

的に再誘導すると、正常にリモデリングが行われるようになった。さらに、MyoglianinとBaboが生化学的にも、遺伝学的にも相互作用することが示された<sup>10,11)</sup>。以上の結果から、リモデリングのイニシエーションとなる、神経細胞におけるEcR-Bの発現誘導は、グリア細胞から分泌されるMyoglianinによって、細胞非自立的に制御されていることが明らかにされた<sup>10)</sup>。即ちこのことは、グリア細胞が、神経リモデリングにおいてインストラクティブな役割を果たしていることを示している(図2)。

### おわりに

以上のように、神経ネットワークのリモデリングにおいて、グリア細胞がイニシエーションを制御するとともに、不要となった神経軸索の貪食・除去を行うことが明らかにされた。このことは、グリア細胞は神経リモデリングの指揮と実行を担う存在であることを示唆する。不要となった神経回路を除去した後、どのようにして神経突起の再伸長とシナプスの再形成が制御されているのか、この点についてはまだ明らかにされていないが、この過程におけるグリア細胞の役割は大変興味深い問題である。

最近になり、グリア細胞が発生段階や外部環境に応答して細胞非自立的に神経幹細胞の分裂を制御していることが、ショウジョウバエを用いた解析から明らかにされた<sup>12,13)</sup>。神経ネットワークのリモデリングにおけるグリア細胞の役割とあわせて考えると、個体の発生に合わせた脳中枢神経系のグローバルな発生調節はグリア細胞を介在として行われていると推論できる。こうしたユニークなグリア細胞の働きは、完全変態昆虫における特有なものであるのか、それとも脊椎動物等の他の動物でも見られる普遍的なものであるのか、これについては今後の解析が待たれる。ショウジョウバエでの発見を手がかりに、新たな方向へと研究が発展・展開されていくことを期待したい。

- 1) Truman, J.W. (1990) *J. Neurobiol.*, **21** (7), 1072-1084.
- 2) Lee, T., et al. (1999) *Development*, **126** (18), 4065-4076.
- 3) Awasaki, T. & Ito, K. (2004) *Curr. Biol.*, **14** (8), 668-677.
- 4) Watts, R.J., et al. (2003) *Neuron*, **38** (6), 871-885.
- 5) Marin, E.C., et al. (2005) *Development*, **132** (4), 725-737.
- 6) Lee, T., et al. (2000) *Neuron*, **28** (3), 807-818.
- 7) Zheng, X., et al. (2003) *Cell*, **112** (3), 303-315.
- 8) Watts, R.J., et al. (2004) *Curr. Biol.*, **14** (8), 678-684.
- 9) Awasaki, T., et al. (2006) *Neuron*, **50** (6), 855-867.
- 10) Awasaki, T., et al. (2011) *Nat. Neurosci.*, **14** (7), 821-823.
- 11) Lee-Hoeflich, S.T., et al. (2005) *FEBS Lett.*, **579** (21), 4615-4621.
- 12) Speder, P., et al. (2011) *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **23** (6), 724-

729.

- 13) Cheng, L.Y., et al. (2011) *Cell*, **146** (3), 435-447.

栗崎 健

(ハワードヒューズ医学研究所

ジェネリアファーム リサーチキャンパス)

Glial orchestration and execution of neural circuit remodeling during *Drosophila* metamorphosis

Takeshi Awasaki (Janelia Farm Research Campus, Howard Hughes Medical Institute, 19700 Helix Dr, Ashburn, VA, 20147, USA)

