

みにれびゅう

## エピゲノムと転写の共役制御を担う S-アデノシルメチオニン合成酵素 MATH

加藤 恭丈<sup>1</sup>, 解良 洋平<sup>2</sup>

### 1. はじめに

近年、遺伝子の発現制御に関連する代謝酵素が、細胞核内で機能することが明らかにされつつある<sup>1)</sup>。その中でも、S-アデノシルメチオニン合成酵素 (methionine adenosyltransferase: MAT) は、エピゲノム制御の根幹を担う、DNA およびヒストンのメチル化反応に関与する。この反応には、S-アデノシルメチオニン (SAM) がメチル基供与体となる。そのSAMは、メチオニンとATPを基質として、MATにより生合成される<sup>2)</sup>。本稿では、細胞核内のSAM供給に注目しつつ、MATのアイソザイムMATH $\alpha$ が、転写因子やヒストンメチル基転移酵素とモジュールを形成することや、このモジュールによるSAM供給の可能性を中心に、細胞核内のMATHによるSAM合成とエピゲノム制御の連携について、最近の研究動向に沿って概説する。

### 2. S-アデノシルメチオニン合成酵素 MATH

哺乳類では3種のMATアイソザイムが知られている。このうち、MATIおよびMATH $\alpha$ は同一の遺伝子にコードされ、細胞内の酸化還元状態に応じて、多量体の状態が異なる<sup>3)</sup>。MATIはホモ四量体、MATH $\alpha$ はホモ二量体である。MATH $\alpha$ は触媒サブユニット $\alpha$ と、調節サブユニット $\beta$ から構成される。そしてMATH $\beta$ は、MATH $\alpha$ の基質であるメチオニンに対する $K_m$ を減少させ酵素活性を上げること、逆にSAMによるプロダクト阻害を亢進させることが知られている<sup>4)</sup>。また、MATH $\beta$ には、2種類のスプライ

<sup>1</sup>東北大学東北メディカル・メガバンク機構ゲノム解析部門生物化学分野 (〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町2-1)

<sup>2</sup>東北大学大学院歯学研究科顎口腔矯正学分野

#### Coupling of epigenome and gene regulation on chromatin by methionine adenosyltransferase II

Yasutake Katoh<sup>1</sup> and Yohei Kera<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Integrative Genomics, Tohoku Medical Megabank Organization (ToMMO), Tohoku University, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan; <sup>2</sup>Department of Orthopedics and Dentofacial Orthopedics, Graduate School of Dentistry, Tohoku University)

スバリアント (V1 および V2) があるが、この違いは、MATH $\alpha$ の酵素活性調節には影響しない<sup>5)</sup>。MATIおよびMATH $\alpha$ は比較的肝臓に限局していると報告されているが、ESTプロファイルなどからすると、血球、心筋、消化管などにも発現している。MATH $\alpha$ および $\beta$ は、MATIなどと比較して、より広範な組織・細胞で発現する。

