

課題番号 30

DNA 損傷修復因子による遺伝子の転写を介した 細胞老化抑制機構の解明

[1] 組織

代表者：増本 博司

(長崎大学・医学部共同利用研究センター)

対応者：安井 明

(東北大学加齢医学研究所・分子腫瘍学研究分野 安井研究室・シニアフェロー)

分担者：なし

研究費：物件費：70,280 円 旅費：59,720 円

[2] 研究経過

出芽酵母レトロトランスポゾン Ty1 内部にはサイレンシングを誘導する領域が存在し (Hanasaki et al., 2019)、そのサイレンシング制御因子として、DNA の二本鎖切断修復に関与する Esc2 および Rad57 の両因子を同定した (Masumoto et al., 2024)。

我々は、DNA の二本鎖切断修復に関与する出芽酵母因子 Esc2 および Rad57 が、活発に転写されている遺伝子領域に形成される R-loop に結合し、当該遺伝子の転写量を減衰させることを見出した。この転写抑制機構は、RNA polymerase II (Pol II) を遺伝子領域から排除することで、特定の遺伝子の過剰な転写を防ぐ防御的な制御機構である。我々は、Pol II の排除には Esc2、Rad57 に加えて、脱リン酸化酵素 Sit4 およびプロリンイソメラーゼをコードする Rrd1 が必要であることを明らかにした。この転写減衰機構の破綻は、細胞増殖や寿命に深刻な影響を及ぼすことも示している (増本ら、投稿中)。

TOR (Target of Rapamycin) キナーゼを中核とする TOR complex 1 (TORC1) は、外部の栄養状態を感知して下流の遺伝子群の転写を制御するが、興味深いことに Sit4 および Rrd1 は TORC1 の支配下にある。我々は、TORC1 による標的遺伝子群の転写制御においても、Esc2 および Rad57 による転写減衰が Sit4、Rrd1 を介して関与している可能性があると考えている。

研究の目的：TORC1 は、リボソーム生合成系や解糖系などのハウスキーピング遺伝子群の転写制御を担っている。一方、*esc2Δ rad57Δ* 二重欠損株において転写量が上昇する遺伝子群も、同様にリボソーム生合成系および解糖系などのハウスキーピング遺伝子である。すなわち、TORC1 制御の標的と、Esc2 および Rad57 による Pol II の間引きによる転写制御の標的は、ほぼ重なっている。また、両機構ともに Sit4 および Rrd1 を共通因子として利用している点でも共通性が見られる。

本研究では、TORC1 制御と Esc2・Rad57 による Pol II 間引き機構が独立して機能しているのか、あるいは両者の間にクロストークが存在するのかを明らかにすることを目的とする。

研究方法：

出芽酵母をモデル生物として用いる。親株には BY4742 株を使用し、各種遺伝子欠損株 (*esc2Δ rad57Δ* 二重欠損株、*sit4Δ* 欠損株、*rrd1Δ* 欠損株) に対して TORC1 の阻害剤であるラパマイシン処理を行い、TORC1 を阻害した際に転写量が変動する遺伝子群を比較・検討する。

なお、本研究の共同研究先である加齢研において、受け入れ教員の安井 明 シニアフェローおよび菅野 新一郎 講師と、令和 7 年 2 月 13 日および 14 日に面会し、今回の研究内容に関する発表と今後の研究の方向性についてのディスカッションを行った。

[3] 成果

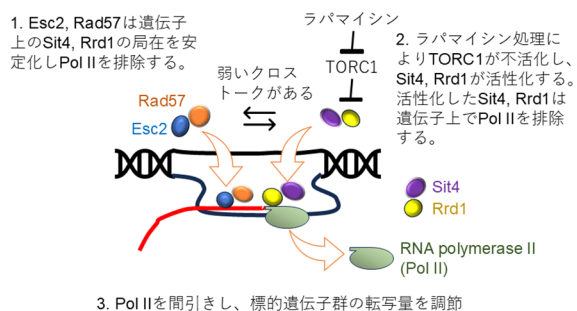
(3-1) 研究成果

本年度は、以下のような成果を得た (概略図参照)。

1.

