

【目的】これまでに我々は、腎組織の再生メカニズムの解明を目的として網羅的オープンクロマチン解析 (ATAC-seq) とエピゲノム解析 (ChiP-seq) を行い、クロマチンが閉じた状態から再生を開始させるためには、Kruppel-like factors (KLF) ファミリーの属する KLF15 とその標的遺伝子のアドレナリン受容体が鍵であること、アドレナリン受容体の作動薬を損傷後の腎組織に作用させると再生が促進されることを発見した (Suzuki N., PNAS, 2022)。この研究では標的遺伝子として、Sin3A Associated Protein 25 (SAP25) や H1.5 linker histone (h1-5) など、エピゲノム制御に関わる遺伝子が含まれることも示している。なかでも SAP25 は、抑制型クロマチン構造を形成する転写因子 Sin3A と直接結合するだけでなく、ストレスシグナル依存的に KLF 型の転写因子と共に核内構造体のひとつ promyelocytic leukemia protein (PML) 核内ボディに局在することが知られている。PML ボディは、抗ウイルス応答、DNA ダメージ応答、アポトーシス、老化などの細胞ストレスを感知し遺伝子の発現を制御する足場として働くことが知られており、近年は液-液相分離で形成されるメンブレンレス核オルガネラの1つであることが指摘されている。これら状況を鑑みるに我々が発見した、クロマチンオープニング因子 KLF やその標的遺伝子である SAP25 は、組織損傷によるストレスシグナルにより損傷応答・再生エンハンサーに結合するとともに、PML ボディなど液-液相分離で形成される核内構造体を介して、組織再生へと導く可能性を示唆するものである。しかしながら、組織再生における核内構造体の役割や損傷応答・再生エンハンサーが集積する意義については明らかになっていない。そこで本研究課題では、我々が発見した再生促進遺伝子 KLF15 の標的遺伝子 SAP25・Sin3a 複合体を起点として、損傷シグナルから、再生可否の決定、再生へと導くまでの再生初期段階における PML ボディを含む核内構造体の役割の解明を目的として行った。

【方法】腎組織再生においていずれのゲノム領域が核構造体集積するのか明らかにするために、High-salt-recovered-sequence (HRS-seq/nuclear body-associated genomic sequences) を行った。腎組織の再生を生体イメージングできる Xla.Tg (Xtr.pax8:EGFP) トランスジェニック系統を用いて、損傷を与える前の近位尿管領域の組織、再生中の組織、損傷を与えずに 48 時間培養した組織をそれぞれ採取した。また、損傷ストレス・再生特異的なスプライシングバリエーションならびにイントロン残留型前駆体 mRNA の同定を目的として、ロングリード RNA-sequence (ISO-seq) を行った。

【結果】HRS-seq の解析により、損傷ストレス・再生特異的に核構造体集積するゲノム領域を同定した。さらにスーパー・エンハンサー領域との比較を行ったところ、スーパー・エンハンサー領域のなかでも特定の領域が核内構造体集積する傾向があることがわかった。また、ISO-seq の解析により、損傷ストレス・再生依存的なスプライシングバリエーション、イントロン残留型 mRNA 前駆体と予想される転写産物が認められた。

損傷ストレス・再生依存的に核内構造体集積するゲノム領域の同定