### 3. MATHによる転写調節とエピゲノム制御

#### 1) 転写因子 MafK のコファクターとしての MATH

転写因子 MafK は、がんタンパク質 Maf (musculoaponeurotic fibrosarcoma) ファミリーに属しており、標的遺伝子の転写を活性化したり抑制したりする。MafKの標的遺伝子には、ヘムオキシゲナーゼ1 (HO-1) やフェリチンなどの酸化ストレス応答遺伝子があり、MafK-Bach1のヘテロ二量体が、Maf結合配列 (Maf recognition element: MARE) に結合して、これら遺伝子の転写を抑制する<sup>6,7)</sup>。MafKおよびBach1の複合体をそれぞれ精製することで、MATH $\alpha$ がMafK-Bach1ヘテロ二量体と結合することが見いだされた<sup>8)</sup>。また、共焦点免疫蛍光顕微鏡によりMATH $\alpha$ の細胞内分布を観察すると、MATH $\alpha$ は細胞質よりも核に優位に局在していた<sup>8)</sup>。細胞内のMATH $\alpha$ の発現量を減弱させると [MATH $\alpha$ ノックダウン (KD)] HO-1の発現が増加することや、MATH $\alpha$ がHO-1遺伝子の二つのエンハンサーとプロモーターに動員されることから、MATH $\alpha$ はMafK-Bach1による転写抑制のコファクターと考えられた<sup>8)</sup>。HO-1遺伝子のエンハンサーでは、転写調節に関わる可能性のあるヒストンH3の4番目と9番目リシンのジメチル化 (H3K4me2とH3K9me2) が生じているが、いずれもMATH $\alpha$ KDにより減弱する<sup>8)</sup>。これらのことから、MATH $\alpha$ はMafK-Bach1により標的遺伝子に動員され、周辺のヒストンメチル化を促進し転写を抑制することが考えられる。MATH $\alpha$ は、NuRDやSwi/Snf, CHRAC, Sin3, PARP複合体などのクロマチンリモデリング因子やポリコム複合体の一部、DNA修復や複製関連因子を含む127種類のタンパク質と、相互作用ネットワークを形成するので、クロマチン構造の変換や維持機構に関与することも考えられる<sup>8)</sup>。

## 2) MATII 標的遺伝子の探索

細胞核内の MATII が、さまざまな転写因子やクロマチンリモデリング因子とタンパク質間相互作用ネットワークを形成することから、我々は、不死化したマウス胚性線維芽細胞 (immortalized mouse embryonic fibroblast: iMEF) を用いて、MATII の標的遺伝子の網羅的な同定を行った。DNA マイクロアレイ解析の結果、コントロールと比較して、MATII $\alpha$ KD の iMEF において、発現レベルが2倍以上変動した遺伝子プロブは、1,597 種あり、増加したものが776 種、減少したものが821 種であった<sup>9)</sup>。これらの変動遺伝子の遺伝子オントロジー (GO) を解析してみると、MATII は多様な細胞機能の調節に関係することが示唆された。たとえばアラキドン酸カスケードに属する *COX-2* 遺伝子やプロスタグランジン E2 合成酵素遺伝子 (*Ptges*),

p53 の標的遺伝子 *Noxa* や *Fas*, *Igfbp3*, *Gadd45b* 遺伝子などの mRNA 発現量が増加していた (図 1A)。特に *COX-2* mRNA は、MATII $\alpha$ KD の iMEF だけでなく、マウス肝がん (Hepal) 細胞やヒト単球性白血病 (THP-1) 細胞でも MATII $\alpha$ KD で mRNA が増加した<sup>9)</sup>。

## 3) *COX-2* 遺伝子制御領域への MATII の動員とエピゲノム制御

我々は、*COX-2* 遺伝子の転写抑制化には、*HO-1* 遺伝子と同様に、その転写制御領域に転写因子 MafK や MATII が動員されることを予測した。*COX-2* 遺伝子の転写制御領域を概観してみると、プロモーターから 1.6 kbp 上流に、MARE が存在しており、MATII $\alpha$  および  $\beta$  がこの MARE とプロモーターに動員された (図 1B, C)<sup>9)</sup>。また、

