

特集：遺伝子発現制御から迫る生体内環境応答機構

代謝ストレス応答と rRNA 転写制御機構

村山明子^{1,2,3}

リボソーム生合成の過程は真核細胞における最大のエネルギー消費過程であり、rRNA 転写はその律速段階である。rRNA の転写は細胞の増殖と密接な関係にあり、細胞の分化、増殖状態や栄養素の供給など細胞の内外の状態によって制御を受けている。とくに、エネルギー代謝と rRNA 転写調節の間には密接な関連があることが示されてきた。近年、rRNA 転写による細胞内エネルギー消費調節機構について明らかになってきている。本稿では、これまで明らかにされてきた rRNA 転写制御機構について解説し、さらに rRNA 転写のエピジェネティクス制御を介したエネルギーバランス制御メカニズムを解明した最近の知見を概説する。

はじめに

正常な細胞機能を維持するためには、細胞内のエネルギーレベルの恒常性が保たれることが必須である。細胞内のエネルギーレベルはエネルギーの生産と消費のバランスによって規定されている。エネルギーの生産は、グルコースなどの栄養素から解糖系・TCA サイクル・電子伝達系を経て ATP を作る「ATP 産生」を示す。また、エネルギーの消費は、ATP をエネルギー通貨として用いる様々な細胞機能による「ATP 消費」を示す。生活習慣病やがんなどの種々の疾患では、この「ATP 産生系」と「ATP 消費系」のバランスが崩れていることが知られている。また、消費系が産生系に対して優位に働けば細胞のエネルギーは枯渇し、細胞死を招く。

細胞の増殖率は細胞内タンパク質合成率と比例している。一方、タンパク質合成はリボソーム合成によって精密

に制御されている。このリボソーム合成からタンパク質合成の過程で、細胞内 ATP の多くが消費される。したがって、リボソーム合成の状態が「ATP 消費系」において大きく影響することとなる。リボソーム合成の律速となっているのがリボソーム RNA (rRNA) 転写である。rRNA 転写は核小体において RNA ポリメラーゼ I (PolI) によって行われている。核小体は rRNA 合成の場として知られているが、近年、細胞周期・細胞傷害応答や代謝ストレス応答など、様々な細胞内現象に核小体が関わっていることが報告されている。

本稿では、様々な刺激による rRNA 転写制御メカニズムを解説するとともに、主に細胞のエネルギー供給の変化に対応した rRNA 転写制御に着目し、rRNA 遺伝子のエピジェネティックな変化による細胞エネルギー恒常性の制御機構について解説する。

1. rRNA 転写¹⁻³⁾

リボソームは 18S, 28S, 5.8S の各種 rRNA と 70 個以上におよぶりボソームタンパク質からなるタンパク質合成装置である。rRNA はリボソームを構成する RNA であり、RNA としては細胞内で最も大量に存在する。真核生物のリボソームのうち、大サブユニット (60S サブユニット) には一般に 28S と 5.8S, 5S rRNA, 小サブユニット (40S サブユニット) には 18S rRNA が含まれるが、種によってその大きさには若干の違いがある。ヒトにおいて、

¹筑波大学大学院生命環境科学研究科, ²筑波大学先端学際領域研究センター, ³科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業・さががけ (〒305-8577 茨城県つくば市天王台 1-1-1)

rRNA transcription and metabolic stress response
Akiko Murayama^{1,2,3} (¹Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba/²Tsukuba Advanced Research Alliance (TARA), University of Tsukuba/³PRESTO, JST, Tenno-dai 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki, 305-8577 Japan)

28S, 5.8S, 18S RNA は一つの転写単位に由来する。これは rRNA 前駆体 (pre-rRNA) と呼ばれる約 13 kb の RNA であり, PolII によって核小体で転写される。転写された rRNA 前駆体は, snoRNA (small nucleolar RNA) などの様々な RNA やタンパク質の働きにより修飾され不要な部分を取り除かれたのち, rRNA になる。一方, 5S RNA は RNA ポリメラーゼ III により転写される。rRNA はタンパク質合成の触媒反応の活性中心を形成していると考えられている (図 1B)。

rRNA 遺伝子 (rDNA) プロモーターは, rRNA 遺伝子上流 -200~-65 の範囲に存在する上流制御要素 (UCE; up-stream controlling element) と呼ばれる領域と, -45~+20 の範囲に存在する TATA ボックスを含むコアプロモーター (CPE; core promoter element) と呼ばれる領域の二つの部分からなる。rRNA 転写は, rRNA 遺伝子プロモーター上に PolII と SL1 (selectivity factor 1) と UBF (UCE 結合因子) から構成される転写開始複合体 (pre-initiation complex, PIC) が形成されることで始まる。UBF が UCE に結合することによって, SL1 の TATA ボックスへの結合を促進する。SL1 は TBP (TATA 結合タンパク質)・TAF (Pol I 会合因子: TAF_i 110・TAF_i 68・TAF_i 48) といった因子からなる複合体である。SL1 の CPE への結合能は比較的弱いことが知られているが, Pol I 結合タンパク質である TIF-1A と結合することによって Pol I を rDNA プロモーター上にリクルートし, PIC の形成を誘導する。したがって, SL1 が CPE に結合することは rRNA 転写の開始

