

# ゲノムストレス応答における NAD 代謝変動 —空間的 NAD 代謝エピゲノム制御の提唱—

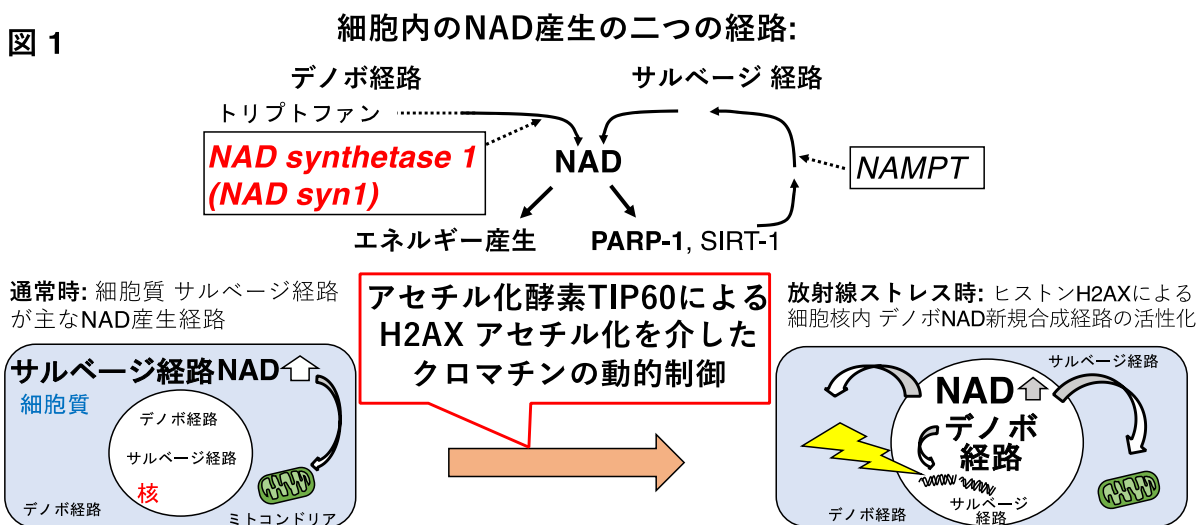
## 概要

NAD<sup>\*1</sup>は、細胞の生命活動に必要なエネルギー源であり、その量的変動が老化やがん化に最も影響を与えるメタボライト<sup>\*2</sup>の一つです。NADの産生には、細胞核と細胞質に存在するサルベージ経路<sup>\*3</sup>とデノボ経路<sup>\*4</sup>が関与しますが、その産生の多くは細胞質でのサルベージ経路に依存していると考えられていました。

今回、京都大学大学院生命科学研究科附属放射線生物研究センター 井倉毅 准教授、古谷寛治 同講師、井倉正枝 同研究員、同大学院工学研究科附属流域圏総合環境質研究センター 松田知成 准教授らの研究グループは、放射線によるゲノム損傷ストレスに対して H2AX<sup>\*5</sup>のアセチル化が、細胞核内のデノボ NAD 合成酵素を DNA 損傷領域に誘導することにより、NAD 産生が、細胞質でのサルベージ経路依存から細胞核内のデノボ経路依存に変遷することを見出しました。この変遷を阻害すると細胞老化の異常加速とコロニー形成能が増大します。この結果は、H2AX のアセチル化を介した NAD 産生の経路と場の変遷、すなわち「空間的 NAD 代謝エピゲノム制御」が、新たなゲノムストレス応答となることを示唆しています。将来、この研究成果が、がんや細胞老化研究に大きな貢献をもたらすことが期待できます。