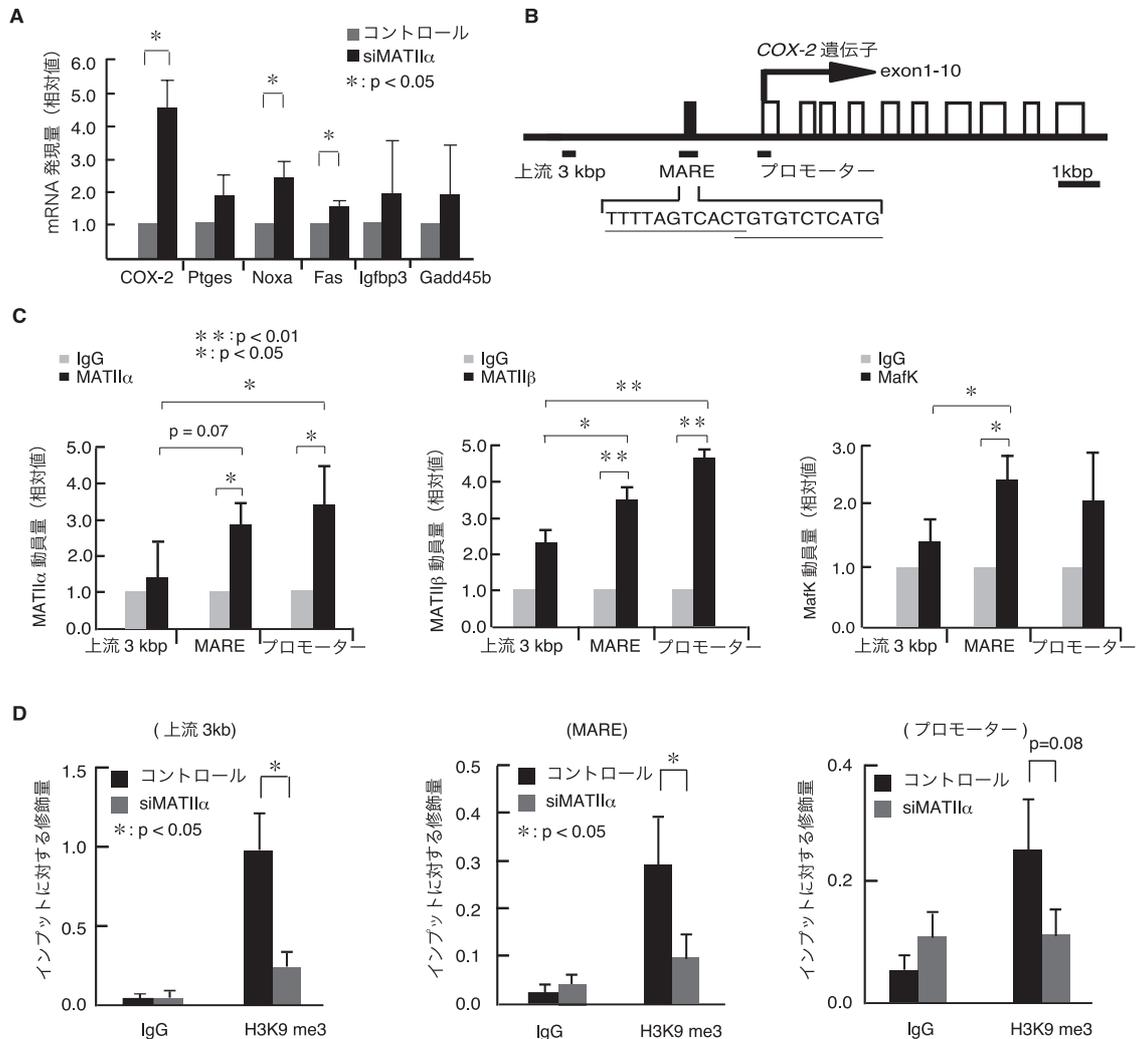


図 1 *COX-2* 遺伝子制御領域への MATII と MafK の動員, ヒストン H3K9 のメチル化 (A) MATII $\alpha$ KD (siMATII $\alpha$ ) の iMEF による、標的遺伝子の発現変動。 (B) *COX-2* 遺伝子の構造。 (C) iMEF のクロマチン免疫沈降実験による、*COX-2* 遺伝子制御領域への MATII $\alpha$  と  $\beta$ , MafK の動員。 (D) MATII $\alpha$ KD による、*COX-2* 遺伝子制御領域のヒストン H3K9 のトリメチル化 (H3K9me3) の変化。

MafK もこの MARE に動員されることが明らかになった (図 1C)<sup>9)</sup>. すなわち, MATII と MafK はいずれも *COX-2* 遺伝子の MARE に動員される<sup>9)</sup>.