において必須であると考えられている (図 1A)。

2. rRNA 転写制御

真核細胞の rRNA 遺伝子は, RNA ポリメラーゼ II や RNA ポリメラーゼ III によって転写される他の遺伝子と異なり, 細胞あたり約 400 コピー存在し, 5 本の染色体 (ヒトでは 13 番~15 番, 20 番, 21 番染色体) の上にタンデムな繰り返し配列を形成するクラスターとなって存在している (図 2)。細胞内の数百コピーの rRNA 遺伝子のうちすべてが転写されているわけではなく, 転写されている rRNA 遺伝子と転写されていない rRNA 遺伝子が混在していることが知られている。したがって, rRNA 転写は, 1) 「個々の転写されている rRNA 遺伝子の転写活性化状態」と 2) 「エピジェネティクス制御を介したクロマチン構造の変化による, 転写されている遺伝子の割合」の二つの段階で制御を受けている。

1) rRNA 遺伝子の転写活性化調節機構

哺乳類において rRNA 合成を制御する刺激として, 栄養枯渇・部分的肝切除・ホルモン投与・シクロヘキシミド投与・アミノ酸枯渇などの刺激が知られている^{4,5)}。これらの刺激は PolII の転写に関わる因子の修飾状態を変化させることによって, rRNA 転写を制御していることが報告されている。例えば, UBF の C 末端部位がカゼインキナーゼ II によってリン酸化されると, SL1 との結合が強まり, rRNA 転写の誘導が起こる⁶⁾。さらに, ヒストンアセチル化酵素である CBP や P300 による UBF のアセチル化は

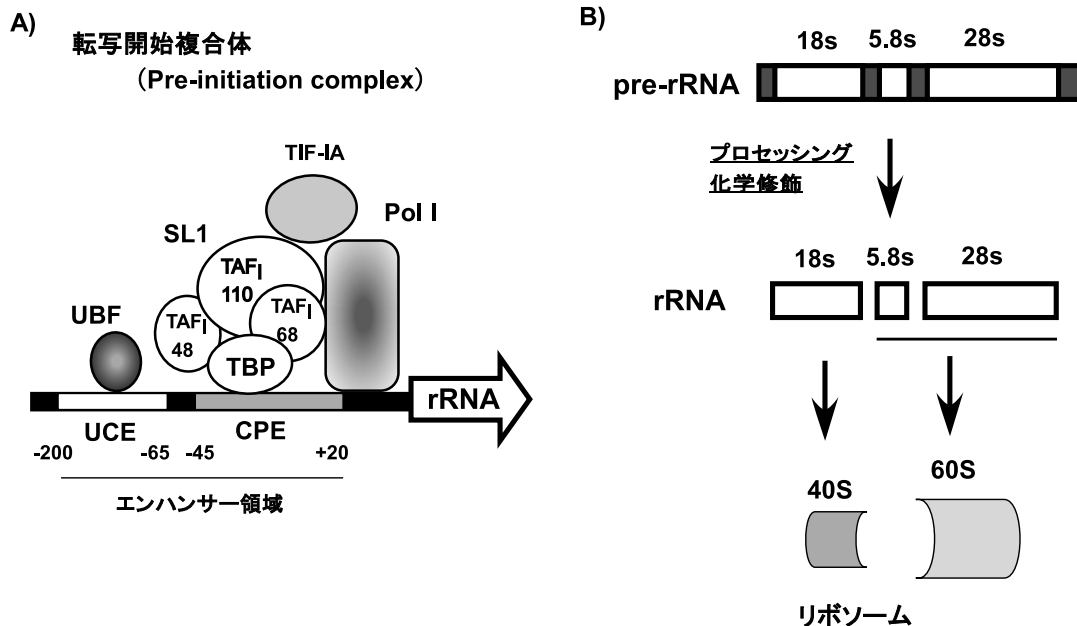


図 1 rRNA 転写複合体と rRNA 合成

A) rRNA 転写複合体

B) rRNA 合成

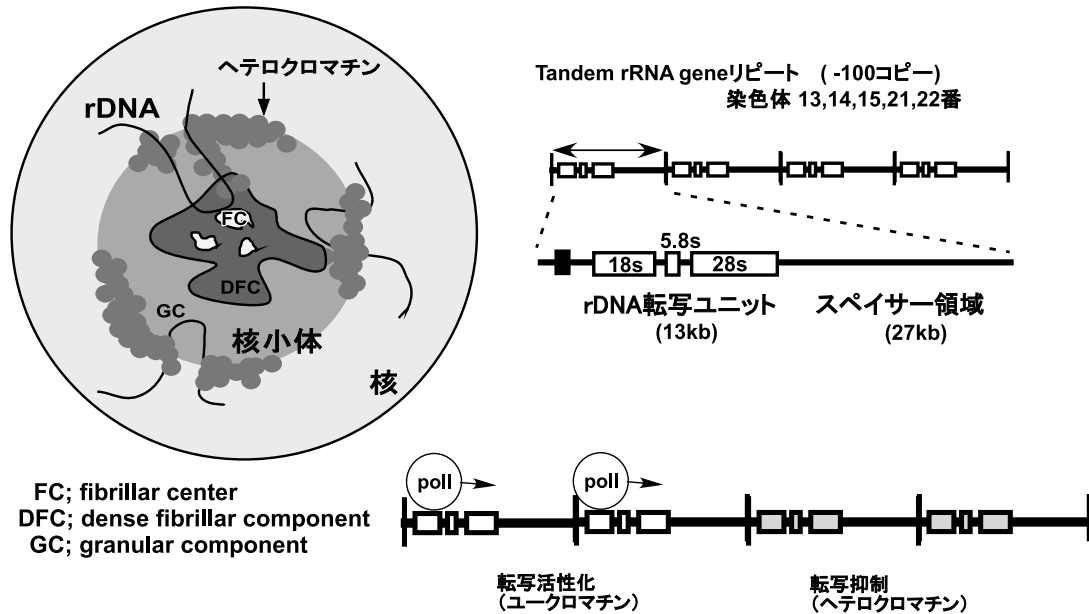


図2 核小体構造と rRNA 遺伝子 (rDNA) の構造

rRNA 転写は核小体内で行われる。核小体内の FC 部分で rRNA 転写が起こり、DFC および GC を経て rRNA の成熟・リボソーム合成が進んでいく。rRNA 遺伝子は、細胞あたり数百個存在し数個の染色体上にクラスターとなって存在している。各クラスター内では、ユークロマチン化され転写されている遺伝子とヘテロクロマチン化され転写されていない遺伝子が存在している。ヘテロクロマチン化されている遺伝子は核小体の周囲に多く存在している。