## メディアーターのサブユニット Med26 による転写伸長制御

### 1. はじめに

タンパク質をコードするすべての遺伝子はRNAポリメラーゼII(以下Pol IIと呼ぶ)によってmRNAに転写され、さらに翻訳によってmRNAからタンパク質が合成される。Pol IIによる遺伝子の転写は、転写開始、転写伸長、そして転写終結の主に三つの過程からなる。転写開始までの過程では、転写因子が特定のDNA配列に結合すると、転写因子によってさまざまな因子がプロモーターにリクルートされ、それらの因子の働きによってプロモーター領域のクロマチンが解かれる。すると、Pol IIが基本転写因子群と共にプロモーターヘリクルートされることで、転写開始前複合体(PIC: Pre-initiation complex)が形成され、Pol IIによる転写が開始される(図1-①)。このように、転写開始までのプロセスにおいては、プロモーターにリクルートされるPol IIの量が決定されるため、このプロセスが遺伝子の発現量を制御する上で最も重要なプロセスと考えられてきた。ところが、近年の研究により、非常に多くの遺伝子の発現において、転写伸長のプロセスも遺伝子発現量を決定する上で重要な役割を果たしていることがわかってきた。

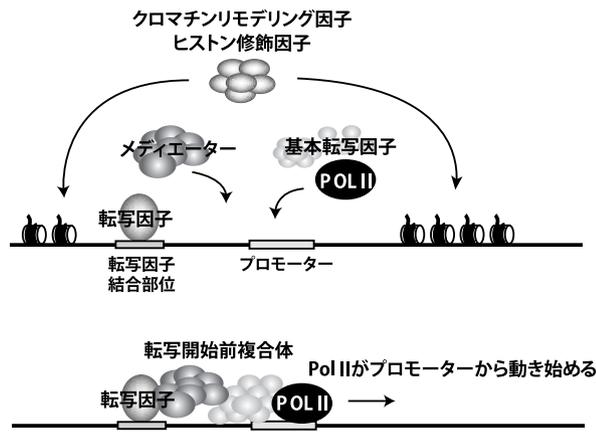
### 2. プロモーター近傍におけるPol IIの一時停止 (promoter-proximal pausing)

誤った塩基の取り込みや転写伸長を抑制する因子などのさまざまな要因によって、Pol IIは一時停止(Pausing: ポージング)する。Pol IIのポージング解除には、ELL/

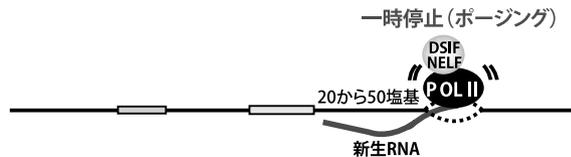
EAFやTFIIS, Elongin A, P-TEFb (CDK9/CycT)などの転写伸長因子の働きが必要である<sup>1)</sup>。また、Pol IIが転写開始した直後に転写開始点から20~50塩基下流の位置で一時停止する現象が知られており、これはPol IIのプロモーター近傍での一時停止 (promoter-proximal pausing) と呼ばれている (図1-②)。この現象は、当初、ヒートショック遺伝子 *Hsp 70* やがん原遺伝子 *MYC* や *FOS* において発見された。ところが、近年のゲノムワイドなChIP (Chromatin Immunoprecipitation) やRNA シークエンス解

析により、発生制御遺伝子や血清応答性遺伝子などを含む非常に多くのヒト遺伝子 (約30%と示唆されている) において、転写開始直後にPol IIがプロモーター近傍で一時停止していることがわかってきた<sup>2,3)</sup>。このことは、発現の迅速な調節が必要とされるような遺伝子においては、遺伝子の発現が転写開始までの過程をスキップして、転写伸長の過程で制御されている可能性を示唆している<sup>4)</sup>。プロモーター近傍のPol IIのポージングは、転写伸長を抑制する因子 (DSIFやNELF) がPol IIに結合することによって

### ① 転写開始までの過程



### ② Pol IIのプロモーター近傍での一時停止 (ポージング)



### ③ 転写伸長因子によるPol IIのポージング解除

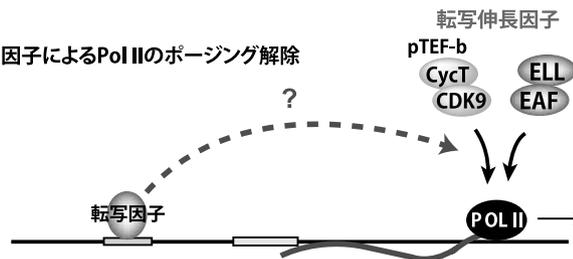


図1 Pol IIの転写開始後のプロモーター近傍における一時停止

①転写開始までの過程では、転写因子が特定の部位に結合すると、クロマチンリモデリング因子やヒストン修飾因子、メディエーターなどのコアクチベーターがプロモーターにリクルートされ、プロモーターのクロマチンが解かれる。すると、さらに基本転写因子群やPol IIがプロモーターへとリクルートされ、転写開始前複合体 (PIC: Pre-initiation complex) が形成され、Pol IIによる転写が開始される。

