

研究題目 VIKING 法による高効率ゲノム編集を利用した骨格筋における アンドロゲン受容体のパイオニア因子の探索

研究組織

研究代表者：横山 敦（東北大学大学院医学系研究科）

共同研究者：松久 宗英、沢津橋 俊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

AR をはじめとする核内受容体は、これまでリガンドと結合することで DNA 上の結合配列に結合し標的遺伝子の発現を制御すると考えられてきた。だが近年、これらの結合配列近傍には“パイオニア因子”と呼ばれる別の転写因子群が存在し、核内受容体の組織特異的な転写調節能を規定していることが明らかとなってきた。しかしながら、骨格筋における AR のパイオニア因子の詳細は全く不明である。この因子は骨格筋のアンドロゲン応答能を規定していると予想され、これを標的とした化合物は将来的に副作用のない筋力強化を実現し超高齢化社会のフレイル対策に貢献できる可能性がある。

申請者は、これまでの研究においてマウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞を用いたプロテオミクス解析により AR のパイオニア因子の候補群約 10 因子の同定に成功している。この候補因子の中から、真のパイオニア因子を同定するためには、それぞれの遺伝子欠損細胞株を樹立しアンドロゲン応答能について評価する実験が必要となる。

これまで申請者らは、昨年度の本共同利用において高効率ゲノム編集法により遺伝子欠損株を 5 種類の候補因子について樹立することに成功している。本年度では、さらに 5 種類の遺伝子について遺伝子欠損株を樹立し、アンドロゲン応答を評価することで骨格筋における AR のパイオニア因子を同定することを目的とする。

[1-2] 研究の方法・経過

マウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞を用いて、パイオニア因子の可能性がある DNA 結合性転写因

子を探索すると、10 因子の候補を抽出することができおりこれらの因子群に関して、それぞれ VIKING 法を利用したゲノム編集により遺伝子欠損 C2C12-AR 細胞株を樹立している。これまで 5 種類の遺伝子について遺伝子欠損細胞を樹立していたが、本年度はさらに 3 遺伝子について欠損細胞を樹立しアンドロゲン応答能の評価を進めている。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

我々はこれまでに、マウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞を用いたプロテオミクス解析により AR のパイオニア因子の候補群約 10 因子の同定に成功しており、この候補因子の中から真のパイオニア因子を同定するためには、それぞれの遺伝子欠損細胞株を樹立しアンドロゲン応答能について評価する実験が不可欠となる。このために徳島大学にて開発された高効率ゲノム編集法である VIKING 法が有効であると考えている。

昨年度の本共同利用において樹立した遺伝子欠損株を 5 種類に加えて、本年度では、さらに 3 種類の遺伝子について遺伝子欠損株を樹立し、アンドロゲン応答を評価することで骨格筋における AR のパイオニア因子を同定することを目指す。残る 2 遺伝子についても引き続きゲノム編集による遺伝子欠損株の樹立を継続していく予定である。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本年度の研究期間では、得られた候補因子群全てに対する遺伝子欠損細胞株を樹立するには至らなかったが、本研究課題を引き続き継続することで目的のパイオニア因子の同定へと至ることが可能と考えている。

また、本共同研究から得られた候補因子群のなかには IDR を有し相分離に関与する可能性のある因子も複数取得することができた。これらについて議論した結果、沢津橋博士が行っている OptoDroplet 法により相分離能の有無の評価を行い、LLPS に関与するパイオニア因子の同定に関する共同研究に繋がっているおり、現在別研究課題として進行中である。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

- 1) Period 1 (PER1): a novel glucocorticoid-responsive gene involved in cortisol-induced proliferation of androgen-independent human prostate cancer DU145 cells

Hata S, Shimada H, Yokoyama A, Nakamura Y*.

Histol Histopathol, in press

- 2) タバコ煙成分によるアンドロゲン受容体活性化メカニズムの解析

横山敦

令和 6 年度喫煙科学研究財団年報研究年報 (公益財団法人喫煙科学研究財団)、(2024)

- 3) RIME 法を利用したタンパク質間相互作用解析

横山敦

組織細胞化学 2024 (日本組織細胞化学会)、143-150、(2024)

[3-2]学会発表

1. 横山 敦 : 「化合物スクリーニングを利用した内分泌代謝疾患における核内受容体および代謝応答性転写因子の機能解析」
第 97 回日本生化学会大会、シンポジウム「核内受容体研究の新展開」(2024 年 11 月 6 日、横浜)(シンポジウム、口頭)
2. 横山 敦, 阿部 優香, 寒河江 向燿, 小林 研太郎, 菅原 明 : 「タバコ煙抽出液によるアンドロゲン受容体制御メカニズムの解析」
日本レチノイド研究会第 35 回学術集会 (2024 年 10 月 12 日、東京)(一般口頭発表)
3. Atsushi Yokoyama, Yuka Abe, Koyo Sagae, Kentaro Kobayashi, Akira Sugawara :

「Analysis of androgen receptor regulatory mechanisms by tobacco smoke condensates.」

EMBO Workshop Nuclear Receptors: No Disease is Safe (2024 年 9 月 24 日、ツェンタット、クロアチア)(ポスター発表、flash talk (口頭))

4. Atsushi Yokoyama : 「Development of an anti-diabetic kidney disease drug by targeting transcriptional activity of carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP)」

IGBMC seminar (2024 年 9 月 20 日、フランス、ストラスブール)(招待講演、口頭)

5. 横山 敦 : 「RIME 法を利用したタンパク質間相互作用解析」

第 49 回組織細胞化学講習会 (2024 年 8 月 9 日、仙台)(招待講演、口頭)

6. 横山 敦, 阿部 優香, 寒河江 向燿, 小林 研太郎, 菅原 明 : 「タバコ煙成分によるアンドロゲン受容体制御メカニズムの解析」

日本アンドロロジー学会第 43 回学術大会 (2024 年 6 月 8 日、東京)(一般口頭発表)

[3-3]成果資料等
なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今後に関しては、取得された因子群のなかから骨格筋細胞における AR のパイオニア因子の同定することを引き続き最優先に考えて継続する。その後、アンドロゲン応答の評価することで絞り込みを行うことで目的因子を同定することが可能であると考えている。

また、IDR に関しては、OptDroplet 法による相分離能の評価の共同研究を発展させて進めていくことを予定している。