UBF の活性を高める⁷⁾。また、UBF は PCAF や Tip60 によってもアセチル化することが知られているが、その機能は不明である。一方、SL1 の構成因子である TAF₆₈ は PCAF によってアセチル化される。TAF₆₈ のアセチル化は rDNA への結合を高め、rRNA 転写を亢進させる。一方、TAF₆₈ が NAD⁺ 依存的脱アセチル化酵素 SIRT1 によって脱アセチル化されると、rRNA 転写は抑制される⁸⁾。このように、PolII 転写に関わる因子の可逆的なリン酸化・アセチル化修飾によって、rRNA 転写が調節されている (表 1)。

2) エピジェネティクス制御を介した rRNA 遺伝子のクロマチン構造調節機構

エピジェネティクス制御とは、ヒストンの化学修飾や DNA のメチル化など塩基配列の変化を伴わない遺伝子機能制御のことである。遺伝子の発現は、転写因子だけでなく、DNA のメチル化状態やヒストン化学修飾によるクロマチン状態によっても制御される。通常、転写活性化領域では DNA は低メチル化状態にあり、クロマチンも弛緩した状態 (ユークロマチン) であることが知られている。一方、転写不活性化領域では DNA は高メチル化状態にあり、クロマチンは凝縮 (ヘテロクロマチン) している。このようなヘテロクロマチン状態では転写因子は目的の領域に結合できないため、転写因子の制御は無効である。したがって、エピジェネティクスによる転写制御はより上位の制御機構といえる。

表 1 PolII 転写因子の様々な因子によるリン酸化・アセチル化修飾と PolII 転写活性化状態

PolII 転写因子	PolII 転写活性化		PolII 転写抑制
	リン酸化	アセチル化	
UBF	リン酸化	アセチル化	リン酸化
	ERK CK2 cdk4/サイクリン D1 cdk2/サイクリン E cdk2/サイクリン A	CBP/p300	mTOR
SL1	リン酸化	アセチル化	脱アセチル化
	TBP	cdc2/サイクリン B	
	TAF ₆₈	PCAF	SIRT1
TAF ₁₁₀	cdc2/サイクリン B		
TIF-1A	リン酸化		リン酸化
	ERK RSK		mTOR

転写活性化状態にある rRNA 遺伝子プロモーターでは、DNA はメチル化しておらず、ヒストンにはユークロマチンのマーカーとなる H3K9 アセチル化修飾が認められる。一方、転写抑制状態にあるサイレントな rRNA 遺伝子プロモーターでは、DNA は高メチル化状態で、ヒストンにはヘテロクロマチンマーカーである H3K9 メチル化修飾が認められる。これまでに、rRNA 遺伝子のエピジェネティクスによる転写制御因子として、NoRC (nucleolar remodeling

complex) が報告されている。NoRCはSNF2h-containing chromatin remodeling complexで、rRNA遺伝子プロモーターにDNAメチル化酵素であるDNMTやヒストン脱アセチル化酵素HDACをリクルートすることによって、DNAメチル化やヒストンH3K9の脱アセチル化・メチル化を促進し、rRNA転写を抑制する¹⁾(図3)。しかしながら、このエピジェネティクス制御を介したメカニズムについては不明な点が多い。

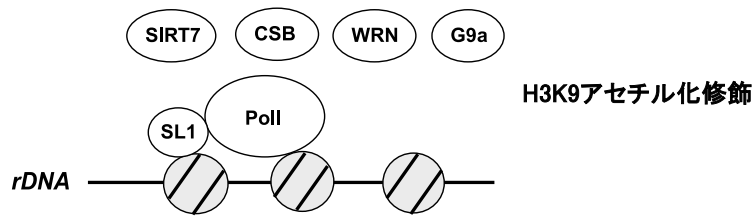
3) rRNA転写調節と細胞機能(図4)

rRNA転写は細胞の分化や増殖因子・栄養状態など細胞の内外の状態に応じて精密に制御されている。

(i) 老化・寿命

Saccharomyces cerevisiae や *Drosophila* では、rRNA遺伝子のサイレンシングがゲノムの安定性に関わり、老化や寿命に影響することが知られている^{9,10)}。rRNA遺伝子の安定化に関わる鍵因子として、*S. cerevisiae* ではNAD依存的

