

# オーファン受容体レギュロンによる代謝制御

諸橋 憲一郎, 馬場 崇

核内受容体ファミリーの中でもいわゆるオーファン受容体に分類される *Ad4BP/SF-1*, *LRH-1*, *GCNF*, *ERR $\alpha$* , *ERR $\beta$* , *ERR $\gamma$* は進化的に近縁で、ほぼ同じ塩基配列への結合を通じ、遺伝子発現を調節する。結合配列を共有することは、これらのオーファン受容体の間で標的遺伝子を共有する可能性を示唆する。確かに、いくつかの遺伝子がこれらの受容体の共通の標的遺伝子となっていることが示されていたが、それらは断片的で、これらオーファン受容体の機能の特徴づけるものではなかった。したがって、これらのオーファン受容体はそれぞれに特異的な機能を有する受容体として解析されてきた。しかしながら、最近のビッグデータを活用した研究から、一見多様と思われたこれらのオーファン受容体の機能の根底にはエネルギー代謝への関与が指摘されている。エネルギー代謝のようなハウスキーピングプロセスに関わることで、細胞特異的な機能を滞りなく発揮することを可能にしているのかもしれない。

## 1. はじめに

学生のころだからもう随分前のことになるが、分子遺伝学の講義でオペロン仮説について聞いたことがあった。ある代謝系に必要な複数の遺伝子が1本の mRNA として転写されるというもので、ラクトースオペロンは有名な例である。なるほど、複数の遺伝子すべてがある代謝系を動かすために不可欠であれば、すべての遺伝子が同調して転写されることは目的にならなっており、しかも経済的である。このような理屈が通った、しかもシステムティックな制御系の話は当時の学生には魅力的に映った。ただし、これは原核生物の話であった。当時はまだやっと cDNA クローニングが可能になろうとするところであり、真核生物の遺伝子がどのような姿をしているのか、その実体は不明だったのである。

実はあまり知られていないが、オペロンとほぼ同時期にレギュロンという制御も登場している<sup>1)</sup>。これについては(いつも起きていたわけではないが)講義で聴いた記憶がないし、(真面目に読んだのかと問われれば自信はないが)教科書にも記載されていない。どのような制御系かというところ、ある代謝系に必要な複数の遺伝子が、ある転写因子に

よって一斉に制御を受けるというものである。オペロンと同様の結果をもたらす制御システムであるが、衝撃度の点からはオペロンが勝っている。しかし、今にして思えばレギュロンによる制御とは真核生物にみられる遺伝子発現制御なのである。ただ、当時は遺伝子制御システムを真核生物で議論する術もなく、またその美しさゆえにオペロンが生き残り、レギュロンという概念は埋もれていった。

## 2. 核内受容体・オーファン受容体の登場

ステロイドホルモンの生理作用の発見は1849年で、今から160年以上も前のことであった。ニワトリ精巣やその抽出液を雌鳥に移植・投与するという実験が行われた<sup>2)</sup>。現代風にいえばドーピングの実験である。アスリートが筋肉増強を目的にアナボリックステロイドを使用することがある。これは男性ホルモン作用を有するステロイド様物質であり、以前は規制対象外となっていたが、現在では多くのスポーツでその使用が禁止されている。もちろん、ニワトリ精巣の移植実験が行われたのは160年も前のことなので、性ホルモンの存在は知られていなかったころである。それでも、この実験によって精巣中には雄化を促す物質が存在すると結論されたのであった。その後その物質、つまりテストステロンの構造が明らかとなるが、それは1920年代以降のことであり、実に80年近い年月が経過していた。この時期の有機化学の進展は目覚ましく、テストステロン以外のステロイドホルモンも次々に同定され、同時に合成されていった。そして、これらの合成物を動物に投与することで、ステロイドホルモンの生理活性が確定されていったのであった。

九州大学大学院医学研究院分子生命系部門 (〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1)

**Regulation of metabolism by orphan receptor regulone**  
**Ken-ichirou Morohashi and Takashi Baba** (Department of Molecular Biology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka, Fukuoka 812-8582, Japan)

このようにしてステロイドホルモンの構造と生理作用が明らかになってきたが、その作用メカニズムが明らかになるまでには、さらに50年の年月が必要であった。そしてここに貢献したのが生化学であり、分子生物学であったのはいままでの間もない。特に、核内受容体の発見は革新的な成果であったといっても過言ではない。ステロイドホルモンはその生理作用から5種類に分けられる。男性ホルモン、女性ホルモン、糖質コルチコイド、電解質コルチコイド、黄体ホルモンである。これらの生理作用をここで述べることは差し控えるが、それぞれに重要な役割を担っている。これらのステロイドホルモンはすべてコレステロールを出発物質として合成されるため、コレステロールが持つ四つの環状構造(ステロイド骨格)を共有する。一方、このステロイド骨格を修飾する水酸基、ケトン基、メチル基、芳香環などの有無や位置の差が構造の違いを生み出す。そして、このようにわずかな構造の違いが機能の差異をもたらすためには、それぞれのステロイドホルモンを正確に認識するタンパク質(受容体)が存在するはずであると、多くの研究者が推測したのであった。また、これらのホルモンは精巣、卵巣、副腎皮質、胎盤などで作られ、血流を通じ全身に行きわたる。しかしながら、その効果がすべての細胞に認められるとは限らない。このことも受容体の発現に組織特異性、細胞特異性があれば説明がつくのである。そこで、次のターゲットが受容体の同定となったのは当然のなり行きであった。