本成果は、2022 年 10 月 24 日に米国の国際学術誌「Molecular and Cellular Biology」にオンライン掲載されました。

図 1



放射線ストレス時のヒストンH2AXを介したNADが産生される場所の変遷が、老化の異常加速とがん化を抑制する。

## ➡ 新たなゲノムストレス応答としての空間的NAD代謝エピゲノム制御の提唱

図 1 本研究の概要: NADは、これまでは多くが細胞質で産生経路に依存していると考えられてきました。我々はその概念を更新し、放射線によるゲノム損傷を受けた細胞では、ヒストン H2AX のアセチル化による制御を介して、NAD 産生が細胞核内の経路へと変遷することを見出しました。その変遷が細胞老化とがん化の抑制に重要であることを示し、「空間的 NAD 代謝エピゲノム制御」と名づけました。

## 1. 背景

NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)は、主にエネルギー産生に関わる補酵素 (coenzyme) としての役割に加え、ポリ ADP リボシル化酵素 PARP-1<sup>6</sup> や SIRT1 の基質として転写反応や DNA 修復反応に関わるメタボライトであり、NAD 量の変動が、老化やがん化に大きく変動することが知られています。従って細胞内で NAD の産生調節の仕組みを知ることはがん化や老化の仕組みの理解にはとても重要です。細胞内で NAD が作られる経路には、2つの経路があることが知られています。一つは、デノボ (*de novo*) 経路、もう一つは、サルベージ (*salvage*) 経路です。*de novo* 経路からは、細胞外からアミノ酸であるトリプトファンを取り込んで NAD が新しく作られます。*salvage* 経路は、いわば廃品利用で、細胞内で作られた NAD の分解産物を再利用して再度 NAD を合成する、NAD 合成の循環サイクルです。NAD の合成に関与する鍵となる酵素は、デノボ経路とサルベージ経路で異なり、デノボ経路では NAD 合成酵素 NAD synthetase 1 (NAD syn1)そしてサルベージ経路では触媒酵素として NAMPT が知られています。この2つの NAD 産生工場は、細胞核、細胞質、そして細胞質でのミトコンドリアの膜に存在することがわかっていますが、NAD の合成に関わる酵素は、圧倒的に細胞質に存在していることもあり、通常の細胞機能を営むためのエネルギー源として、あるいは転写や DNA 修復反応で消費されるための NAD は、主に細胞質に存在するサルベージ経路で作られると考えられていました。

我々は、これまでに、ゲノム損傷ストレスに応じて TIP60 ヒストンアセチル化酵素によるヒストン H2AX のアセチル化が、PARP-1 のポリ ADP リボシル化酵素活性を制御しクロマチンから放出された H2AX を損傷部位に取り込むことにより DNA 損傷応答シグナルを活性化していることを明らかにしています。この H2AX のアセチル化が、どのような仕組みで PARP-1 のポリ ADP リボシル化酵素活性を制御しているのか、基質となる NAD は、細胞核内で産生されたものなのか、あるいは通説通り細胞質でのサルベージ経路を介したものなのかについては長らく不明でした。

## 2. 研究手法・成果

今回、我々は、デノボ NAD 合成酵素、NAD syn1 が、クロマチンから TIP60 による H2AX のアセチル化依存的に損傷部位のクロマチンに取り込まれるヒストン H2AX に結合し、それに伴って DNA 損傷部位に集積することをクロマチン免疫沈降法<sup>7</sup> によって見出しました。この結果は、デノボ NAD syn1 が細胞核に存在することを示していますが、この酵素は、その多くは、細胞質に存在します。そこで、ゲノム損傷ストレス応答における細胞核内でのこの酵素の役割を明らかにするためにこの NAD syn1 遺伝子と NAD syn1 の酵素活性を阻害した変異体遺伝子のそれぞれに、核移行シグナルである NLS<sup>8</sup> を付与して細胞に発現させて、細胞核内でのみ NAD syn1 の酵素活性を阻害しました。

