、私たちの生命現象の理解が未だに素反応レベルに留まっていることにある。

## 2. 研究の目的

本申請領域では、遺伝子発現機構を **DECODEシステム (a nuclear system to decipher operation code)**、核内オペレーションコード解読システム)として捉え、統合的に理解することを試みる。サブシステムとして、(1)クロマチン構造制御複合体や転写制御因子複合体などの、読み出し反応を行う **DECODE複合体 (構成系)**、ならびに (2) **DECODE複合体とその上流 (DECODE複合体活性を制御する核内シグナル伝達系)**、および下流 (複数の標的遺伝子群) とから形成され、細胞・個体レベルでの形質や機能を決定する **DECODE回路 (変換系)** を研究対象とする。そして、以下の研究を推進する。(i) **DECODE複合体の解析**を行うとともに、複合体形成の構造的基盤を追求し、**DECODE複合体の機能原理**に関する理解を深める。(ii) **DECODE複合体と標的遺伝子**、**DECODE複合体と上流シグナル伝達系との関係**を追求することにより、発生・分化過程や恒常性維持、そして病態における **DECODE回路の実体**に関する理解を深める。これらの研究により、**DECODEシステム**が、遺伝情報の効率的で秩序だった「解凍」を通して、多様な細胞・個体レベルの形質や機能を生成・維持するメカニズムに貢献する様子と、その根本原理の理解を試みる。

## 3. 研究の方法



総括班は本特定領域研究の運営を効率的に行い、班運営のための連絡、総括班主催の研究発表会、公開シンポジウム、ワークショップ等の企画・実行、若手育成活動、ホームページ運営などを行う。さらに、研究の進展状況の把握、研究成果の評価などを行うために、計画研究班員以外から経験のある5名に研究成果評価委員として、3名に領域アドバイザーとして参加をお願いした。

## 4. 研究成果

本特定領域研究は平成16年度秋に開始したが、16年度は総括班のみの活動を行った。これは、16年度の半年を本格的活動開始への準備期間と位置づけたことによる。17年度から研究を開始した。計画研究、公募研究いずれも17年度の1年計画、18年度-19年度の2年計画で実施し、現在平成20年度-21年度の2年計画を推進中である。研究実績と研究者コミュニティ活性化により、参加者の教授への昇任5名(大熊、村上、竹内、久武、藤田)や独立准教授としての研究室主宰2名(前島、石井)といった人材育成の面でも成果が生まれている。また、日本学術振興会賞2名(17年度五十嵐、20年度柳澤)の受賞があり、加えて20年度には計18名の受賞があった。

### (1) 総括班

領域内外の学術交流を促進し、多彩な共同研究立ち上げを支援するとともに、技術講習会等を通じて研究者の研究技術の高度化に努めてきた。また、DECODE賞や海外派遣により若手育成を進めてきた。

### 16-20年度

**合同班会議** 毎年一回、2泊3日研究代表者全員参加の形で開催している。20年度は6月30日-7月2日の日程で熱海市にて開催し、研究代表者の指導する大学院生等も含めて90名の参加を得、活発な討論や共同研究打ち合わせを行った。

**ホームページ開設** 領域内の情報交換や領域外との交流・情報発信を活性化するために、特定領域のホームページを開設し(<http://www.decodesystems.jp/>)、情報更新に努めてきた。

**転写研究会との合同若手ワークショップ等企画** 本特定領域と転写研究会とが連携して、毎年度領域内外に開かれた若手ワークショップを開催してきた。16年度分については日本生化学会からの支援を受けて国際シンポジウムとして若手ワークショップを開催した。19年度からは優秀な発表を行った大学院生に対してDECODE賞を与えて励ますこととし、19年度は4名(うち女性3名)の大学院生を、20年度は6名(うち女性1名)を選んだ。受賞者によるレポートを拠点HPやニュースレターに掲載して波及効果を高め

た。19年度(2008年1月)は、特定領域「核ダイナミクス」(代表・米田悦啓教授)と合同のワークショップを開催し、領域間・分野間交流を進めた。20年12月18日、国立遺伝学研究所にて「タンパク質複合体解析ワークショップ」を開催し、領域内外の参加者に対して技術指導や情報交換を行った。