1980年代になりエストロゲン受容体<sup>3)</sup>、プロゲステロン受容体<sup>3,4)</sup>がクローニングされると、その後続々と核内受容体がクローニングされた。その中にビタミンD<sup>3)</sup>、甲状腺ホルモン<sup>6)</sup>、レチノイン酸<sup>7)</sup>をリガンドとする受容体も含まれていたことは興味深いことであった。これらの生理活性物質が生体の機能の確立・維持に重要な役割を果たすことは知られていたが、一連の成果はその本体が核内受容体であることを明らかにしたのであった。さて、このように種々の生理活性物質に対する核内受容体が同定され、そのアミノ酸配列が明らかになるに至り、これらの受容体が一つの遺伝子ファミリーを形成することがわかってきた。現在、ヒトでは48種の、そしてマウスでは49種の核内受容体遺伝子が同定されている。その構造上の特徴として、核内受容体ファミリーに保存された機能ドメインが存在する。DNA結合ドメインや基質結合ドメインがそれである。特に、DNA結合ドメインはZn-finger構造を共有し、よく似たDNA配列を認識することができる<sup>8)</sup>。一方で、これらの核内受容体をプローブにスクリーニングが行われると、構造上の類似性を示す受容体がクローニングされていった。当初、これらの受容体のリガンドが不明であったことから、オーファン受容体と総称されることになった。たとえば、女性ホルモン受容体(estrogen receptor  $\alpha$ : *ER $\alpha$* )をプローブに用い、単離された核内受容体 *ERR $\alpha$*  (estrogen receptor related  $\alpha$ ) はその代表的な例である<sup>9)</sup>。

### 3. 核内受容体とステロイドホルモン

オーファン受容体の多くはリガンドの有無や機能が不明のものが多かったが、例外的に機能がわかっていたものもある。その一つがAd4BP (adrenal-4 binding protein) もしくはSF-1 (steroidogenic factor-1) と名づけられた因子で、ステロイドホルモンの産生に必要な一群の遺伝子発現を制御する因子として同定されたものであった<sup>10)</sup>。興味深い点としては、この因子のホモログがショウジョウバエ<sup>11)</sup>と線虫<sup>12)</sup>にも見つかっていることから、この遺伝子は進化的に古い遺伝子であると推測された。また、この因子がステロイドホルモンの産生に必要なことを考慮すれば<sup>13)</sup>、少なくともステロイドホルモン受容体(先に述べたように核内受容体ファミリーに属する)より前に出現したと考えられた。このことは、核内受容体ファミリーの系統樹に読み取ることができる。図1には核内受容体ファミリーの系統樹の一部を示した。ここに示された枝にはステロイドホルモン受容体のすべてと、これらの受容体より古くから存在した各種オーファン受容体が含まれる(これらの核内受容体にはリガンド候補分子が報告されているものもあるが、ここでは便宜上一括してオーファンとする)。これらのオーファン受容体の分岐をみると、まず *Ad4BP/SF-1* (*NR5A1* サブファミリーに分類)と *LRH-1* (liver receptor homolog-1, *NR5A2*)<sup>14)</sup>が分岐し、次いで *GCNF* (germ cell nuclear factor, *NR6A1* サブファミリー)が<sup>15)</sup>、そして *ERR $\alpha$* 、*ERR $\beta$* 、*ERR $\gamma$*  (estrogen receptor related, *NR3B* サブファミリー)が分岐する。発見当初、*Ad4BP/SF-1*を除くこれらのオーファン受容体の機能は不明であったが、主に遺伝子破壊マ

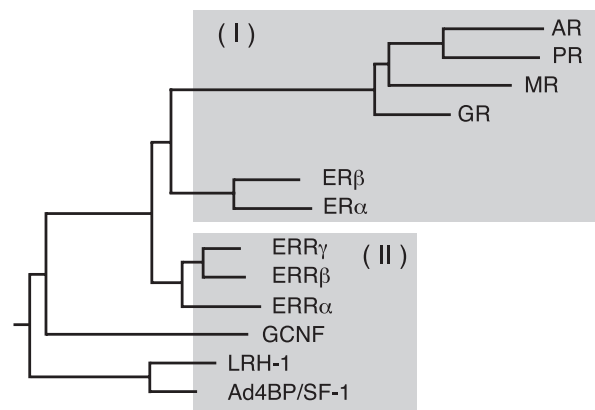


図1 ステロイドホルモン受容体と関連のオーファン受容体の系統樹

ステロイドホルモン受容体(I)と本稿で取り上げるオーファン受容体(II)の関係を示した。この系統樹はステロイドホルモン受容体よりオーファン受容体の方が進化的に古いことを示している。AR: androgen receptor, PR: progesterone receptor, MR: mineralocorticoid receptor, GR: glucocorticoid receptor, ER $\alpha$ : estrogen receptor  $\alpha$ , ER $\beta$ : estrogen receptor  $\beta$ , ERR $\gamma$ : estrogen receptor related  $\gamma$ , ERR $\beta$ : estrogen receptor related  $\beta$ , ERR $\alpha$ : estrogen receptor related  $\alpha$ , GCNF: germ cell nuclear factor, LRH-1: liver receptor homolog-1, Ad4BP/SF-1: adrenal-4 binding protein/steroidogenic factor-1.