活性型rRNA遺伝子(rDNA)プロモーター



抑制型rRNA遺伝子(rDNA)プロモーター

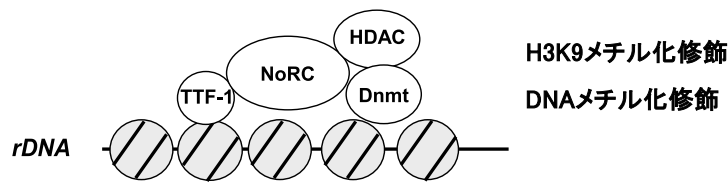


図3 rRNA遺伝子プロモーターのエピジェネティック制御に関わる因子

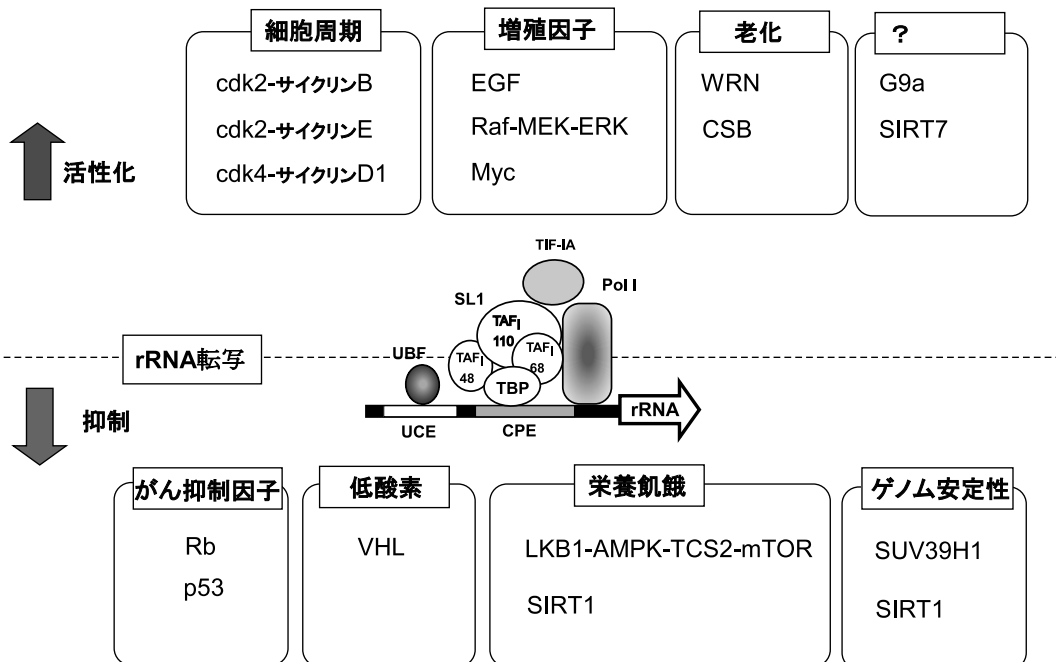


図4 様々な因子によるrRNA転写調節

なヒストン脱アセチル化酵素 Sir2 (silent information regulator 2) がある。Sir2 の変異は rRNA 遺伝子の不安定化を引き起こし、寿命を短くすることが知られている。また、*Drosophila* ではヒストンメチル化酵素である Su (var) 3-9 (suppressor of variegation 3-9) が報告されている。Su (var) 3-9 の変異体ではヒストン H3 の 9 番目のリジン残基ジメチル化修飾 (H3K9me2) のレベルが減少し、核小体構造の不安定化が起こり、繰り返し rRNA 遺伝子群から組換えによって環状の DNA 分子 (extra rDNA circle: ERC) が飛び出す。ERC の蓄積が老化に関わることが示唆されている。

ヒトにおいては、早老症として知られるウェルナー症候群の原因遺伝子である WRN が rRNA 転写に関係するという報告がある。WRN タンパク質は核小体や核に局在し、rRNA 転写を促進させる。ウェルナー症候群の患者から採取した線維芽細胞では rRNA 転写が抑制されていること、正常の WRN タンパク質を導入することによって rRNA 転写の抑制が解除されることが明らかとなった¹¹⁾。また、ウェルナー症候群の患者から採取した線維芽細胞や老化した細胞では rRNA 遺伝子の DNA メチル化が亢進していることが報告されている¹²⁾。ヒトにおいては、老化と rRNA 転写・rRNA 遺伝子の状態との関係については、いまだ不明であるが、これまでの報告から何らかの関連性が示唆されている。

(ii) 細胞周期・細胞増殖 (表 1)

哺乳類では酵母と異なり、rRNA 転写は細胞周期によって調節されている。M 期では転写は止まっており、G₁ 期に入ると転写が高まり、S 期と G₂ 期でピークとなる¹³⁾。SL1 と UBF は転写の起こらない M 期にも rDNA 領域に結合したままであるが、SL1 と UBF のリン酸化状態が細胞周期において大きく変動することが知られている。例えば、分裂中期での cdc2-サイクリン B による SL1 構成因子の TAF₁₁₀ のリン酸化は UBF との結合を阻害することによって、SL1 の不活性化を引き起こし、rRNA 転写を抑制する¹⁴⁾。また、UBF は G₁ 期特異的に cdk2-サイクリン E や cdk4-サイクリン D1 により S484 がリン酸化される¹⁵⁾。G₁ 後期には cdk2-サイクリン E や cdk2-サイクリン A によって S388 がリン酸化される。これら UBF のリン酸化は PolI との結合に必須だと考えられている¹⁶⁾。一方、M 期の UBF の不活性化にもリン酸化が関係することが知られている¹⁷⁾。

増殖因子による rRNA 合成の促進には mitogen activated protein kinase (MAPK) 依存的な TIF-1A のリン酸化が必要であることが示された¹⁸⁾。また、EGF や Raf-MEK-ERK 経路による UBF のリン酸化も rRNA 合成促進を誘導する¹⁹⁾。

(iii) がん抑制遺伝子・DNA 障害

トランスフォーム細胞では、rRNA 転写が促進し、核小

体が大きいことが知られている。核小体の大きさはがん細胞の増殖度を示す指標として使われている²⁰⁾。トランスフォーム細胞では亢進している細胞増殖や成長のため、タンパク質合成が高まっており、それを rRNA 転写がサポートしていると考えられている。そのため、rRNA 転写に関わる転写因子群も過剰発現していることが知られている。がん細胞では、Ras-MAPK 経路や mTOR・PI3K 経路が常に活性化した状態にあり、これが rRNA 転写を促進し、リボソームの合成促進を誘導している。