Alfatah, M. et al., *BMC Biology* (2021) による RNA-seq データでは、ラパマイシン 処理により統計的に有意に転写量が低下する遺伝子数は 1,532 個であった。一方、我々が実施した RNA-seq 解析において、

図1. まとめ: Esc2, Rad57経路およびTORC1経路によるSit4, Rrd1を介したPol II間引き機構



esc2Δrad57Δ 二重欠損株で有意に転写量が上昇する遺伝子数は 386 個であった。このうち、両条件で共通して変動する遺伝子は 62 個であり、Gene Ontology 解析により、この 62 遺伝子は主にリボソーム生成、解糖系を中心としたエネルギー代謝経路、核酸合成経路などに関与することが示された。

なお、出芽酵母の mRNA には十分な長さの poly(A) が付加されないため、我々は rRNA 除去法を用いて RNA を調製しているが、その過程でリボソーム関連の RNA が一部除去された可能性があり、それが共通遺伝子数の少なさに影響している可能性がある。

2.

esc2Δrad57Δ 二重欠損株にラパマイシン処理を施した際に、転写量がどのように変動するかを明らかにするため、RNA 定量 PCR (RNA-qPCR) を実施した。解析対象には、研究成果 1 で同定した 62 個の共通遺伝子の中から、いくつかの解糖系関連遺伝子を選択した。その結果、**esc2Δrad57Δ** 欠損株では、ラパマイシン 処理によってこれらの遺伝子の転写量が有意に低下することが確認された。ただし、野生株と比較すると、**esc2Δrad57Δ** 欠損株では転写量の低下幅が小さいことが示された。

3.

sit4Δ 欠損株および **rrd1Δ** 欠損株においても、ラパマイシン 処理によって元来転写が活発な遺伝子の転写量は有意に減少した。さらに、**esc2Δrad57Δ sit4Δ** または **esc2Δrad57Δ rrd1Δ** 三重欠損株では、ラパマイシン による転写量減少の有意性がさらに弱まり、転写量の変化幅はより小さくなった。

結論：

以上の結果より、TORC1 による転写制御機構と Esc2・Rad57 による Pol II の間引き機構は、基本的には独立して機能していることが示唆された。しかし、両機構ともに Sit4 および Rrd1 を標的とすることから、これらを介した弱いクロストークが存在し

ている可能性が示された (図 1 参照)。

(3-2) 波及効果と発展性など

Pol II 間引き機構は、現在のところ出芽酵母をモデル生物として研究が進められており、ヒトを含む哺乳類において同様の機構が存在するかどうかは、今後の重要な研究課題である。Pol II およびその基礎転写因子群は真核生物間で高度に保存されており、他の関連因子についても、ヒトにおける Rad57 のホモログは XRCC3、Esc2 のホモログは NFATC2IP、Sit4 は PP6、Rrd1 は PTPA に相当する。これらのホモログも、ヒトにおいて Pol II 間引き機構に関与し、ハウスキープ遺伝子群の転写調節を担っている可能性がある。

今回の研究により、Pol II の間引き機構とは独立して、TORC1 経路がハウスキープ遺伝子群の転写を調節し得ることが示された。また、Sit4 または Rrd1 の欠損状態においても、ラパマイシン 処理により転写抑制が可能であることが確認された。Sit4 のヒトホモログである PP6 は、機能喪失により皮膚がんをはじめとするさまざまながんの発症に関与することが知られている (Kishimoto et al., 2015; Fukui et al., 2022)。近年、ラパマイシン は抗がん剤としての活用が広く検討されており、mTOR 経路を標的とする治療薬として、臨床応用や研究が進められている (Saxton & Sabatini, 2017; Laplante & Sabatini, 2012)。特に、PP6 が関与する皮膚がんを含む特定のがんタイプにおいて、ラパマイシン の投与が有効である可能性が示唆される。

[4] 成果資料

発表論文

Masumoto H, Muto H, Yano K, Kurosaki Y, Niki H. The Ty1 retrotransposon harbors a DNA region that performs dual functions as both a gene silencing and chromatin insulator. *Sci Rep.* 2024 Jul 18;14(1):16641. doi: 10.1038/s41598-024-67242-z.

学会発表

(1) 増本ら、DNA 損傷修復因子は遺伝子領域から転写複合体を排除することで転写抑制に関与する、第 96 回日本遺伝学会、高知工科大学、2024 年 9 月 4 日—9 月 6 日、口頭発表

(2) 増本ら、DNA 損傷修復因子は遺伝子領域から転写複合体を排除することで転写抑制に関与する、第 57 回酵母遺伝学フォーラム、香川県民ホール レクザムホール、2024 年 9 月 9 日—9 月 11 日、口頭発表