その結果、PARP-1 のポリ ADP リボシル化酵素活性の低下とクロマチンから放出された H2AX のアセチル化依存的な DNA 損傷部位への取り込み、および DNA 修復反応の低下が確認され、さらに興味深いことに、これらの細胞核内でのゲノム損傷ストレス応答への影響のみならず、細胞全体のエネルギー代謝の低下とそれに伴う細胞老化の加速と発がんのプロセスを示す足場非依存性のコロニー形成能の増大という予想外の結果が明らかになりました。NLS を付与していないこれら遺伝子の発現細胞では、このような表現型は全く見られませんでした(図 2)。従って、これらの結果は、放射線によるゲノム損傷ストレス下では NAD 産生の方が、細胞質でのサルベージ経路依存から細胞核内でのデノボ経路依存に変遷し、NAD が細胞核内で産生されるようになることがゲノム損傷ストレスによって誘発される細胞老化の異常加速とがん化の抑制に必要な新たな細胞応答であることを示唆しています。

図2

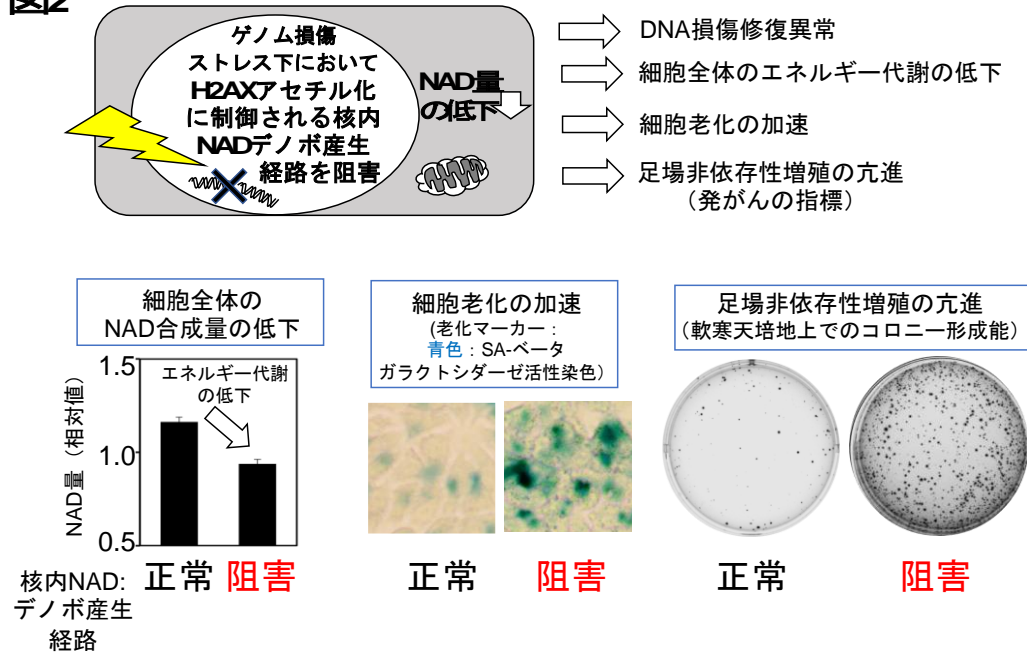


図 2：ゲノム損傷ストレス下において H2AX アセチル化により制御される核内 NAD デノボ産生経路を阻害した際の細胞への影響

### 3. 波及効果、今後の予定

今回、放射線によるゲノム損傷ストレス下でヒストン H2AX のアセチル化を介したクロマチンの変化によって引き起こされる NAD の産生経路と場の変遷が、細胞老化とがん化を抑止する新たなゲノム損傷応答であることを見出しました。この応答を「空間的 NAD 代謝エピゲノム制御」と名付けました。細胞がストレスに晒された時、NAD が、どこで、どの経路で産生されるのかが、重要です。例えば、放射線の生体影響を考えた時、普通ならがん化など到底起こらない微弱な放射線に対しても NAD が然るべきところで産生されなければ発がんのリスクが高まる可能性があります。今後は、マウス個体レベルでの検証やヒト疾患との関わりについてさらに今回の研究結果を検証、発展させていく必要があります。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会科学研究費・基盤研究(B)「放射線障害応答の多様性を規定する動的クロマチン制御を介した NAD 代謝ネットワーク」(20H04336 代表：井倉毅)、同・基盤研究(C)「線量率効果におけるアセチル化シグナルの多様性とエピジェネティクス制御」(19K12321、代表：井倉正枝)、東北大学加齢医学研究所共同研究、情報・システム研究機構戦略的研究プロジェクト(ともに古谷寛治)による支援を受けました。