②Pol IIは転写開始直後に、転写伸長を抑制する因子などの作用により、プロモーター近傍で一時停止 (Pausing: ポージング) する。③Pol IIのポージングは転写伸長因子の働きによって解除される。

引き起こされ<sup>5)</sup>, Pol II が RNA の転写伸長を再開するためには, 転写伸長因子の働きが必要である<sup>1)</sup>. ところが, これらの転写伸長因子が, どのようにして時期特異的に特定の遺伝子のプロモーターやその近傍にリクルートされるのかについては, ほとんどわかっていなかった (図 1-③).

### 3. メディエーターについて

メディエーターは酵母からヒトまで良く保存された転写複合体で, 出芽酵母では約 20 個, 多細胞生物では約 30 個のサブユニットから構成される巨大複合体である. メディエーターは転写因子だけではなく, 基本転写因子や Pol II とも結合する機能を有し, 転写因子からの活性化シグナルを基本転写因子や Pol II に仲介する (Mediate) 役割を果たす因子として発見された. メディエーターは転写活性化時に転写因子によってプロモーターへリクルートされると, そこでさらに基本転写因子や Pol II とも結合し, それらをプロモーターへリクルートすることで, 転写開始までのプロセスにおいて非常に重要な役割を果たす. また, 出芽酵母と多細胞生物に共通のメディエーターのサブユニットは, 基本転写因子や Pol II との結合などメディエーターの基本的な機能において必須の役割を果たしている. 一方で, 多細胞生物にのみ存在するサブユニットは, 多細胞生物に特有のホルモン応答や発生制御などに関連した遺伝子の発現において, 重要な役割を担っていると考えられる<sup>6)</sup>.

### 4. Med26 の N 末端ドメインに転写伸長因子複合体 SEC と TFIID が結合する

興味深いことに, 多細胞生物に特有のサブユニット Med26 は, その N 末端ドメイン (以下 NTD) において, 転写伸長因子の TFIIS や Elongin A と相同性を有していた (図 2-A). さらに, Med26 を含むメディエーターのフォームは, 細胞内で多くの Pol II と結合し, 転写の活性化に重要な役割を果たしていることがわかってきたが, Med26 がどのようにして活性化に寄与するのかに関しては, ほとんどわかっていなかった<sup>7)</sup>. これらのことから, Med26 が Pol II の転写伸長の過程でも何らかの役割を果たしていることが予想された (図 2-B). そこで, われわれは質量分析計を用いて, Med26 に結合するタンパク質群の探索を行った. すると, Med26 の NTD に転写伸長因子を含む複合体 Super elongation complex (以下 SEC) と基本転写因子の一つ TFIID が結合することがわかった (図 2-C)<sup>8)</sup>. SEC はわれわれを含む複数のグループによって発見された複合体で, 転写伸長因子の ELL/EAF, p-TEFb に加

え, MLL 融合パートナー因子と呼ばれる AF4, AFF4, AF9 や ENL をサブユニットとして有す<sup>9)</sup>. 興味深いことに, SEC のサブユニットの AF4, ENL, AF9, AFF4 や ELL の遺伝子は MLL (Mixed Lineage Leukemia) 遺伝子と混合型急性白血病において染色体転座がみられる (図 2-D)<sup>10)</sup>. 最近の研究で, 転座の結果生じた MLL 融合タンパク質によって SEC が *Hox* 遺伝子座に異常にリクルートされ, その遺伝子の発現を亢進させることが混合型急性白血病的発症メカニズムの一つであることがわかった<sup>11)</sup>.