ウスの解析を通じ、その機能が次第に明らかになってきた。

#### 4. オーフアンたちの多様な機能

これらのオーファン受容体の機能について簡単にまとめた。第一に、これらの受容体は同じ塩基配列を認識し、結合することができる。このことはこれらの受容体が標的遺伝子を共有する可能性、つまりその結果として類似の機能を有することを示唆する。これは非常に興味深い点なので、この点に着目しつつ、以下にそれぞれの受容体の機能をまとめてみたい。

まず Ad4BP/SF-1 である。先に述べたようにこの受容体は本稿で議論するオーファン受容体の中では、最も早く機能の解析が進んだ受容体であり、これらのオーファンが共有する結合コンセンサス配列は本因子の解析によって明らかになった<sup>16)</sup>。本因子はステロイドホルモン産生に必須の遺伝子を制御する転写因子として同定されたことから、副腎皮質や生殖腺等のステロイドホルモン産生組織に発現することがわかっていた<sup>10)</sup>。その後、脳下垂体性腺刺激ホルモン分泌細胞<sup>17)</sup>や、視床下部腹内側核<sup>18)</sup>、脾臓<sup>19)</sup>にも本因子の発現が確認された。遺伝子破壊マウスでは副腎、生殖腺ともに組織発生の初期に消失するため、これらの組織の形成には必須の役割を担っていると考えられている<sup>17)</sup>。本遺伝子の破壊がこれらの組織の消失に至る理由としては、本因子が *Cyclin D1* の遺伝子発現制御を通じ、細胞増殖を制御することから<sup>20)</sup>、この制御の異常がステロイドホルモン産生組織の消失を招くと考えられてきた。

LRH-1 は肝臓に発現する因子として同定され<sup>14)</sup>、その後、初期胚、生殖腺、その他の組織でも発現することが明らかになった。通常の遺伝子破壊マウスは初期胚で致死となる<sup>21)</sup>。これは、LRH-1 が初期胚の全能性の維持に欠かせない *Oct4* 遺伝子の発現を制御しているためで、遺伝子破壊初期胚からは *Oct4* の発現が消失する。そこで、組織・細胞特異的遺伝子破壊マウスが作出され、その解析が行われた。その結果、肝臓では胆汁酸合成<sup>22)</sup>やグルコース代謝<sup>23)</sup>に関与する遺伝子の発現を制御し、遺伝子破壊マウスはこれらの代謝系に異常を呈することが明らかになった。また、生殖腺では Ad4BP/SF-1 と同様にステロイドホルモン産生に関与する遺伝子の発現を制御する。卵巣顆粒層細胞でこの遺伝子を破壊すると性ステロイドホルモンの合成障害により、卵胞成熟と排卵が抑制され、不妊となる<sup>24)</sup>。細胞増殖との関わりにおいては、LRH-1 は  $\beta$ -catenin と協調的に *Cyclin D1* と *E1* の発現を制御することで細胞増殖を促進するとの結果が報告されている<sup>25)</sup>。

GCNF はその名のとおりに、生殖細胞系列で同定された<sup>15)</sup>。遺伝子破壊マウスは胎齢 10.5 日で致死となる。これは心臓形成と絨毛尿膜結合の異常、ならびに胎盤形成の異常による。また、このほかにも神経系や体軸形成に異常を示

す<sup>26)</sup>。卵特異的遺伝子破壊マウスでは卵細胞の成熟過程が障害される<sup>27)</sup>。これは GCNF が卵子系列細胞で BMP-15 (bone morphogenetic protein 15) と GDF-9 (growth differentiation factor 9) の発現を制御するためである。また、精子系列細胞では、ヒストンの代わりにクロマチン構造形成の主役となるプロタミンや *mGPDH* (mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase) 遺伝子の制御を通じ、精子系列細胞の分化成熟を制御していると考えられている<sup>28, 29)</sup>。興味深い点は、ここで取り上げるほかのオーファンと異なり GCNF は遺伝子発現を抑制することである。上記の *mGPDH* は CREM $\tau$  (cAMP-response element modulator  $\tau$ ) によって正に制御されているが、CREM $\tau$  の *mGPDH* 遺伝子への結合を GCNF が阻害することで、*mGPDH* 遺伝子の発現を抑制する。細胞増殖との関連については、マイクロ RNA を介して *Cyclin D1* 遺伝子の制御を行っているとの報告がある<sup>30)</sup>。

すでに述べたように、ERR $\alpha$ 、ERR $\beta$ 、ERR $\gamma$  は ER $\alpha$  に類似の核内受容体として同定されたが、エストロゲンはこれらの受容体のリガンドとして機能しない。三者はそれぞれに発現の組織・細胞特異性を異にしつつも、その特異性は厳密ではなく、それぞれの発現が重複することも少なくない。それぞれに遺伝子破壊マウスが作製され、その表現型が解析されているが、ここではその表現型の記述は割愛する。ただし以下に述べるように、これらの受容体の研究から得られた最も重要な知見は、これらの受容体がエネルギー代謝に関与していることを明らかにした点である。