また、Rb や p53 などのがん抑制遺伝子や Myc などのがん遺伝子が、rRNA 合成の調節に関わることも知られている。p53 や Rb は UBF と SL1 との結合を阻害することによって、rRNA 転写を抑制する²¹⁾。Rb は UBF の HMG ボックスに結合することによって、CBP による UBF のアセチル化を阻害している。Rb が CBP に代わって UBF に結合すると、HDAC1 をリクルートして UBF の脱アセチル化を促進する²²⁾。一方、c-Myc は活性化している rRNA 遺伝子プロモーターに結合し、SL1 のリクルートを亢進することによって、リボソーム合成を促進することが知られている²³⁾。このように近年、がんと rRNA 合成との関係についての報告も増えてきているが、様々な疑問が残されている。

DNA 障害と rRNA 合成との関連についても報告がある。遺伝的早老症であるコケイン症候群 (CS) は「転写と共役した DNA 修復機構」に異常を持ち、CSA 遺伝子や CSB 遺伝子の突然変異により発症する。CS の原因遺伝子である CSB が rRNA 転写を調節することが知られている。CSB は rDNA 転写開始領域に局在し、PIC とともに大きな複合体を形成し、rRNA 転写を促進している。rRNA 転写自身が細胞への DNA ダメージのセンサーとなっているという考え方もある²⁴⁾。

(iv) 栄養状態

エネルギーを消費する反応の中でも、rRNA 転写とそれに引き続き起こるリボソーム合成は、細胞内での最大のエネルギー消費過程であると考えられている。rRNA の転写はリボソーム合成の律速段階であると考えられており、rRNA の転写は細胞のエネルギー消費に大きな影響を与えていることが近年明らかになってきている。したがって、rRNA 合成は細胞内エネルギー状態に応じて、迅速に調節されることが必要となり、実際、栄養状態・細胞外エネルギー状態によって、精密に調節されていることが示唆されてきた。

こうしたメカニズムの一つに、LKB1-AMPK-mTOR 経路を介した rRNA の転写制御がある。mTOR はアミノ酸やインスリンなどの栄養物質に応じて活性化し、タンパク質合成を促進するキナーゼである。mTOR は翻訳に関わるタンパク質をリン酸化して翻訳を活性化する働きを持って

いるほか、PICの形成に必要なUBFの転写を活性化し、TIF-1Aのリン酸化を介してrRNA転写を促進する機能も持っている²⁵⁾。mTORの活性は細胞へのグルコースなどの栄養素の供給により制御されており、その制御には上流のシグナル分子であるアデノシンリン酸 (AMP) 依存性キナーゼ (AMPK) が関与している。AMPKは細胞内のエネルギーセンサーであり、その活性は細胞内のエネルギー状態により左右される。細胞へのグルコースの供給が滞るとATP生産が減少し、細胞内のATP濃度が減少する。細胞は2分子のADPからATPとAMPを合成することでATPの減少を補おうとするために、AMPの濃度が大きく上昇する。このAMPの濃度上昇を感知してLKB1キナーゼによるAMPKのリン酸化が起こり、AMPKが活性化する²⁶⁾。活性化したAMPKはmTORの抑制因子であるTSC2をリン酸化して活性化する²⁷⁾。したがって、栄養飢餓により細胞内のATPが減少するとmTOR活性が低下して、rRNA転写開始複合体の形成が抑制されrRNA転写が低下する。

このように、グルコースなどの栄養素の供給が減少しエネルギー生産が低下すると、rRNAの転写速度が低下することから、エネルギー代謝とrRNA転写調節の間には密接な関連があると考えられてきた。しかし、細胞へのエネルギー供給がrRNAのクロマチン構造の変化に関与するかどうかは分かっていなかった。

(v) その他

近年Mekhaailらは低酸素環境によってもrRNAの転写が抑制されることを示した。彼らは、低酸素によるrRNA転写抑制にはがん抑制タンパク質であるvon Hippel-Lindau (VHL) タンパク質が関与していることを報告した²⁸⁾。細胞のATPの多くは、酸素が十分存在するときにはミトコンドリアでの呼吸鎖を利用して生産されているが、低酸素環境では呼吸鎖が機能しないためATPの生産が著しく低下する。低酸素環境においては低下したATP生産を補うために、細胞は乳酸発酵を用いた嫌気的な反応でATPを合成しようとする。低酸素環境では酸素の欠乏に応じて活性化される転写因子である低酸素誘導因子 (HIF1) により、解糖系の酵素群と乳酸脱水素酵素の転写が促進される。その結果、低酸素環境ではグルコースが乳酸へ変換される乳酸発酵が促進され、細胞周辺のH⁺濃度が上昇しpHが低下する。詳しいメカニズムは不明だが、彼らは細胞周辺のpHが低下することにより、VHLタンパク質が細胞質から核小体へ移行し、rRNA転写とエネルギー消費が抑制されることを見いだした。

SIRTファミリーに属するSIRT7は核小体に主に局在しrRNA転写を亢進させることが報告されている。SIRT7によるrRNA転写促進の生物学的な意義については不明である²⁹⁾。