### 5. Med26 は *c-Myc* や *Hsp 70* 遺伝子領域に SEC をリクルートする

Med26 の細胞内での機能を明らかにするため, HEK293T 細胞や ES 細胞を用いて Med26 をノックダウンしたところ, それらの細胞の増殖が抑制された. これらの結果から, Med26 は細胞の増殖に関連した遺伝子の発現を制御している可能性が考えられた. そこで, Med26 の標的遺伝子を明らかにするため, マイクロアレイによる解析を行った. すると, Med26 はがん原遺伝子 *c-Myc* や *c-Jun* に加え, ヒートショック遺伝子 *Hsp 70*, がん転移に関連する *Snail 2* などの発現に必要であることがわかった. *c-Myc* や *Hsp 70* 遺伝子では, Pol II がプロモーター近傍でポーズしていることがよく知られており, これらの遺伝子のプロモーターに Med26 が SEC をリクルートすることで, Pol II の転写伸長を促進している可能性が考えられた. Med26 をノックダウンすると, *c-Myc* 遺伝子や *Hsp 70* 遺伝子 (熱ショック時の) のプロモーターとその下流の転写領域における AFF4 や CDK9 (SEC サブユニット) の存在率が減少した. このことから, Med26 が SEC をこれらの遺伝子のプロモーターへリクルートするのに必要であることがわかった<sup>8)</sup>.

### 6. Med26 は TFIID との結合を切り替え, SEC をリクルートする

われわれは Med26 が, その NTD によって SEC をプロモーターへリクルートすることを明らかにするため, SEC のサブユニットの EAF (Med26 の NTD に直接結合する) を用いて *in vitro* 再構成系による実験を行った. すると, メディエーターは Med26 の NTD に依存して EAF をプロモーターへリクルートした. さらに, 生化学的解析を行ったところ, 興味深いことに, EAF と TFIID は Med26 の NTD の同様の領域に結合しており, EAF のメディエーターによるプロモーターへのリクルートが TFIID の存在

下に阻害されることが判明した<sup>8)</sup>。これらの結果から、Med26のNTDはPol IIが転写開始直後にポージングしている時にはTFIIDと結合しており、何らかのメカニズムによってTFIIDとの結合が外れるとSECがリクルートされ、Pol IIが転写伸長過程へと移行する可能性が考えられ