このことから, MATII が *COX-2* 遺伝子の制御領域に動員されることで, ヒストンのメチル化に影響を与える可能性が示唆された. そこで, この可能性を検証するために, 転写抑制に関わる可能性のあるヒストン H3 の 9 番目リシンのトリメチル化 (H3K9me3) に注目して検討したところ, このメチル化が *COX-2* 遺伝子のプロモーターや MARE において検出され, MATII $\alpha$ KD によって減弱することが明らかになった (図 1D)<sup>9)</sup>. このことから, MATII がエンハンサーやプロモーター領域の H3K9me3 の書き込みや維持に関わる可能性が示唆された. では, MATII は遺伝子上でヒストン H3K9 トリメチル化酵素と共役するのだろうか. 我々は, 代表的なヒストン H3K9 トリメチル化酵素と MATII $\alpha$  とのタンパク質間相互作用の解析を行い, SETDB1 と Suv39h1 が MATII と相互作用することを見いだした (図 2A)<sup>9)</sup>. さらに, SETDB1 は *COX-2* 遺伝子の MARE に動員され, 同遺伝子の抑制に関わることも見いだした (図 2B, C)<sup>9)</sup>.

#### 4. 細胞核内 MATII のモジュール形成

MATII $\alpha$  と  $\beta$  は核内においてさまざまなクロマチン因子やメチル化酵素, メディエーターと相互作用することで, 遺伝子発現やクロマチン構造の調節<sup>10)</sup>に関わると考えられる. そこで我々は, MATII $\alpha$  と  $\beta$  のヘテロオリゴマーを SAMIT (SAM-integrating transcription) 調節モジュールと呼ぶことを提唱している (図 3)<sup>8)</sup>. *COX-2* 遺伝子の場合, SAMIT モジュールにさらにヒストンメチル基転移酵素 SETDB1 が結合し, これが MafK により *COX-2* 遺伝子制御領域に動員され, ヒストン H3K9 のトリメチル化が亢進

し, 同遺伝子の転写が抑制される (図 3). 発現プロファイリングの実験結果からすると, *HO-1* 遺伝子や *COX-2* 遺伝子以外にも, さまざまな遺伝子が SAMIT モジュールに依存していることが予想される.

しかしながら, 今後さらなる解析を必要とする課題もみえてきた. 第一に, このモデルでは遺伝子領域特異的に SAMIT モジュールとヒストンメチル化酵素が動員されることを想定しているが, MATII が核内に分布すること自体で核内 SAM 濃度が維持され, ゲノム全体におけるエピゲノム制御が可能となっている可能性もある. この場合, MATII はヒストンメチル基転移酵素との相互作用や, クロマチン局所への結合に関係なく, SAM を供給していると考えられる. SETDB1 は細胞周期 S 期において, クロマチンに取り込まれていない遊離ヒストン H3K9 をトリメチル化する<sup>11)</sup>が, このような反応にも MATII の核内への分布が関連するのかもしれない. このように, MATII の核内分布に依存した機能と, クロマチン局所動員に依存した機能を区別して理解していく必要がある. 第二に, MATII の核内機能が必ずしも標的遺伝子の転写抑制化だけとは限らない点がある. iMEF による DNA マイクロアレイ解析から, MATII $\alpha$ KD によって発現が低下する遺伝子も多く見いだされている<sup>9)</sup>. この点は, MATII が転写活性化因子とも相互作用することとも矛盾しない<sup>8)</sup>. また, SETDB1 が転写抑制のみならず活性化にも関わることを報告されている<sup>12)</sup>. MATII の転写活性化における機能も今後の重要な課題である.