3. 低グルコースによるrDNA領域のエピジェネティックな制御機構

われわれは、HeLa細胞培養液中のグルコースを低下させると、リボソーム合成およびタンパク質生産量が減少することを見いだした (図5A, B)。さらに、同条件で、rDNA領域のヒストンのアセチル化 (H3Ac) 率が低下し、H3K9me2率が上昇することを明らかにした (図5C)。ユークロマチンマーカであるH3Acが上昇し、ヘテロクロマチンマーカであるH3K9me2が減少することから、低グルコースによってrDNA領域のクロマチン状態が変化することが示唆された。HeLa細胞はLKB1の発現が弱く、LKB1-AMPK-mTOR経路の働きが低い。したがって、この結果はLKB1-AMPK-mTOR経路以外に、細胞内の栄養状態をモニターし、リボソーム合成をエピジェネティックに制御するシステムが細胞内に存在することを示している。

(1) 新規核小体因子 nucleomethylin (NML) の同定^{30,31)}

そこで、rRNA遺伝子のクロマチン構造変換に関わる因子を探索した。我々は「ヒストン上の各アミノ酸における異なる化学修飾が異なるクロマチンの構造・機能を規定する」というヒストンコード仮説に基づき、特定のヒストン修飾に結合するタンパク質がrRNAの転写を制御しているのではないかと考え、様々な修飾を受けたヒストンに結合する因子を探索した。その結果、ヘテロクロマチンのマーカであるH3K9me2修飾に、分子量約60kDaの新規タンパク質が特異的に結合することを見だし、nucleomethylin (NML) と名付けた。NMLは主に核小体に局在し、NMLの量に応じてrRNA転写が抑制され (図5D)、rDNA領域においてヒストンH3の脱アセチル化と、ヘテロクロマチン化のマーカであるヒストンH3K9のジメチル化が誘導された。この結果から、NMLはrDNA領域をヘテロクロマチン化することによりrRNAの発現を抑制する機能があることが強く示唆された。このようなヒストンの修飾状態の変化から、NMLによるrDNAのヘテロクロマチン化にはヒストン脱アセチル化酵素と、ヒストンH3K9のメチル化酵素が関与していると考えられた。その分子メカニズムを検討したところ、NMLはNAD依存的脱アセチル化酵素であるSIRT1やヒストンH3K9のメチル化酵素であるSUV39H1と複合体を形成することが明らかとなった。また、NMLによるrRNA合成の抑制にはSIRT1およびSUV39H1の酵素活性が必要であることが確認された。

したがって、NML複合体は隣接するヒストンH3の脱アセチル化およびヒストンH3K9のジメチル化を誘導することによって、それを足場に新たなNML複合体を結合させる。これを繰り返すことによって、rDNA領域のヘテロクロマチン化が進み、rRNA合成が抑制される。このよう