た(図3)。

## 7. おわりに

近年、メディエーターの他のサブユニットMed23やMed12の遺伝子の変異が、ヒトの知能障害や子宮筋腫の

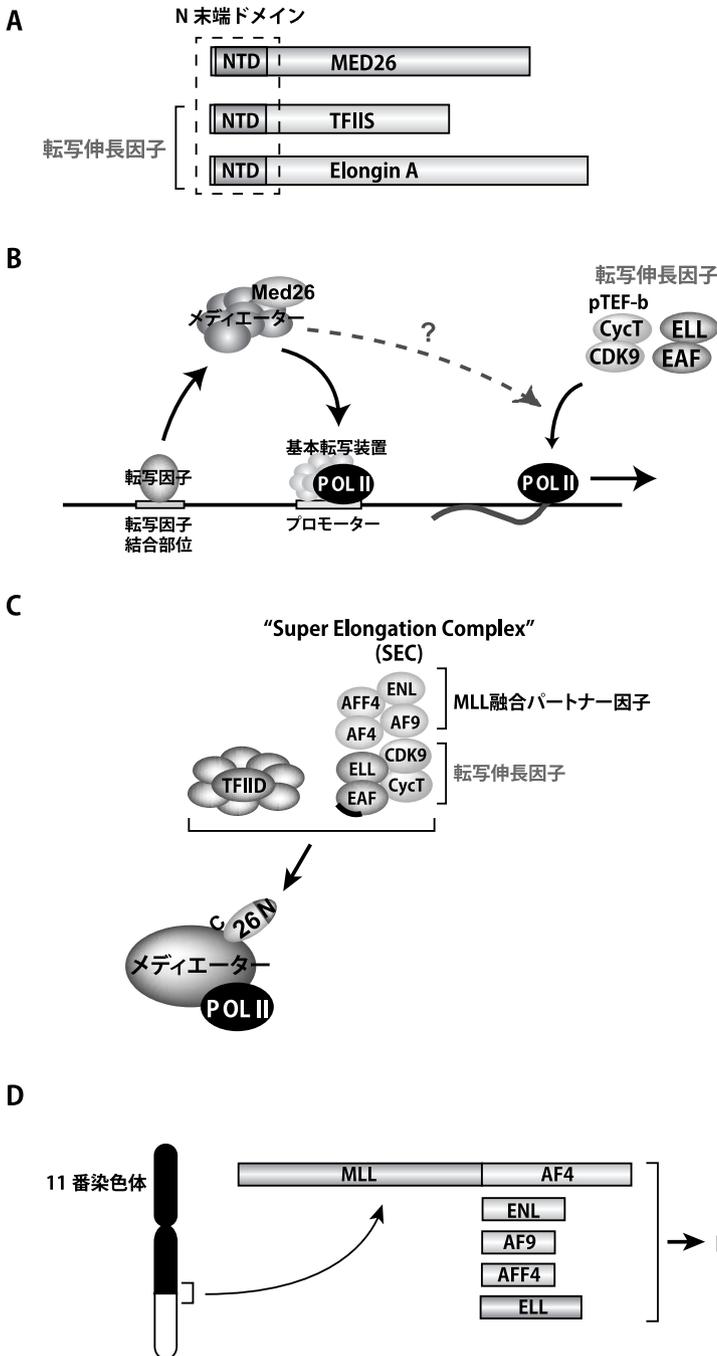


図2 メディエーターの転写伸長制御との関わり

A: Med26のN末端ドメイン(以下NTD)は、転写伸長因子のTFIIISやElongin AのNTDと相同性がある。

B: メディエーターは転写因子のシグナルを下流の基本転写因子やPol IIに伝達し、転写因子と基本転写装置との間を“仲介する”役割を果たすが、転写伸長因子との関わりについては明らかとなっていない。

C: Med26のN末端領域(NTD)には転写伸長因子複合体SECと基本転写因子の一つTFIIDが結合する。その際、EAFがMed26のNTDに直接結合し、SECのアダプターとしての役割を果たす。Med26のC末端領域はメディエーターとの直接結合、そしてPol IIとの間接的な結合に必要である。

D: 混合型急性白血病において、MLL遺伝子を含む11番染色体長腕が転座すると、MLLタンパク質のN末端部分を融合したさまざまなMLL融合タンパク質が発現される。MLLと融合するパートナー因子としては40種類以上が報告されているが、MLL融合パートナーでSECのサブユニットでもあるAF4(4番染色体に存在)、ENL(19番染色体に存在)、AF9(9番染色体に存在)、AFF4(5番染色体に存在)やELL(19番染色体に存在)は白血病を助長させることが知られている。

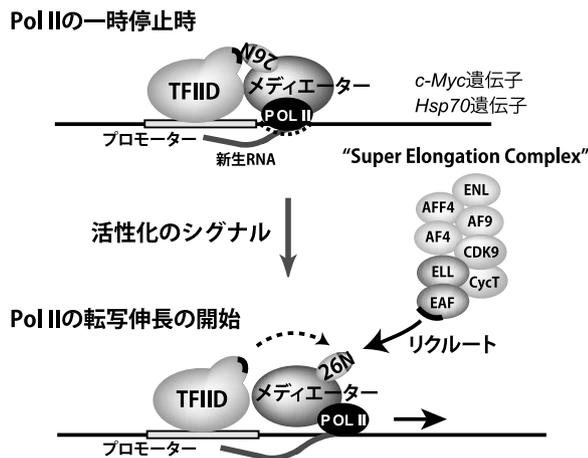


図3 Med26のNTDによるPol IIの転写伸長制御のモデル

Pol IIの転写伸長開始前,あるいはPol IIの一時停止時に,Med26のNTDはTFIIDと結合している.何らかの活性化のシグナルによってTFIIDとの結合が外れると,SECがMed26のNTDによって,プロモーター(またはその近傍)にリクルートされる.リクルートされたSECはPol IIの転写伸長を促進すると考えられる.