#### 5. おわりに

SAM は, 未知の酵素による反応物として 1953 年に発見された<sup>13)</sup>. その後, その酵素は, *S*-アデノシルメチオニン合成酵素として, 3 種類のアイソザイムが同定され<sup>14, 15)</sup>,

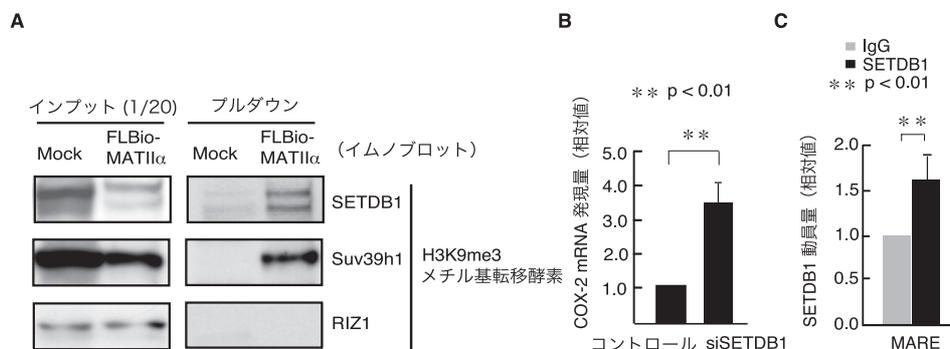


図 2 MATII $\alpha$  と SETDB1 との相互作用, *COX-2* 遺伝子の転写抑制化

(A) FLAG とビオチン化配列を融合させた MATII $\alpha$  (FLBio-MATII $\alpha$ ) の安定発現 iMEF の, 核抽出物による, ビオチン-アビジンのプルダウン実験. MATII $\alpha$  は, SETDB1 ならびに Suv39h1 と相互作用した. (B) SETDB1 KD (siSETDB1) の iMEF による, *COX-2* 遺伝子の発現変動. (C) クロマチン免疫沈降実験による, *COX-2* 遺伝子の MARE への SETDB1 の動員.

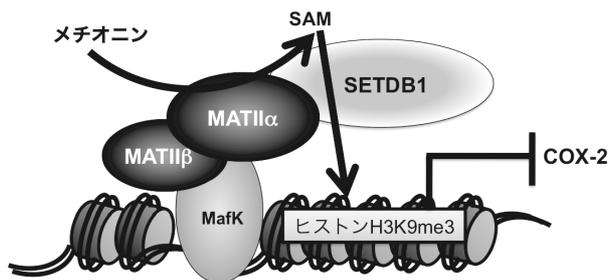


図3 SAMIT複合体による、*COX-2* 遺伝子の転写抑制化とエピゲノム制御の共役機構

本稿で述べたように、細胞核内のMATIIによるSAM合成とエピゲノム制御、転写調節までの分子メカニズムが提唱されるまでに至っている。最近の研究から、トレオニンとSAMの代謝が、ゲノム全体のヒストンメチル化に影響して、多能性幹細胞の維持に必要であることが報告されている<sup>16)</sup>。今後、細胞核内SAMの計測、およびSAMIT複合体の形成過程や機能を探り、個体発生や細胞分化に関わるエピゲノム制御機構を解き明かしたい。

- 1) Kaelin, W.G. Jr. & McKnight, S.L. (2013) *Cell*, 153, 56–69.
- 2) Lu, S.C. & Mato, J.M. (2008) *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 23 (Suppl 1), S73–S77.
- 3) Kotb, M., Mudd, S.H., Mato, J.M., Geller, A.M., Kredich, N. M., Chou, J.Y., & Cantoni, G.L. (1997) *Trends Genet.*, 13, 51–52.
- 4) Halim, A.B., LeGros, L., Geller, A., & Kotb, M. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 29720–29725.