**国際シンポジウム開催** 計画研究代表者・分担者間の情報交換と、関連分野研究発掘を進めるために第一回国際シンポジウム(2005.2.28-3.1、長崎大、世話人・伊藤敬)、第二回国際シンポジウム(2006.9.29、東京大学、世話人・田中信之)、第三回国際シンポジウム(2007.8.4、日本科学未来館、世話人・柳澤純、和田忠士)を開催した。それぞれ5名前後の海外研究者を招聘し、最新の研究成果を交換するとともに、今後の共同研究計画に関する意見交換を行った。

**海外派遣** 計画研究代表者や若手共同研究者などを中心に計21名を様々な海外学会に派遣し、情報収集と発表を行って頂いた。情報収集成果はホームページとニュースレターで公開した。

**ニュースレター** 領域内外の交流を促進することを目的にニュースレターの刊行を開始し、現在までに5号まで刊行した。

**計画研究ブレインストーミング** 計画研究間の情報交換と共同研究をさらに活性化するために、非公開の研究報告ブレインストーミング会を開催してきた(2004年8月、2006年3月、2007年4月、2008年4月、2009年3月(2回))。いずれも一日間、全計画研究代表者が発表し、領域評価者を含めて濃密な意見交換を行った。

**21年度** 年度活動開始に先立って2009年3月22日東京にて計画研究ブレインストーミングを開催した。4月1日-2日に、情報科学(アレイデータ解析、ネットワーク解析、DNAおよびアミノ酸配列解析と分子構造解析など)に焦点をあてる「転写制御トレーニングワークショップ」を九州工業大学にて開催し、大学院生を中心に20名以上が参加した。オンライン版教材(英語版含む)を用意し、今後の教育活動にも活用できるようにした。6月14日-6月16日氷見にて合同班会議を全員参加で開催予定である。若手海外派遣を例年通り進める。ニュースレター6号の編集を進めている。さらに22年1月には越後湯沢にて外国より2名の招待演者を含めて2泊3日で国際シンポジウムを開催し、領域内から若手研究者、大学院生などの口頭発表を行い、国際交流と若手育成に努めた。

(2) 研究項目 A01「DECODE 複合体」 平成17年度は計画研究5件、公募研究17件、平成18-19年度は計画研究5件、公募研究14件、平成20-21年度は計画研究5件、公募研

究18件で開始したが、公募研究代表者1名が新学術領域計画研究へと移動したために17件となった。現在までに、細胞分化、ストレス応答、増殖制御、クロマチンエピジェネティクスなどに関わると予想される、101種の複合体の精製と機能解析を進めている。また、注目される因子33ヶについてドメイン立体構造や複合体立体構造の解析を進めている。現在までの研究により、遺伝情報発現に関わる蛋白質複合体の実体と機能が次々と明らかになり、複合体によるシグナル統合とクロストークの分子機構に関する理解が進んだ。

19年度までの間、ヒストンキナーゼNHK-1によるクロマチン構造制御(Genes Dev.)、RNAポリメラーゼIIとRNAi経路によるヘテロクロマチン形成維持(Science)、G9a/GLP複合体によるヒストンH3K9メチル化(Genes Dev.)、シャペロン蛋白質Nucleosome assembly protein 1(NAP1)によるヒストンバリエーション集合(Mol. Cell. Biol.)、Bach2-MafK複合体によるBリンパ球分化制御(J. Biol. Chem.)、NELF複合体による転写伸長速度の正負二方向制御(Mol. Cell. Biol.)、転写メディエーター構成因子CDK8複合体の解析(Genes Cells)、アセチル化酵素Tip60複合体によるH2AXアセチル化とポリユビキチン化の修飾コード(Mol. Cell. Biol.)などを明らかにしてきた。20年度の主な成果は以下の通りである。基本転写因子TFIIE-TFIIF相互作用に関して、TFIIEのaサブユニットC末酸性領域が、TFIIFのp62サブユニットN末pleckstrin homology(PH)領域と結合することを明らかにし、その立体構造を決定した。その結果、PH領域はガン抑制タンパクp53のN末転写活性化領域のPH上の結合領域と重なっていること、TFIIEaとp53がp62上で競合結合することが明らかとなり、転写とDNA損傷修復の協調的制御機構解明への糸口を得た(EMBO J.)。ユビキチン化ヒストンH2Aは蛋白分解の標的ではなく遺伝子転写などに関与することが示唆されていたが、詳細は明らかにされていなかった。ヒストンH2Aユビキチン化は31年前ラットの肝切除後に発見された最初のユビキチン化蛋白である。このヒストンH2Aユビキチン化が肝切除後に増加することを見だし、この変化に関与する酵素USP21を同定した(Genes Dev)。転写因子Bach1が、がん抑制因子p53、ヒストン脱アセチル化酵素1などと複合体を形成し、p53による増殖抑制(細胞老化)を阻害することを見だし、新しいp53制御経路を特定した(Nature Struc. Mol. Biol.)。ヒストンメチル化酵素の基質を合成するS-アデノシルメチオニン合成酵素がいくつかの転写因子と複合体を形成することを見だし、核内で代謝経路と遺伝子発現制御経路とがクロストークする新機構を提唱