#### 5. ビッグデータスタディでみえてきた奇妙な符合—エネルギー代謝

2007 年と 2010 年に興味深い論文が発表された<sup>31, 32)</sup>。実験では、心筋と肝臓における ERR $\alpha$  と ERR $\gamma$  の結合領域を、全遺伝子の上流域を対象にしたマウスゲノムアレイを用いた ChIP-on-chip 解析によって調べている。その結果、これらの ERR が解糖系、TCA サイクル、酸化リン酸化の遺伝子の多くに結合し、その発現を制御していることが示された。その後 2013 年に同グループは次世代シーケンサーを用いた ChIP-sequence 解析を行い、ほぼ同様の結果を得ている<sup>33)</sup>。発表の年が前後するが、実は 2011 年に、上記のマウス肝臓での実験結果ときわめてよく一致する結果がショウジョウバエの ERR で発表されている<sup>34)</sup>。ショウジョウバエゲノムには 1 種類の *ERR* 遺伝子 (*dERR*) が存在するのみであるが、この *dERR* 遺伝子を欠失した個体は幼虫で致死となる。この変異体では、ATP 量は減少し、逆に体液中の糖 (トレハロース) が増加していた。興味深いことに、この変異体では解糖系の遺伝子発現が減少していたのである。解糖系はグルコースを分解してピルビン酸合成に至る代謝系であり、その過程で ATP と NADH を産生する。次いで、好氣的条件下では、解糖系の産物であるピルビン酸はミトコンドリアに取り込まれ、TCA サイク

ルならびに酸化的リン酸化を経て、多量のATPを合成することとなる。つまり、解糖系は細胞内エネルギー産生の初発プロセスと位置づけられる。したがって、*dERR*の欠失が解糖系の活性を低下させることでATPの産生低下を招き、同時に体液の糖濃度の上昇をもたらしたと考えられた。もちろん、ATPの低下は生体反応の低下につながるはずであり、ついには細胞増殖も低下する。このことが、幼虫で致死となる表現型の原因と考えられたのであった。

次いで、2014年には上記のERRの結果と類似の結果がAd4BP/SF-1の解析によって得られている<sup>35)</sup>。副腎皮質由来の培養細胞を用いたChIP-sequence解析によって、Ad4BP/SF-1の標的遺伝子を同定した結果、Ad4BP/SF-1もERR $\alpha$ と同様に解糖系遺伝子に結合し、これらの遺伝子発現を制御することが示されたのであった(図2)。詳細な記述は割愛するが、Ad4BP/SF-1は解糖系のほかにNADPH産生経路であるペントースリン酸経路の制御を通じ、細胞内のNADPH量を調節している。残りのオーファン受容体、GCNFとLRH-1が同様にエネルギー産生系の遺伝子発現を調節するかについては興味深いところである。すでに、肝臓<sup>36)</sup>、膵臓<sup>37)</sup>、乳がん<sup>38,39)</sup>を用いたLRH-1のChIP-sequenceが行われているが、残念なことにこれらのデータを基にした論文では解糖系遺伝子がLRH-1の標的遺伝子として議論されてはいない。ChIP-sequenceのデータを精査してみる必要があると思われる。GCNFのChIP-sequenceのデータはまだ公表されていないが、この因子は抑制性の転写活性を示すことから、その標的遺伝

子は上記の受容体とは異なるかもしれない。

## 6. レギュロンによる制御

この一連の実験結果の重要な点は、ある種の核内受容体がレギュロンを構築していることを示したことであった。実は、Ad4BP/SF-1がステロイドホルモン産生に関与するほぼすべての遺伝子発現を制御していることはわかっていたので、筆者も含めこの分野の研究者にはステロイドホルモン産生系遺伝子がAd4BP/SF-1のレギュロンとして制御されていることがみえていたのであった。しかしながら残念なことに、レギュロンという制御系を指摘できていなかった。この制御系を再発見したのは2010年に発表された上記のERR $\alpha$ の論文であった。つまり、この論文でレギュロンは静かに復活を遂げたのであった。ところが、残念なことにいまだ広く認知されるに至っていない。普通に考えれば、解糖系でも、TCAサイクルでも、代謝系を滞りなく働かせるにはその系を構築するすべての遺伝子が協調的に発現する方がよいに決まっている。必要なときには一斉に転写され、不要となったら一斉に転写が抑制される方が経済的であり、理にかなっている。そして、このことはレギュロンという制御系を意識することで具体性をもって議論することができるのである。