- 5) Nordgren, K.K., Peng, Y., Pelley, L.L., Moon, I., Abo, R., Feng, Q., Eckloff, B., Yee, V.C., Wieben, E., & Weinshilboum, R.M. (2011) *Drug Metab. Dispos.*, 29, 2135–2147.
- 6) Igarashi, K. & Sun, J. (2006) *Antioxid Redox Signal.*, 8, 107–118.
- 7) Motohashi, H. & Yamamoto, M. (2007) *Cancer Sci.*, 98, 135–139.
- 8) Katoh, Y., Ikura, T., Hoshikawa, Y., Tashiro, S., Ito, T., Ohta, M., Kera, Y., Noda, T., & Igarashi, K. (2011) *Mol. Cell*, 41, 554–566.
- 9) Kera, Y., Katoh, Y., Ohta, M., Matsumoto, M., Takano-Yamamoto, T., & Igarashi, K. (2013) *J. Biol. Chem.*, 288, 13592–13601.
- 10) Kagey, M.H., Newman, J.J., Bilodeau, S., Zhan, Y., Orlando, D.A., van Berkum, N.L., Ebmeier, C.C., Goossens, J., Rahl, P. B., Levine, S.S., Taatjes, D.J., Dekker, J., & Young, R.A. (2010) *Nature*, 467, 430–435.
- 11) Loyola, A., Tagami, H., Bonaldi, T., Roche, D., Quivy, J.P., Imhof, A., Nakatani, Y., Dent, S.Y., & Almouzni, G. (2009) *EMBO Rep.*, 10, 769–775.
- 12) Ram, O., Goren, A., Amit, I., Shores, N., Yosef, N., Ernst, J., Kellis, M., Gymrek, M., Issner, R., Coyne, M., Durham, T., Zhang, X., Donaghey, J., Epstein, C.B., Regev, A., & Bernstein, B.E. (2011) *Cell*, 147, 1628–1639.
- 13) Cantoni, G.L. (1975) *Annu. Rev. Biochem.*, 44, 435–451.
- 14) Suma, Y., Yamanaka, Y., & Tsukada, K. (1983) *Biochim. Biophys. Acta*, 755, 287–292.
- 15) Pajares, M.A. & Markham, G.D. (2011) *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 78, 449–521.
- 16) Shyh-Chang, N., Locasale, J.W., Lyssiotis, C.A., Zheng, Y., Teo, R.Y., Ratanasirintrao, S., Zhang, J., Onder, T., Untermaier, J.J., Zhu, H., Asara, J.M., Daley, G.Q., & Cantley, L. C. (2013) *Science*, 339, 222–226.

## 著者寸描

### ●加藤恭丈 (かとう やすたけ)



東北大学講師 (東北メディカル・メガバンク機構ゲノム解析部門生物化学分野)。博士 (医学)。

■略歴 1971年三重県津市に生る。96年東邦大学理学部生物分子科学科卒業。98年筑波大学大学院医科学研究科修士課程修了。2001年同大学院医学研究科博士課程修了 (山本雅之教授)。

02年科学技術振興機構ERATO技術参事。04年広島大学原爆放射線医科学研究所博士研究員。05年東北大学大学院医学系研究科生物化学分野助教。12年より現職。

■研究テーマと抱負 生命現象を化学的な視点から俯瞰したいと思っています。その観点から、SAM合成酵素MATIIに注目して、転写とエピゲノムの制御ネットワークの分子機構を解明したいと思います。

■趣味 バレーボール、ボディコンパット、カラオケ、ドライブ。

### ●解良洋平 (けら ようへい)



東北大学助教 (大学院歯学研究科顎口腔矯正学分野)。博士 (歯学)。

■略歴 1981年東京都に生る。2007年東北大学歯学部卒業。12年同大学院歯学研究科博士課程修了。13年より現職。

■研究テーマと抱負 現在は、骨芽細胞による骨形成の分子メカニズムを明らかにする事を目標としています。

■趣味 読書、剣道。