した(投稿中)。転写制御は、標的遺伝子のエンハンサー上に形成される、特異的転写制御因子複合体(エンハンソーム)によって行われていると考えられてきた。しかし、エンハンソーム形成が、転写制御因子の化学修飾(リン酸化)によって、さらに高次の特異的制御を受け、転写を正にも負にも制御しうることを、Ets1 と、Runx1 および Pax5 との協調的な転写制御を例として、分子構造レベルで明らかにした(投稿中)。RNAポリメラーゼ II (Pol II) C 末端領域 CTD 結合新規 WW ドメイン蛋白質 PCIF1 について、ニワトリ DT40 細胞における PCIF1 遺伝子の標的破壊実験からリン酸化 CTD 結合 WW ドメイン蛋白質 Pin1 の発現が亢進すること、Pin1 は、PCIF1 と同様に Pol II の活性を負に制御でき、PCIF1 の機能を相補できる可能性が示唆された(投稿中)。

(3) 研究項目 A02「DECODE 回路」 平成 17 年度は計画研究 5 件、公募研究 22 件で、平成 18-19 年度は計画研究 5 件、公募研究 25 件、平成 20-21 年度は計画研究 5 件、公募研究 15 件の体制である。現時点で 81 回路を解析の対象としており、生命現象としては、代謝恒常性維持、ホルモンシグナリング、増殖制御、細胞分化、発生、がん化、RNAi 経路などを取り上げている。特にがん、細胞増殖、細胞分化に関して多彩な回路が解明されるとともに、非ヒストン蛋白質で翻訳後修飾コードを提唱するなど、根本原理の解明が進んだ。

19 年度までの活動により、エストロゲン受容体が MAPK でリン酸化されることによりスプライシング因子と結合し、標的遺伝子転写産物のスプライシングを促進すること(PNAS)、新規リングフィンガー蛋白質 NARF による Wnt 経路転写因子 TCF/LEF のユビキチン化(J. Biol. Chem.)、DNA 脱メチル化による IL2 遺伝子応答性のメモリー機構(EMBO J)、植物(Arabidopsis thaliana)におけるジベレリン生合成の恒常性を制御する AT フック型転写因子 AGF1 の発見(Plant Physiol.)、がん関連転写因子 MafA がインスリン遺伝子の活性化因子であること、その安定性がグルコースおよびグリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 により制御されること(Mol. Cell. Biol.)、ヘムによる転写因子 Bach1 (Maf のパートナー分子の一つ)のユビキチン化および分解制御と鉄代謝制御(Mol. Cell. Biol.)などを報告した。20 年度の成果としては以下のものが特に優れている。アルギニンメチル化酵素である PRMT1 が FOXO1 の Akt キナーゼの認識配列である RxRxxS/T の 2 つのアルギニン残基をメチル化することを見いだした。この 2 箇所の Arg を methyl-Arg に置換した合成ペプチドでは、Akt によるリン酸化が完全に