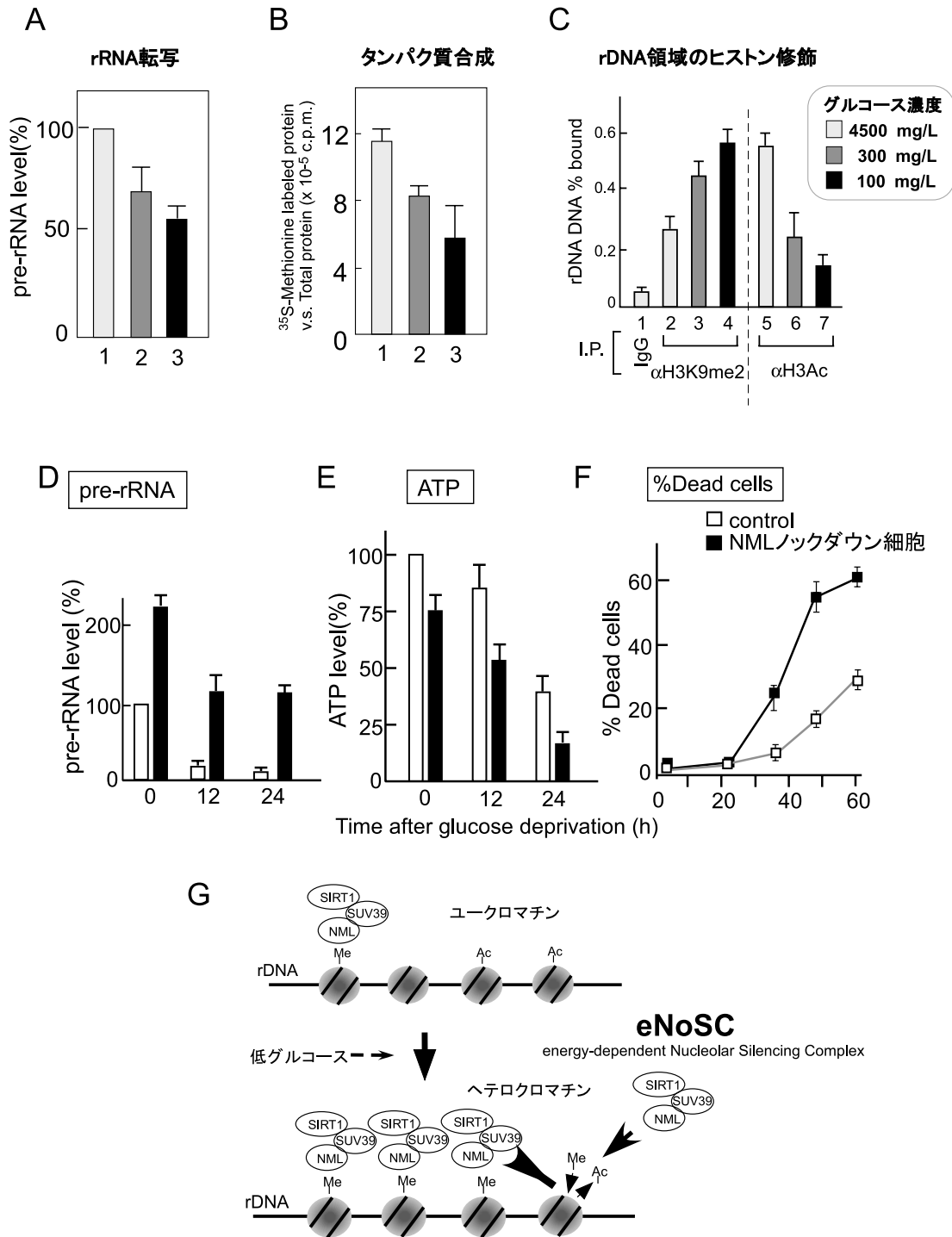


図5 eNoSCは栄養飢餓による細胞死の回避に働いている。

A) 細胞培養液のグルコース濃度を变化させたときのHeLa細胞におけるrRNA発現量。B) 細胞培養液のグルコース濃度を变化させたときのHeLa細胞におけるタンパク質合成量。C) 細胞培養液のグルコース濃度を变化させたときのHeLa細胞におけるヒストンテイルの化学修飾状態。D) NMLノックダウン細胞ではグルコース除去後のrRNA発現抑制が弱い。E) NMLノックダウン細胞ではグルコース除去後、早期に細胞内のATP濃度が減少する。F) NMLノックダウン細胞ではグルコース除去後、早期に細胞死が認められる。G) NML複合体は低グルコースで活性化し、rDNA領域のヒストン修飾状態を変換させることによって、rDNA領域のサイレンシングに関わっている。

に、NML複合体はエピジェネティックな制御機構を介して、rRNA合成抑制に働くことが判明した。

(2) NML複合体 (eNoSC) の機能^{30,31)}

一般的に、栄養飢餓状態では細胞内NAD/NADHの比率が上昇し、SIRT1が活性化することが知られている³³⁾。NAD/NADHは、全ての真核生物と多くの古細菌、真正細菌で用いられる電子伝達体である。さまざまな脱水素酵素の補酵素として機能し、酸化型(NAD⁺)および還元型(NADH)の二つの状態を取り得る。ATPを合成する解糖系、TCA回路、呼吸系などの一般的な代謝で用いられている。NML複合体にはSIRT1が含まれることから、SIRT1の活性化が誘導される栄養飢餓状態(低グルコース状態)でのNML複合体の働きについて検討した。その結果、低グルコース状態ではNMLおよびSIRT1のrDNA領域への結合が促進されることが明らかとなった。また、低グルコース状態によるrRNA合成抑制が、NML複合体のそれぞれのノックダウンにおいて認められなくなることを確認した。また、低グルコース状態で認められたrDNA領域のヒストンH3脱アセチル化・H3K9ジメチル化の誘導がNML複合体のノックダウンによって認められなくなることが判明した。さらに、NMLノックダウン細胞株を用いて、低グルコース状態でrRNA合成・細胞内ATP濃度・死細胞の割合について、時間経過を追って検討した。その結果、NMLノックダウン細胞株ではコントロールと比べ、低グルコース状態によるrRNA合成の抑制が弱いこと、細胞内ATP濃度がより早期に枯渇すること、より早期に細胞死が誘導されることが明らかとなった(図5D, E, F)。NML複合体のノックダウンはエネルギーバランスの崩壊と、それに伴う細胞死を引き起こすことから、NML複合体が栄養飢餓による細胞死の回避に働いていることが示唆された。これらの結果から、NML複合体は栄養飢餓状態において、隣接したヒストンを順次脱アセチル化・メチル化するエピジェネティックな機構を介してrRNAの転写を抑制していることが考えられた(図5G)。そこで、NML複合体をeNoSC (energy-dependent nucleolar silencing complex) と名付けた。eNoSCは、NAD/NADH比が上昇したときに活性化する。さらにエネルギー飢餓時に活性化されたeNoSCは、rRNA遺伝子をヘテロクロマチン化し転写を抑制することでエネルギー消費を低下させ、細胞死を回避していると考えられた。

一方で、NMLはメチル化酵素ドメインを有しており、構造解析および変異体を用いた解析からメチル化酵素である可能性がある。現在までのところ、NMLのメチル化標的分子の同定には至っていない。しかしながら、NMLとS-アデノシルメチオニン(SAM)との結合がeNoSCの働きには必要であることが分かっている。eNoSCに含まれるSIRT1はNAD/NADH比が上昇したときに活性化する

が、同様にSUV39H1とNMLはメチル基供与体であるSAMによって活性化すると考えられる。したがって、eNoSCがNAD/NADHやSAMのような低分子による調節機構を受けている可能性が考えられる。また、低分子によるeNoSCの活性化制御が可能性であれば、薬の開発に結び付くことが期待される。

おわりに

rRNA転写が様々な因子により制御されていることを述べてきた。rRNA転写は細胞内の転写の大部分を担っていることから、細胞内の様々な機能に関わっていることは当然だと考えられる。

細胞内エネルギー代謝異常は、がんや生活習慣病など様々な疾患において認められており、このような疾患とNML複合体の機能との関連について、今後検討していきたいと考えている。そして、これらの知見をもとに細胞のエネルギー消費を制御できれば、様々な病気の治療や予防に役立つ可能性がある。例えば、虚血などにより細胞が一時的にエネルギー飢餓に陥り傷害を受けてしまう場合には、細胞のエネルギー消費を減少させることにより細胞傷害が抑えられるであろう。また、固形がんではがん細胞の成長に血管の新生が追いつかず、がん内部は低酸素・低栄養になっている場合が多い。そのような場合にはrRNA転写の抑制を解除し細胞のエネルギーの消費を亢進することにより、がん細胞を効率よく排除できると考えられる。

