

新規の転写制御因子 Med26 と腫瘍性疾患との関わりについて

高橋 秀 尚

横浜市立大学大学院医学研究科 分子細胞生物学分野

要 旨： 遺伝子発現の制御機構の破綻は、がんや白血病などの腫瘍性疾患を引き起こす要因となる。近年、非常に多くの腫瘍関連遺伝子領域で、RNAポリメラーゼIIが転写開始直後に一時停止しており、その一時停止が転写伸長因子によって解除され、腫瘍関連遺伝子の発現が促進されることが、腫瘍発症要因の一つであることがわかってきた。本稿では転写制御因子 Med26 が転写伸長因子を含む複合体を腫瘍関連遺伝子を含むさまざまな遺伝子領域にリクルートすることによって、どのように転写を制御するのかについて説明し、本機構が腫瘍性疾患の発症にどのように関わるのかについて、これまでの知見を述べたい。

Key words: 転写 (transcription), 転写伸長 (transcription elongation)

はじめに

近年のゲノムワイドなChIPやRNAシーケンス解析によって、非常に多くのヒトの遺伝子において、転写開始直後にRNAポリメラーゼII(以下、Pol II)が一時停止(Pausing: ポーシング)していることが明らかとなった。Pol IIの一時停止が解除され、Pol IIが新生RNAの合成を再開するためには転写伸長因子の働きが必要である。これまでの研究によって、メディエーター複合体のサブユニット Med26 が、転写伸長因子を含む複合体 Super elongation complex (SEC) を腫瘍関連遺伝子領域に引き寄せ(リクルート)、Pol IIの一時停止を解除することがわかった¹⁾。本稿では、Med26とSECが腫瘍関連遺伝子の転写を制御することによって、がんや白血病などの腫瘍性疾患の発症や増殖に関わる機構について述べる。さらに、われわれはMed26と結合する新規の転写伸長因子複合体 Little elongation complex (LEC) を同定した²⁾。興味深いことに、Med26はLECをSECとは異なる種類の遺伝子領域にリクルートすることによって、その発現を制御することがわかった。本稿ではMed26がSECとLECを使い分けることによって、どのように遺伝子発現を制御するのかについても述べる。

1. 転写伸長の制御について

タンパク質をコードする全ての遺伝子はPol II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。転写開始までの過程で、転写因子の作用によって、さまざまな因子が転写調節領域(プロモーター領域)へとリクルートされ、それらの因子の働きによってプロモーター領域のヌクレオソーム構造が解かれる。すると、基本転写因子と共にPol IIがプロモーター領域へとリクルートされ、転写開始前複合体が形成され、Pol IIによる転写が開始される(図1-①)。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、これはプロモーター近傍での一時停止と呼ばれている(図1-②)。この現象は、当初、ヒートショック遺伝子 *Hsp70* や原がん遺伝子 *c-Myc* や *Fos* において発見されたが、近年のゲノムワイドなシーケンス解析により、発現制御遺伝子や細胞増殖に関わる血清応答性遺伝子など非常に多くのヒト遺伝子(約30%と示唆)でみられることがわかった⁴⁾。Pol IIの一時停止の解除には、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が、転写伸長因子がどのようにして特定の遺