上記の考え方は別に、ある代謝系の活性は酵素活性の調節をもとに論じられてきた歴史がある。特に生化学の研究ではそうであった。リン酸化等の修飾による酵素活性の

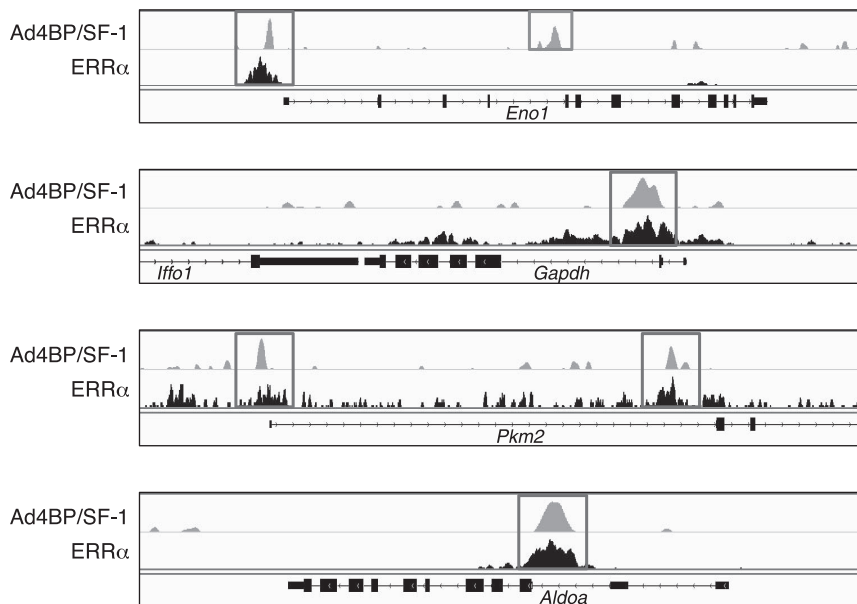


図2 Ad4BP/SF-1とERR $\alpha$ の解糖系遺伝子座における集積

副腎皮質由来のY-1細胞を用いたAd4BP/SF-1のChIP-sequence<sup>35)</sup>とマウス肝臓を用いたERR $\alpha$ のChIP-sequence<sup>33)</sup>の結果を比較した。Aldoa (aldolase a), G6pdh (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase), Eno1 (enolase I), Pkm2 (pyruvate kinase M2) 遺伝子座を示す。ERR $\alpha$ のChIP-sequenceの結果は登録された生データより作成した。赤枠で示すように、Ad4BP/SF-1とERR $\alpha$ の両者の蓄積が認められる領域が存在する。青枠で示した領域にはAd4BP/SF-1の蓄積のみが認められる。ここには示さないがERR $\alpha$ の蓄積のみが認められる遺伝子も存在する。詳細は馬場らの文献を参照されたい<sup>35)</sup>。

調節, 複合体の形成ステップの調節, 代謝産物によるフィードバック効果などは代表的な例である。これらの調節に加え, 律速酵素という概念が加わり, 複雑な代謝系を単純化することが試みられてきた。代謝系のある反応がボトルネックとなり系全体の流れを絞り込むのである。ただ, 実際の代謝系はそのように単純なものではなく, 単一のステップが系全体を制御すると考えることには限界があるのではないだろうか。とはいうものの, これまでの生化学研究が明らかにしてきた上記の制御メカニズムは確かに機能している。そしてこの制御の特徴は即効性であり, 多くの場合, 遺伝子発現量の変化やそれに伴う酵素量の変動を伴わない。したがって, ある条件下で抑制がかかったとしても, 抑制シグナルが減弱すれば即座に活性を戻すことができるのである。

このような制御と比較することでレギュロン制御の特徴がみえてくる。まず, レギュロン制御は時間を要する。遺伝子の転写と翻訳, さらに酵素の分解時間が, この制御が機能するまでに必要となる。逆に, いったん変化した代謝系を元に戻すときにも相応の時間が必要となる。繰り返しになるが, レギュロン制御はある代謝系に必要な遺伝子すべての転写を上昇, または抑制する点も特徴的である。たとえば, Ad4BP/SF-1 の発現を RNAi 処理によって抑制すると, 遺伝子によって差はあるものの, 解糖系遺伝子の mRNA はおおむね 50% 程度に減少する。この 50% 程度の減少をどのように評価すべきかについては判断基準を知らないが, このノックダウンによって細胞の ATP 量は確実に低下し, 同時に細胞増殖も低下する。このことはオーファン受容体が, 実際に細胞のエネルギー状態を変化させていることを示すとともに, レギュロンによる制御が酵素活性の変動による即効性の制御とは異なり, 細胞の基本代謝活性を調節していることを強く示唆する。

## 7. 未分化細胞とがん細胞におけるオーファン受容体の役割

上述のごとく, エネルギー産生系がオーファン受容体のレギュロンとして制御されていることが明らかになってきたが, このことは次に述べる現象と関わっているのではないかと考えられる。

古くからいわれていることであるが, 正常細胞がミトコンドリアにおける TCA サイクルと酸化的リン酸化によって ATP を産生するのに対し, がん細胞は主に解糖系によって ATP 産生を行っている。この奇妙な糖代謝の亢進はワールブルグ効果と呼ばれる<sup>40)</sup>。このようなエネルギー産生系のスイッチングはがん細胞以外にもみられる。一つは発生過程である。胎生期は主に解糖系によって, そして出生後はミトコンドリアによってエネルギー産生が行われる。ショウジョウバエにしても同様で, 幼虫は主に解糖系によって, その後はミトコンドリアによってエネルギー産生が行われる。つまり, 細胞の状態の変化とともに, エネ

ルギー産生の主要経路のスイッチングが起きるのである。

そして, ここで述べてきたオーファン受容体はエネルギー産生経路のスイッチングを制御する可能性がないだろうか。哺乳類胚の初期に形成される胚盤胞内部の細胞は内部細胞塊と呼ばれ, この細胞から胚胎が形成される。全能性を有する ES 細胞もこの細胞から樹立される。さらに発生が進むと, epiblast と呼ばれる段階に至るが, この細胞からも全能性を有する EpiSC (epiblast stem cell) を樹立することができる。この両者は, 全能性を有する点では同じであるが, ES 細胞が自己複製能を有しているのに対し, EpiSC は有しないこと, 遺伝子発現レベルでは明確な差を示すこと, 用いるエネルギー産生経路に差があることがわかっている。ES 細胞ではミトコンドリアを, そして EpiSC では解糖系を使っている。興味深いことに, これらの細胞にはここで議論してきたオーファン受容体が発現している。少しだけふれたが, これまでは全能性の維持に欠かせない *Oct4* 遺伝子の調節領域にオーファン受容体が結合し, その発現を調節するとの観点から受容体の機能が議論されてきた<sup>41)</sup>。この制御は全能性の維持の機構を説明するには重要であり, 種々の結果がオーファン受容体の関与を指示している。このような全能性の確立に関与する遺伝子制御に加え, iPS 細胞を含むこれらの細胞におけるエネルギー産生経路の研究が行われているらしい。多分, ここにも本稿で議論してきたオーファン受容体が登場し, エネルギー産生経路のスイッチングに関わる可能性は大きいはずである<sup>42)</sup>。今後の展開は興味深い。