近年、エネルギー制御機構の分子生物学的解析が急速に進み、代謝に関わる分子ネットワークが構築されつつあり、これまでに明らかにされている生化学的代謝ネットワークと分子生物学的代謝ネットワークの融合が必要とされている。

文 献

- 1) Grummt, I. (2003) *Genes Dev.*, 17, 1691-1702.
- 2) Russell, J. & Zomerdijk, J.C.B.M. (2005) *TRENDS Biochem. Sci.*, 30, 87-96.
- 3) Moss, T., Langlois, F., Gagnon-Kugler, T., & Stefanovsky, V. (2007) *Cell. Mol. Life Sci.*, 64, 29-49.
- 4) Jacob, S.T. (1995) *Biochem. J.*, 306, 617-626.
- 5) Grummt, I. (1999) *Progr. Nucleic. Acid. Res. Mol. Biol.*, 62, 109-154.
- 6) Voit, R., Kuhn, A., Snader, E.E., & Grummt, I. (1995) *Nucleic Acids Res.*, 23, 2593-2599.
- 7) Hirschler-Laszkiwicz, I., Cavanaugh, A., Hu, Q., Catania, J., Avantiaggiati, M.L., & Rothblum, L.I. (2001) *Nucleic Acids Res.*, 29, 4114-4124.
- 8) Muth, V., Nadaud, S., Grummt, I., & Voit, R. (2001) *EMBO J.*, 20, 1353-1362.
- 9) Kobayashi, T., Horiuchi, T., Tongaonkar, P., Vu, L., & Nomura, M. (2004) *Cell*, 117, 441-453.
- 10) Peng, J.C. & Karpen, G.H. (2007) *Nat. Cell Biol.*, 9, 25-35.

- 11) Shiratori, M., Suzuki, T., Itoh, C., Goto, M., Furuichi, Y., & Matsumoto, T. (2002) *Oncogene*, **21**, 2447–2454.
 - 12) Machwt, A., Orren, D.K., & Bohr, V.A. (2000) *FASEB J.*, **14**, 1715–1724.
 - 13) Grummt, I. & Pikaard, C.S. (2003) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**, 4641–4649.
 - 14) Heix, J., Vente, A., Voit, R., Budde, A., Michaelidis, T.M., & Grummt, I. (1998) *EMBO J.*, **17**, 7373–7381.
 - 15) Voit, R., Hoffmann, M., & Grummt, I. (1999) *EMBO J.*, **18**, 1891–1899.
 - 16) Voit, R. & Grummt, I. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **98**, 13631–13636.
 - 17) Klein, J. & Grummt, I. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **96**, 46096–46101.
 - 18) Zhao, J., Yuan, Y., Frodin, M., & Grummt, I. (2003) *Mol. Cell*, **11**, 405–413.
 - 19) Stefanovsky, V.Y., Pelletier, G., Hannan, R., Gagnon-Kugler, T., Rothblum, L.I., & Moss, T. (2001) *Mol. Cell*, **8**, 1063–1073.
 - 20) Derenzini, M., Trerè, D., Pession, A., Montanaro, L., Sirri, V., & Ochs, R.L. (1998) *Am. J. Pathol.*, **152**, 1291–1297.
 - 21) Zhai, W. & Comai, L. (2000) *Mol. Cell Biol.*, **20**, 5930–5938.
 - 22) Pelletier, G., Stefanovsky, V.Y., Faubladièr, M., Hirschler-Laszkiewicz, I., Savard, J., Rothblum, L.I., Côté, J., & Moss, T. (2000) *Mol. Cell*, **6**, 1059–1066.
 - 23) Grewal, S.S., Li, L., Orian, A., Eisenman, R.N., & Edgar, B.A. (2005) *Nat. Cell Biol.*, **7**, 295–302.
 - 24) Bradsher, J., Auriol, J., Proietti de Santis, L., Iben, S., Vonesch, J.L., Grummt, I., & Egly, J.M.I. (2002) *Mol. Cell*, **10**, 819–829.
 - 25) Russell, J., Zomerdiijk, J.C. (2005) *Trends. Biochem. Sci.*, **30**, 87–96.
 - 26) Shaw, R.J., Kosmatka, M., Bardeesy, N., Hurley, R.L., Witters, L.A., DePinho, R.A., & Cantley, L.C. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101**, 3329–3335.
 - 27) Inoki, K., Zhu, T., & Guan, K.L., (2003) *Cell*, **115**, 577–590.
 - 28) Mekhail, K., Rivero-Lopez, L., Khacho, M., & Lee, S. (2006) *Cell Cycle*, **5**, 2401–2413.
 - 29) Ford, E., Voit, R., Liszt G., Magin, C., Grummt, I., & Guarante, L. (2006) *Genes Dev.*, **20**, 1075–1080.
 - 30) Murayama, A., Ohmori, K., Fujimura, A., Minami, H., Yasuzawa-Tanaka, K., Kuroda, T., Oie, S., Daitoku, H., Okuwaki, M., Nagata, K., Fukamizu, A., Kimura, K., Shimizu, T., & Yanagisawa, J. (2008) *Cell*, **133**, 627–639.
 - 31) Grummt, I. & Ladurmer, A.D. (2008) *Cell*, **133**, 577–580.
 - 32) Nemoto, S., Fergusson, M.M., & Finkel, T. (2004) *Science*, **306**, 2105–2108.
-