#### <用語解説>

\*1 NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)：全ての生物種に存在し、生体内の酵素の酸化還元反応を助ける働きをする代謝物。

\*2 メタボライト：細胞内での酵素反応やその制御に必要な代謝物。

\*3 NAD サルベージ経路：PARP や Sirtuin といった NAD を消費する酵素が NAD を消費した際に生じる分解産

物をリサイクルして NAD を再合成する経路。

\*<sup>4</sup> **NAD デノボ (新規合成) 経路**：主にトリプトファンから始まる新規 NAD 合成経路

\*<sup>5</sup> **ヒストン H2AX**: DNA を折りたたむ役割を果たすヒストン蛋白質に類似した蛋白質群、ヒストンバリエーションの一つ。特殊なクロマチン (染色体 DNA と蛋白質を含む構造体) 構造を付与する役割を持つ。

\*<sup>6</sup> **PARP-1 (ポリ ADP-リボース合成酵素 1)**:NAD を分解し他の蛋白質にポリ ADP リボシル化と呼ばれる化学修飾を付加する酵素であり、傷ついた DNA の現場で主に DNA 修復を促す働きを担う。

\*<sup>7</sup> **クロマチン免疫沈降法**：蛋白質がゲノム DNA 上のどの領域に結合するかどうかを検定する目的で、抗体でクロマチン上の目的の蛋白質濃縮した際に共に濃縮される DNA 配列を解析する実験手法。

\*<sup>8</sup> **NLS (nuclear localization signal: 核移行シグナル)**：10 個程度のアミノ酸が連なった配列で構成され、その配列を任意の蛋白質に付加することで、その蛋白質を強制的に細胞核内に濃縮させることが可能。

### <研究者のコメント>

サイエンスにコンフリクトはつきものです。真理の追求がサイエンスの本質とはいえ、歴史を顧みれば明らかのように、真理が通説になるとは限りません。2007 年にヒストン H2AX が、ゲノム損傷ストレス下でアセチル化に依存してシグナル因子のように振る舞うことを示し、これまでのヒストンの概念を変える、ヒストンタンパク質の新たな役割を提唱しましたが、ゲノムストレス応答の分野で決して通説にはなりません。2016 年に続編として、TIP60 による H2AX のアセチル化を介した PARP-1 との連携がシグナル因子としての H2AX の動的振る舞いを制御することを明らかにし、今回の論文は、さらにその続編です。他人の立てた仮説に寄り添うのではなく、時間をかけながらも自ら打ち立てたモデルをさらに更新し、真理を追求し続けるこそサイエンスだと信じています。シグナル因子としてのヒストン H2AX の動的な振る舞いが、がん抑制に関わることが見えてきたことで、動的生命像に視点を置いた研究が、社会的貢献度の高い研究に発展していくことを願います。(井倉毅)

### <論文タイトルと著者>

タイトル：Impact of Nuclear *De Novo* NAD<sup>+</sup> Synthesis via Histone Dynamics on DNA Repair during Cellular Senescence To Prevent Tumorigenesis (ヒストンダイナミクスにより制御される核内のNAD新規合成酵素の活性化はDNA損傷の正確な修復に寄与し老化の異常加速及びがん化を抑制する)

著者：Masae Ikura, Kanji Furuya, Tomonari Matusda, Tsuyoshi Ikura

掲載誌：Molecular and Cellular Biology DOI : 10.1128/mcb.00379-22