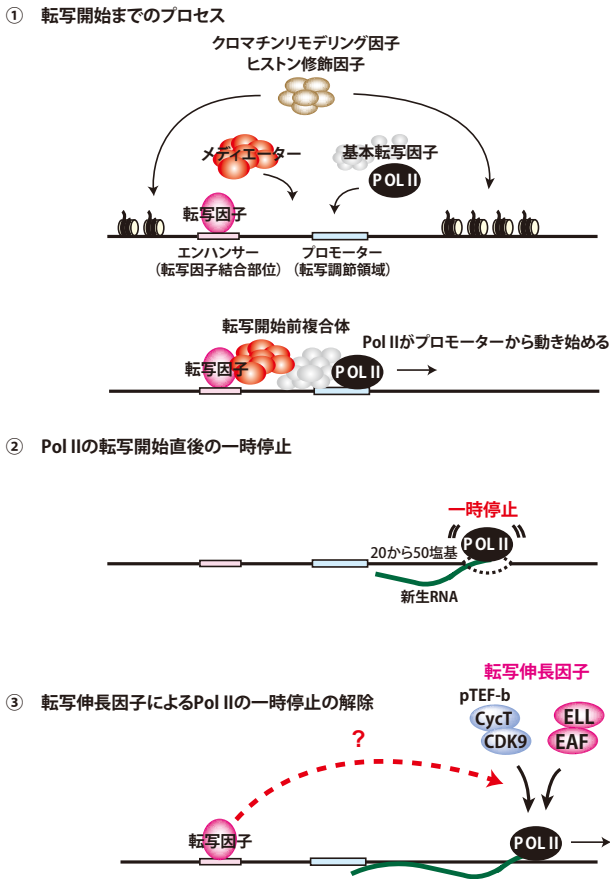


図1：Pol IIの転写開始後のプロモーター近傍における一時停止
 ①転写開始までの過程では、転写因子によって、クロマチンリモデリング因子やヒストン修飾因子、メディエーター転写複合体などのコアクチベーターがプロモーター領域にリクルートされる。さらに、基本転写因子群やPol IIがプロモーター領域へとリクルートされ、転写開始前複合体が形成されると、Pol IIによる転写が開始される。②Pol IIは転写開始直後に、転写伸長を抑制する因子などの作用により、プロモーター近傍で一時停止する。③Pol IIの一時停止は転写伸長因子の働きによって解除される。

伝子のプロモーター領域やその近傍にリクルートされるのかについて未知であった(図1-③)。

2. Med26はc-Mycなどの腫瘍関連遺伝子領域にSECをリクルートする

メディエーター転写複合体は約30個のサブユニットから構成される巨大なタンパク質複合体である。メディエーターは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(Mediate)し、伝達することで転写開始の過程で重要な役割を果たす。興味深いことに、メディエーターのサブユニットのMed26は、他の転写伸長因子のTFIISやElongin Aと相同性を有していた。さらに、Med26を含むメディエーターは、多くのPol IIと結合し、転写活性化において重要な役割を果たしていることがわかってきたが、そのメカニズムは不明であった。Med26に結合

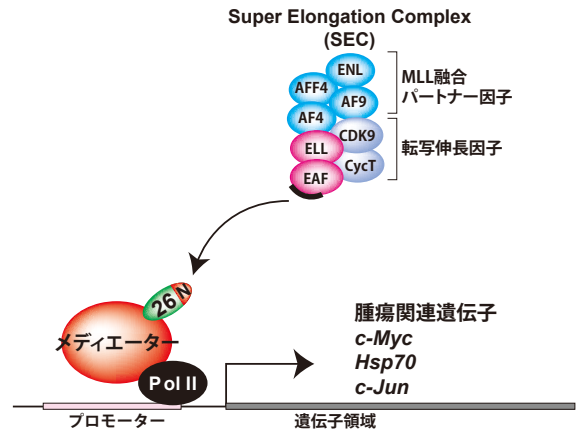


図2：Med26によるSECの腫瘍関連遺伝子領域へのリクルート
 SECはMed26によってプロモーター領域にリクルートされ、Pol IIの一時停止を解除し、遺伝子の転写伸長を促進する。

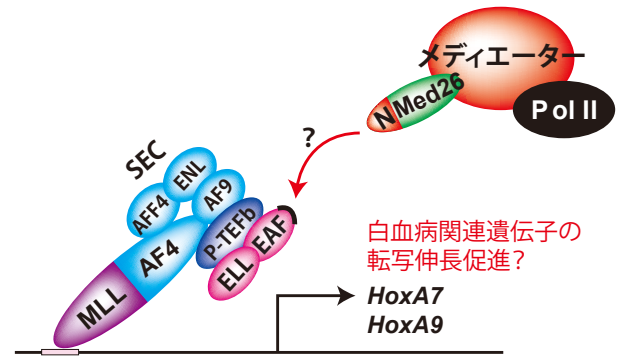


図3：Med26によって白血病関連遺伝子の転写伸長が促進される可能性

MLL融合タンパク質によって、Med26を含むメディエーター-Pol II複合体は白血病関連遺伝子領域にリクルートされ、それらの転写伸長を促進する可能性が考えられる。