がんとの関わりについてもいくつかの報告がある。ここでは Ad4BP/SF-1 の例を紹介しておきたい。フランスとドイツで行われた副腎皮質腫瘍に関するコホート研究によると, 副腎皮質腫瘍の多くに Ad4BP/SF-1 の発現の上昇, または遺伝子の増幅が認められており, 発現量の増加と悪性度により相関があるとのことである<sup>43, 44)</sup>。この場合, 悪性度は予後の生存年数を指標に議論しており, 腫瘍細胞の増殖が早ければ悪性度は増すと考えられる。つまり, Ad4BP/SF-1 がエネルギー産生や NADPH 産生を制御していることを考慮すれば, この因子が腫瘍細胞の増殖を制御していると考えられないだろうか。同時に, Ad4BP/SF-1 による解糖系の制御が, 副腎皮質腫瘍におけるワールブルグ効果を説明するのかもしれない。また実際に, ここで議論してきた Ad4BP/SF-1 以外のオーファン受容体も腫瘍細胞で発現しており, Ad4BP/SF-1 と同様にエネルギー産生制御のスイッチングに関与するとの推測も可能であろう。

## 8. 代謝経路という考え方の落とし穴

これらのオーファン受容体が制御するレギュロンについて, 今後の問題点を述べておきたい。まず, エネルギー産生に関する  $ERR\alpha$  と Ad4BP/SF-1 の差についてである。これまでに発表された実験結果によれば, 両者とも解糖系を共通のターゲットにしているにも関わらず,  $ERR\alpha$  が

TCA サイクルと酸化リン酸化に関与する遺伝子を制御するのに対し、Ad4BP/SF-1 はこれらの遺伝子の制御には関わらない。この二つのオーファン受容体が同一の塩基配列を認識することを考慮すれば、Ad4BP/SF-1 も TCA サイクルと酸化リン酸化に関与する遺伝子に結合すると考えるのが妥当である。しかもこれらの代謝系・反応系はハウスキーピングなプロセスなので、これらの遺伝子座のクロマチン構造はいずれの細胞でも活性化型になっていると推測される。しかし実際には両者の結合に差が生じているのである。この差を説明するには、両者の結合に選択性を与える何らかの調節が存在すると考えるのが妥当である。組織や細胞によって結合の選択性が制御されるのか、あるいはある種の刺激が結合の選択性を制御するのか、いくつかの可能性があり興味深い問題である。

初めに述べたように Ad4BP/SF-1 はステロイドホルモンの産生に関与する遺伝子群を調節することが知られている。これに加えて解糖系遺伝子の調節を行っていることが明らかになったのであるが、この二つの代謝系は前者がハウスキーピングプロセスであり、後者は細胞特異的プロセスである。この性質が異なる二つの代謝系を同一の転写因子が調節することの意義は何であろうか。同一の転写因子によって制御されるとすれば、二つの代謝系を構築する遺伝子の発現は協調するはずであり、ひいては二つの代謝系の活性も協調するはずである。つまり、同一の転写因子の制御のもとに、ともに上昇し、ともに抑制がかかると推測することができる。

ところで、生化学の教科書にはステロイドホルモンはコレステロールを出発物質として合成されると書いてある。したがって、細胞はステロイドホルモンの合成の前に、コレステロールを合成しなければならない(コレステロールはすべての細胞が合成可能であり、したがってコレステロール合成経路はハウスキーピングプロセスである)。さらに、コレステロールはアセチル CoA を出発物質として合成されると記載されている。アセチル CoA は糖、脂質、アミノ酸から供給されるため、コレステロールを合成するにはこの供給経路を動かさなければならない。加えて、コレステロール合成には ATP と NADPH が不可欠である。ということは細胞がステロイドホルモンを合成するには ATP、NADPH ならびにアセチル CoA を供給する代謝系を協調的に動かさなければならないのである。もちろん、ステロイドホルモンの産生を使命とするステロイドホルモン産生細胞にとって、解糖系がハウスキーピングで、ステロイドホルモン合成系が細胞特異的プロセスであるという区別はなく、ともにステロイドホルモンの産生には不可欠な経路なのである。ステロイドホルモン産生細胞に発現する Ad4BP/SF-1 はステロイドホルモンの産生に向けてこれらの代謝系を連動させるという重要な役割を担っているのではないだろうか。Ad4BP/SF-1 が解糖系を制御することの意味合いは、ここにあるのではないと思われる。

## 9. おわりに

代謝や解糖系といえまさに生化学の牙城である。そしてそこにはすでに膨大な結果の集積をみることができる。この膨大な結果とは個々の物質、反応、酵素を対象に長年に渡って一つずつ積み上げられた結果の集積である。一方、近年の解析機器の飛躍的な発展は、一挙に膨大なデータの取得を可能とした。たとえば、質量分析からは細胞内のタンパク質とその修飾の検出、相互作用するタンパク質の検出、また代謝産物の量とその変動など、実に多彩かつ多量のデータを得ることができる。そして、次世代シーケンサーからは全ゲノム・遺伝子を対象とする発現解析や DNA とクロマチン修飾、クロマチンの立体構造の検出が可能となった。当初は、このようなビッグデータをハンドリングするためのスタンダードアプリケーションが充実しておらず、素人には解析が不可能であったが、最近では初心者にもハンドリング可能なレベルにアプリケーションが充実してきた。したがって、このような実験手法を取り込むにあたり、さほどの壁はなくなってきたといえる。ただし、これは表面的な解析であって、実はこのビッグデータを読むときに研究者の知識とセンスが問われる。ではあるものの、ビッグデータ解析は代謝過程の詳細を明らかにすることを可能とした。代謝・生化学をもとに生体反応を俯瞰する目は生化学者の方が肥えている。ここにきて、生化学が面白い、代謝が面白いと、若者が思わないはずがない。

