

【目的】 ヒトゲノムの98.5%は、タンパク質をコードしない領域である。この領域はこれまで大半が機能を持たない「ジャンク」と捉えられてきた。しかし、ENCODEプロジェクトの成果などから、多数の生物種でこの非コード領域から莫大な種数の「長鎖非コードRNA (lncRNA : long non-coding RNA)」が合成されていることがわかった。種々の細胞シグナルに応じて、lncRNA がエピゲノムや遺伝子発現制御に関わることが示されつつあるが、その役割は依然として不明な点が多い。我々は、分裂酵母においてグルコース飢餓時に発現誘導される *fbp1*⁺ 遺伝子領域において、グルコース豊富時にはアンチセンス鎖 lncRNA (asRNA) が合成されていること、またグルコース飢餓にตอบสนองして早期に5' 上流域からセンス鎖 lncRNA がカスケード的に合成され、これと共役してクロマチン構造の段階的な再編成が生じ、最終的に大規模な mRNA の転写が起こることを示した (Hirota et al., *Nature* 2008)。この lncRNA は mlonRNA (metabolic stress-induced long ncRNA) と命名された。本研究では、同様の機構の普遍性を動物細胞で検証するため、膵β細胞における mlonRNA 様の lncRNA の探索と発現制御機能の解析を行った。

【方法】 マウス膵β細胞株 MIN6 を、0~4 mM グルコースを含む DMEM で培養し、0、1、2、4、9 時間後に細胞を回収して全 RNA を回収した。この RNA を用いて、次世代シーケンサーを用いた RNA-seq により遺伝子発現を網羅的に解析した。次に、RNA-seq の時系列データを用いて、グルコース飢餓によって発現誘導を受ける遺伝子群を抽出した。さらに上流域に長鎖非コード RNA の発現が認められる染色体領域を、情報科学的手法により探索した。これらの遺伝子座については、qPCR、5'-RACE、ノザンハイブリダイゼーションでさらに定量的な解析を行った。

【結果および考察】 RNA-seq データの解析から、マウス膵β細胞由来の MIN6 細胞をグルコース飢餓に暴露すると、数時間のうちに炎症応答やアポトーシス、小胞体ストレスに関係する転写因子など (*Trib3*, *Atf5*, *Atf4*, *Chac1* など) の発現が誘導されることが明らかになった。これらのうち、少なくとも8種の遺伝子に関しては、ノザンプロットングを行い、連続的な長鎖 RNA の存在を確認した。また、5'RACE によって転写開始点の決定を行い、プロモーター領域からの転写開始を確認した。*Trib3* 転写物に関しては、上流域で RNAi を実施したところ、全領域の転写物の発現量の低下が生じることが明らかになった。これらの転写物には分裂酵母で見出された mlonRNA 様 lncRNA 候補が存在するものと思われる。グルコース飢餓に応じて発現誘導される一群の遺伝子の上流に、mlonRNA 様の転写物が共通に見出された。これらの遺伝子群を遺伝子オントロジー解析すると、細胞死、炎症応答、小胞体ストレスなどの経路が高い関連性を示した。2型糖尿病の初期段階では、食後高血糖など部分的な血糖値の調節の不全が見られる。膵臓β細胞に対して、血糖値の激しい変動が炎症応答やアポトーシスなどの細胞疲弊を引き起こす可能性があることを、遺伝子レベルで示したことになる。その際に、代謝ストレス応答性の lncRNA が遺伝子発現制御に関わっている可能性があり、β細胞疲弊のメカニズム解明や、2型糖尿病の進行との関係性について将来的な解析が必要になると思われる。

mlonRNA 様転写物 (*印) が確認できた遺伝子群の一部