するタンパク質の網羅的解析を行ったところ、Med26は転写伸長因子を含む新規複合体SECと結合することがわかった¹⁾。SECはわれわれを含む複数のグループによって同定された複合体で、転写伸長因子のELL/EAFや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³⁾。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Mixed Lineage Leukemia (MLL) 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。転座の結果生じるMLL融合タンパク質は小児難治性白血病の混合型急性白血病を引き起こすことが知られている³⁾。興味深いことに、Med26は、腫瘍増殖に関連するc-Mycやc-Jun遺伝子、腫瘍細胞の熱ストレス耐性に関与するHsp70遺伝子などの領域にSECをリクルートし、Pol IIの一時停止を解除し、転写伸長を促進することがわかった(図2)¹⁾。

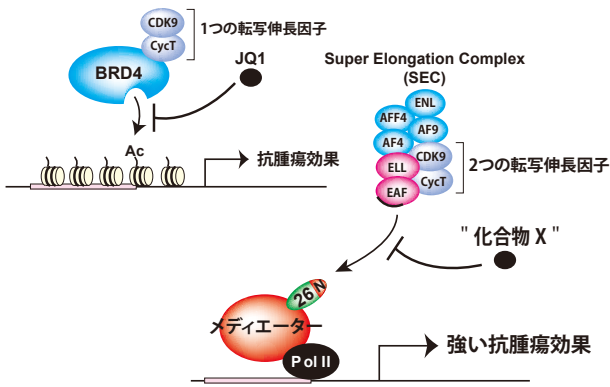


図4：Med26を標的とした抗腫瘍薬開発の展望

Med26によるSECのリクルートを阻害する化合物はJQ1よりも強い抗腫瘍効果が期待できる。

3. Med26やSECの混合型急性白血病との関わり

最近の研究によって、転座の結果生じるMLL融合タンパク質によってSECがHoxなどの白血病関連遺伝子領域に異常にリクルートされ、それらの遺伝子の発現を亢進させることが混合型急性白血病の発症メカニズムの1つであることがわかった⁴⁾。さらに、Med26もMLL融合タンパク質によってHoxなどの白血病関連遺伝子領域にリクルートされることが判明した⁵⁾。ところが、MLL融合タンパク質によってMed26が遺伝子領域へリクルートされることは、混合型急性白血病の白血病化には必須ではないこともわかってきた⁵⁾。今後、混合型急性白血病において、MLL融合タンパク質がMed26を含むメディエーター-Pol II複合体を白血病関連遺伝子領域にリクルートするのか、Med26を含むメディエーター-Pol II複合体が、実際にHoxなどの白血病関連遺伝子の転写促進に関わっているのかについて詳細に解明することが重要となる(図3)。

4. Med26によってリクルートされるもう一つの転写伸長因子複合体LECの同定

最近、われわれはMed26に結合するもう一つの転写伸長因子複合体Little elongation complex (LEC)を同定した。LECはSECと共通のコンポーネントの転写伸長因子ELL/EAFを有し、さらにICE1とICE2をコンポーネントとして有す。興味深いことに、Med26はLECをsmall nuclear RNA (snRNA)などのnon-coding RNA遺伝子領域にリクルートすることがわかった²⁾。snRNAはRNAスプライシングに必須のnon-coding RNAであり、腫瘍細胞の増殖に関わっていることが知られている。さらに、がん抑制因子p53がMed26によるLECのリクルートを阻害することによって、snRNA遺伝子の発現を抑制することが

判明し、p53のがん抑制因子としての機能がLECの機能阻害によって発揮されることもわかった⁶⁾。このようにMed26は、2つの異なる転写伸長因子複合体SECとLECを、それぞれ異なる遺伝子領域にリクルートすることによって、腫瘍関連遺伝子の発現を亢進していると考えられる。今後、Med26がどのようなメカニズムによってSECとLECの標的遺伝子の特異性を決定しているのかについて明らかにすることが重要となる。