## 文 献

- 1) Maas, W.K. & McFall, E. (1964) *Annu. Rev. Microbiol.*, 18, 95-110.
- 2) Berthold, A.A. (1849) *Arch. Anat. Physiol.*, 16, 42-46.
- 3) Conneely, O.M., Sullivan, W.P., Toft, D.O., Birnbaumer, M., Cook, R.G., Maxwell, B.L., Zarucki-Schulz, T., Greene, G.L., Schrader, W.T., & O'Malley, B.W. (1986) *Science*, 233, 767-770.
- 4) Jeltsch, J.M., Krozowski, Z., Quirin-Stricker, C., Gronemeyer, H., Simpson, R.J., Garnier, J.M., Krust, A., Jacob, F., & Chambon, P. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 5424-5428.
- 5) McDonnell, D.P., Mangelsdorf, D.J., Pike, J.W., Haussler, M. R., & O'Malley, B.W. (1987) *Science*, 235, 1214-1217.
- 6) Benbrook, D. & Pfahl, M. (1987) *Science*, 238, 788-791.
- 7) Petkovich, M., Brand, N.J., Krust, A., & Chambon, P. (1987) *Nature*, 330, 444-450.
- 8) Mangelsdorf, D.J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schutz, G., Umesono, K., Blumberg, B., Kastner, P., Mark, M., Chambon, P., & Evans, R.M. (1995) *Cell*, 83, 835-839.
- 9) Giguere, V., Yang, N., Segui, P., & Evans, R.M. (1988) *Nature*, 331, 91-94.
- 10) Honda, S., Morohashi, K., Nomura, M., Takeya, H., Kitajima, M., & Omura, T. (1993) *J. Biol. Chem.*, 268, 7494-7502.
- 11) Lavorgna, G., Ueda, H., Clos, J., & Wu, C. (1991) *Science*, 252, 848-851.
- 12) Asahina, M., Ishihara, T., Jindra, M., Kohara, Y., Katsura, I., & Hirose, S. (2000) *Genes Cells*, 5, 711-723.
- 13) Morohashi, K., Zanger, U.M., Honda, S., Hara, M., Waterman, M.R., & Omura, T. (1993) *Mol. Endocrinol.*, 7, 1196-1204.