阻害され、アルギニンメチル化が Akt 依存的なリン酸化を阻害する機構が示唆された。また、PRMT1 は FOXO1 の核外移行-ポリユビキチン化-タンパク分解カスケードも抑制した。さらに PRMT1 は、FOXO1 のリン酸化を阻害することで酸化ストレスによるアポトーシス誘導に寄与していることが示された。以上の結果から、アルギニンメチル化が Akt 依存的なリン酸化に対する抑制的修飾コードであることを証明した。(Mol. Cell)。癌細胞がグルコース代謝を主なエネルギー供給源として増殖し、この代謝の変化が癌細胞の増殖に有利に働いていると考えられている。癌抑制因子 p53 が欠損した細胞では転写因子 NF- $\kappa$ B 恒常的に活性化していること、p53 欠損細胞は ras 癌遺伝子単独でトランスフォームするが、NF- $\kappa$ B を抑制するとトランスフォームしなくなることを発見した。更に、p53 欠損細胞では NF- $\kappa$ B によってグルコース代謝が亢進すること、p53 欠損細胞がトランスフォームする際にグルコース代謝の亢進が重要であることを明らかにした。これにより、p53 がグルコース代謝を調節しており、p53 の機能が無くなるとグルコース代謝が上昇してエネルギー産生が増大し、このことが癌化そのものに重要であることを明らかにした。(Nature Cell Biol.)。細胞内のエネルギーはグルコースなどから産生され、さまざまな過程で消費されるが、特に消費量が多いのは核小体でのリボソーム合成であると言われている。細胞環境中のグルコース濃度とリボソーム RNA 合成が連動していることを見出し、両者を連携している新たな蛋白質複合体 eNoSC を見出した。eNoSC は、新規蛋白質 Nucleomethylin (NML) をコアとし、SIRT1, SUV39H を含む。eNoSC は、細胞内エネルギー状態とカップルした NAD 量を検知することによって、リボソーム DNA のクロマチン状態を変化させ、リボソーム RNA 転写を制御ことが示唆された(Cell)。

転写因子 FOXO1 の脂肪組織における機能を明らかにするため、脂肪組織特異的 FOXO1 過剰発現マウスを作製した。このマウスは脂肪組織の肥大に加え、顕著なインスリン抵抗性を示した。また寒冷暴露実験から褐色脂肪組織の主要な役割である熱産生機能の低下も認められた。さらに DNA マイクロアレイの結果より、この表現型は、FOXO1 の標的遺伝子である PPAR $\gamma$  や C/EBP $\beta$  の遺伝子発現調節を介している可能性が示唆された(投稿中)。核内レセプターがリガンド依存的に TGF $\beta$  の下流メッセンジャーである Smad に結合し、そのぶんかいを誘導することでシグナルを抑制することを明らかにした。TGF $\beta$ /Smad シグナルは癌の転移を促進するシグナルであり、核内レセプターは癌の転移を抑制することを見出した(投稿中)。抑制因子 p53 の

新規標的遺伝子として Kelch-like 26 (KLHL26) 遺伝子を同定し、この分子がユビキチンリガーゼのサブユニットとしてまだ機能の明らかではない Scy11 をユビキチン化することを見いだした。KLHL26 を欠損させると、DNA 損傷に応答して細胞分裂期の停止が起こらずに分裂期破綻 (mitotic catastrophe) を来たした。これらのことから、細胞分裂期制御の新たな機構を発見するとともに、p53 が細胞分裂期を制御する機構を明らかにした (投稿中)。植物ホルモンジベレリン (GA) 合成系酵素遺伝子 *NtGA20ox1* の GA フィードバック制御に必要なシス領域内に RSG の結合配列を同定し、RSG の *NtGA20ox1* 標的配列への *in vivo* 結合は、GA 内生量低下時に特異的であり、標的配列周辺のヒストン H3 のアセチル化の亢進、H3 Lys 9 のメチル化の減少が関与することを示した (投稿中)。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件) 総括班として発表した論文はない。

[学会発表] (計 0 件) 総括班としての学会発表はない。

[図書] (計 0 件) 総括班としての図書発表はない。

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件) 総括班としての出願はない。

○取得状況 (計 0 件) 総括班としての取得はない。

[その他]

ホームページ等

領域ホームページアドレス

<http://www.decodesystems.jp/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

五十嵐 和彦 (IGARASHI KAZUHIKO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00250738

##### (2) 研究分担者

深水 昭吉 (FUKAMIZU AKIYOSHI)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授

研究者番号：60199172

緒方 一博 (OGATA KAZUHIRO)

横浜市立大学・大学院医学研究科・教授