5. Med26を標的とした創薬開発の展望

BET (Bromodomain and Extra-Terminal motif) タンパク質ファミリーのBRD4は転写伸長因子P-TEFbを遺伝子領域にリクルートすることによって、Pol IIの転写伸長を促進する。この時、BRD4はアセチル化されたヒストンタンパク質と結合することによって遺伝子領域に局在し、P-TEFbを遺伝子領域にリクルートする。最近、BRD4とアセチル化ヒストンタンパク質との結合を特異的に阻害する化合物JQ1 (BET阻害剤)が、急性白血病の増殖を強く抑制することがわかった⁷⁾。Med26は、SECをリクルートすることによって、2つの転写伸長因子P-TEFbとELL/EAFを同時に腫瘍関連遺伝子領域にリクルートし、それらの遺伝子発現を促進することから、Med26とSECとの結合を阻害する化合物は、JQ1よりも強い抗腫瘍効果を発揮することが期待できる(図4)。メディエーターの他のサブユニットCDK8の阻害剤が、急性骨髄性白血病の増殖を強く抑制することが報告されたことから、Med26を標的とする化合物も抗腫瘍効果を発揮する可能性が考えられる⁸⁾。

6. 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ている^{9, 10)}。われわれのこれまでの研究から、Med26はSECやLECを遺伝子領域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も関与している可能性が考えられ、今後の解析が重要となる。

文 献

- 1) Takahashi H, Parmely TJ, Sato S, et al: Human Mediator Subunit MED26 Functions as a Docking Site for Transcription Elongation Factors. *Cell*, **146**: 92 - 104, 2011.
- 2) Takahashi H, Takigawa I, Watanabe M, et al: MED26

- regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex. *Nat Commun*, **6**: 5941, 2015.
- 3) Lin C, Smith ER, Takahashi H, et al: AFF4, a component of the ELL/P-TEFb elongation complex and a shared subunit of MLL chimeras, can link transcription elongation to leukemia. *Mol Cell*, **37**: 429 – 437. 2010.
 - 4) Yokoyama A, Lin M, Naresh A, et al: A higher-order complex containing AF4 and ENL family proteins with P-TEFb facilitates oncogenic and physiologic MLL-dependent transcription. *Cancer Cell*, **17**(2): 198 – 212, 2010.
 - 5) Okuda H, Takahashi S, Takaori-Kondo A, et al: TBP loading by AF4 through SL1 is the major rate-limiting step in MLL fusion-dependent transcription. *Cell Cycle*, **15**(20): 2712 – 2722, 2016.
 - 6) Anwar D, Takahashi H, Watanabe M, et al: p53 represses the transcription of snRNA genes by preventing the formation of little elongation complex. *BBA Gene Regulatory Mechanisms*, **1859**: 975 – 982, 2016.
 - 7) Asangani IA, Dommeti VL, Wang X, et al: Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer. *Nature*, **510**(7504): 278 – 282, 2014.
 - 8) Pelish HE, Liao BB, Nitulescu II, et al: Mediator kinase inhibition further activates super-enhancer-associated genes in AML. *Nature*, **526**(7572): 273 – 276, 2015.
 - 9) Hashimoto S, Boissel S, Zarhrate M, et al: MED23 mutation links intellectual disability to dysregulation of immediate early gene expression. *Science*, **333**: 1161 – 1163, 2011.
 - 10) Mäkinen N, Mehine M, Tolvanen J, et al: MED12, the mediator complex subunit 12 gene, is mutated at high frequency in uterine leiomyomas. *Science*, **334**: 252 – 255, 2011.

Abstract

ROLE OF HUMAN MEDIATOR SUBUNIT MED26 IN TRANSCRIPTION REGULATION AND ITS INVOLVEMENT IN THE MECHANISM OF TUMOR ONSET

Hidehisa TAKAHASHI

*Department of Molecular Biology,
Yokohama City University Graduate School of Medicine*

Dysregulation of the mechanism of gene expression is a cause of malignancies, including cancers and leukemia. Recent studies have shown that RNA polymerase II (Pol II) pauses immediately after transcription initiation in many genes, including tumor-associated genes, and paused Pol II is released by transcription elongation factors. Excessive release of paused Pol II by transcription elongation factors causes the overexpression of tumor-associated genes and results in the onset of various tumors. In this paper, our findings on the mechanism of how transcriptional regulatory factor Med26 is correlated with the onset of tumors by recruiting novel transcription complexes containing transcription elongation factors to the tumor-associated genes are described.