原因となっていることが報告され,メディエーターのヒト疾患への関わりが注目されつつある<sup>12,13)</sup>.われわれのこれまでの研究から,Med26はSECをプロモーターへリクルートすることで,がんや白血病などの腫瘍性疾患の発症において重要な役割を演じている可能性が考えられ,今後の研究が期待される.

## 謝辞

この研究は主に米国カンザス州,ストワーズ医学研究所(Stowers Institute for Medical Research)のConaway研究室において,Joan W. Conaway先生,Ronald C. Conaway先生の温かいご指導のもとに行われました.心より感謝致します.

高橋 秀尚

(北海道大学大学院医学研究科  
医学専攻生化学講座医化学分野)

- Core, L.J., Waterfall, J.J., & Lis, J.T. (2008) *Science*, 322, 1845–1848.
- Nechaev, S., Fargo, D.C., dos Santos, G., Liu, L., Gao, Y., & Adelman, K. (2010) *Science*, 327, 335–338.
- Gilchrist, D.A., Dos Santos, G., Fargo, D.C., Xie, B., Gao, Y., Li, L., & Adelman, K. (2010) *Cell*, 143, 540–551.
- Yamaguchi, Y., Takagi, T., Wada, T., Yano, K., Furuya, A., Sugimoto, S., Hasegawa, J., & Handa, H. (1999) *Cell*, 97, 41–51.
- Malik, S. & Roeder, R.G. (2010) *Nat. Rev. Genet.*, 11, 761–772.
- Sato, S., Tomomori-Sato, C., Parmely, T.J., Florens, L., Zybailov, B., Swanson, S.K., Banks, C.A., Jin, J., Cai, Y., Washburn, M.P., Conaway, J.W., & Conaway, R.C. (2004) *Mol. Cell*, 14, 685–691.
- Takahashi, H., Parmely, T.J., Sato, S., Tomomori-Sato, C., Banks, C.A., Kong, S.E., Szutorisz, H., Swanson, S.K., Martin-Brown, S., Washburn, M.P., Florens, L., Seidel, C.W., Lin, C., Smith, E.R., Shilatifard, A., Conaway, R.C., & Conaway, J.W. (2011) *Cell*, 146, 92–104.
- Lin, C., Smith, E.R., Takahashi, H., Lai, K.C., Martin-Brown, S., Florens, L., Washburn, M.P., Conaway, J.W., Conaway, R.C., & Shilatifard, A. (2010) *Mol. Cell*, 37, 429–437.
- Krivtsov, A.V. & Armstrong, S.A. (2007) *Nat. Rev. Cancer*, 11, 823–833.
- Yokoyama, A., Lin, M., Naresh, A., Kitabayashi, I., & Cleary, M.L. (2010) *Cancer Cell*, 17, 198–212.
- Hashimoto, S., Boissel, S., Zarhrate, M., Rio, M., Munnich, A., Egly, J.M., & Colleaux, L. (2011) *Science*, 333, 1161–1163.
- Mäkinen, N., Mehine, M., Tolvanen, J., Kaasinen, E., Li, Y., Lehtonen, H.J., Gentile, M., Yan, J., Enge, M., Taipale, M., Aavikko, M., Katainen, R., Virolainen, E., Böhling, T., Koski, T.A., Launonen, V., Sjöberg, J., Taipale, J., Vahteristo, P., & Aaltonen, L.A. (2011) *Science*, 334, 252–255.

Role for the human Mediator subunit Med26 in transcription elongation

Hidehisa Takahashi (Department of Biochemistry, Hokkaido University Graduate School of Medicine, N15, W7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060–8638, Japan)

- Saunders, A., Core, L.J., & Lis, J.T. (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 7, 557–567.