- 14) Galarneau, L., Pare, J.F., Allard, D., Hamel, D., Levesque, L., Tugwood, J.D., Green, S., & Belanger, L. (1996) *Mol. Cell Biol.*, **16**, 3853–3865.
- 15) Chen, F., Cooney, A.J., Wang, Y., Law, S.W., & O'Malley, B.W. (1994) *Mol. Endocrinol.*, **8**, 1434–1444.
- 16) Morohashi, K., Honda, S., Inomata, Y., Handa, H., & Omura, T. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 17913–17919.
- 17) Ingraham, H.A., Lala, D.S., Ikeda, Y., Luo, X., Shen, W.H., Nachtigal, M.W., Abbud, R., Nilson, J.H., & Parker, K.L. (1994) *Genes Dev.*, **8**, 2302–2312.
- 18) Ikeda, Y., Luo, X., Abbud, R., Nilson, J.H., & Parker, K.L. (1995) *Mol. Endocrinol.*, **9**, 478–486.
- 19) Morohashi, K., Tsuboi-Asai, H., Matsushita, S., Suda, M., Nakashima, M., Sasano, H., Hataba, Y., Li, C.L., Fukata, J., Irie, J., Watanabe, T., Nagura, H., & Li, E. (1999) *Blood*, **93**, 1586–1594.
- 20) Ishimaru, Y., Komatsu, T., Kasahara, M., Katoh-Fukui, Y., Ogawa, H., Toyama, Y., Maekawa, M., Toshimori, K., Chandraratna, R.A., Morohashi, K., & Yoshioka, H. (2008) *Development*, **135**, 677–685.
- 21) Gu, P., Goodwin, B., Chung, A.C., Xu, X., Wheeler, D.A., Price, R.R., Galardi, C., Peng, L., Latour, A.M., Koller, B.H., Gossen, J., Kliewer, S.A., & Cooney, A.J. (2005) *Mol. Cell Biol.*, **25**, 3492–3505.
- 22) Matakai, C., Magnier, B.C., Houten, S.M., Annicotte, J.S., Argmann, C., Thomas, C., Overmars, H., Kulik, W., Metzger, D., Auwerx, J., & Schoonjans, K. (2007) *Mol. Cell Biol.*, **27**, 8330–8339.
- 23) Oosterveer, M.H., Matakai, C., Yamamoto, H., Harach, T., Moullan, N., van Dijk, T.H., Ayuso, E., Bosch, F., Postic, C., Groen, A.K., Auwerx, J., & Schoonjans, K. (2012) *J. Clin. Invest.*, **122**, 2817–2826.
- 24) Duggavathi, R., Volle, D.H., Matakai, C., Antal, M.C., Messaddeq, N., Auwerx, J., Murphy, B.D., & Schoonjans, K. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 1871–1876.
- 25) Botrugno, O.A., Fayard, E., Annicotte, J.S., Haby, C., Brennan, T., Wendling, O., Tanaka, T., Kodama, T., Thomas, W., Auwerx, J., & Schoonjans, K. (2004) *Mol. Cell*, **15**, 499–509.
- 26) Chung, A.C., Katz, D., Pereira, F.A., Jackson, K.J., DeMayo, F.J., Cooney, A.J., & O'Malley, B.W. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 663–677.
- 27) Lan, Z.J., Gu, P., Xu, X., Jackson, K.J., DeMayo, F.J., O'Malley, B.W., & Cooney, A.J. (2003) *EMBO J.*, **22**, 4070–4081.
- 28) Hummelke, G.C. & Cooney, A.J. (2004) *Mol. Reprod. Dev.*, **68**, 394–407.
- 29) Rajkovic, M., Middendorff, R., Wetzel, M.G., Frkovic, D., Damerow, S., Seitz, H.J., & Weitzel, J.M. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 52493–52499.
- 30) Wang, H., Wang, X., Archer, T.K., Zwaka, T.P., & Cooney, A.J. (2014) *Stem Cells*, **32**, 1527–1537.
- 31) Dufour, C.R., Wilson, B.J., Huss, J.M., Kelly, D.P., Alaynick, W.A., Downes, M., Evans, R.M., Blanchette, M., & Giguere, V. (2007) *Cell Metab.*, **5**, 345–356.
- 32) Charest-Marcotte, A., Dufour, C.R., Wilson, B.J., Tremblay, A.M., Eichner, L.J., Arlow, D.H., Mootha, V.K., & Giguere, V. (2010) *Genes Dev.*, **24**, 537–542.
- 33) Chaveroux, C., Eichner, L.J., Dufour, C.R., Shatnawi, A., Khoutorsky, A., Bourque, G., Sonenberg, N., & Giguere, V. (2013) *Cell Metab.*, **17**, 586–598.
- 34) Tennessen, J.M., Baker, K.D., Lam, G., Evans, J., & Thummel, C.S. (2011) *Cell Metab.*, **13**, 139–148.
- 35) Baba, T., Otake, H., Sato, T., Miyabayashi, K., Shishido, Y., Wang, C.Y., Shima, Y., Kimura, H., Yagi, M., Ishihara, Y., Hino, S., Ogawa, H., Nakao, M., Yamazaki, T., Kang, D., Ohkawa, Y., Suyama, M., Chung, B.C., & Morohashi, K. (2014) *Nat. Commun.*, **5**, 3634.
- 36) Chong, H.K., Biesinger, J., Seo, Y.K., Xie, X., & Osborne, T.F. (2012) *BMC Genomics*, **13**, 51.
- 37) Holmstrom, S.R., Deering, T., Swift, G.H., Poelwijk, F.J., Mangelsdorf, D.J., Kliewer, S.A., and MacDonald, R.J. (2011) *Genes Dev.*, **25**, 1674–1679.
- 38) Lai, C.F., Flach, K.D., Alexi, X., Fox, S.P., Ottaviani, S., Thiruchelvam, P.T., Kyle, F.J., Thomas, R.S., Launchbury, R., Hua, H., Callaghan, H.B., Carroll, J.S., Charles Coombes, R., Zwart, W., Buluwela, L., & Ali, S. (2013) *Nucl. Acids Res.*, **41**, 10228–10240.
- 39) Bianco, S., Brunelle, M., Jangal, M., Magnani, L., & Gevry, N. (2014) *Cancer Res.*, **74**, 2015–2025.
- 40) Warburg, O. (1956) *Science*, **124**, 269–270.
- 41) Guo, G. & Smith, A. (2010) *Development*, **137**, 3185–3192.
- 42) Simandi, Z., Cuaranta-Monroy, I., & Nagy, L. (2013) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **24**, 716–723.
- 43) Almeida, M.Q., Soares, I.C., Ribeiro, T.C., Fragoso, M.C., Marins, L.V., Wakamatsu, A., Ressler, R.A., Nishi, M.Y., Jorge, A.A., Lerario, A.M., Alves, V.A., Mendonca, B.B., & Latronico, A.C. (2010) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **95**, 1458–1462.
- 44) Sbiera, S., Schull, S., Assie, G., Voelker, H.U., Kraus, L., Beyer, M., Ragazzon, B., Beuschlein, F., Willenberg, H.S., Hahner, S., Saeger, W., Bertherat, J., Allolio, B., & Fassnacht, M. (2010) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **95**, E161–171.

## 著者寸描

### ●諸橋 憲一郎 (もろはし けんいちろう)



九州大学大学院医学研究院主幹教授。理学博士。

■略歴 1986年九州大学大学院理学研究科を修了。同年同大学理学部助手。87年同大学医学系研究科助手。96年岡崎国立共同研究機構(現、自然科学研究機構)基礎生物学研究所教授。2007年より現職。

■研究テーマと抱負 研究室の若者達には「百年後も教科書に記載され、未来の

若者が勉強してくれるような結果を残そうよ」と言っています。研究室の若者達とそんな仕事ができれば(できなくても)、彼等に感謝です。

■ウェブサイト <http://www.med.kyushu-u.ac.jp/seisaseibutu/>

■趣味 山女(ヤマメ)と読みます。ちなみに、魚です)を求めて渓流釣り。