



令和 5 年 5 月 15 日

報道機関 各位

熊本大学

全遺伝子の発現変動を「見える化」するアプリの開発 ー天然化合物「スルフォラファン」の新たな機能を解明ー

(ポイント)

- ◆ 細胞・組織における全遺伝子の発現情報がシーケンス法で調べられて、公共データベースに集約されます。そのビッグデータを分析するには情報科学の専門知識が必要なため、多くの研究者のハードルになっています。
- ◆ 全遺伝子の発現変動を自動的に解析・可視化するウェブアプリ「RNAseqChef」を開発・公開しました。情報科学の習得の有無にかかわらず、再現性のあるデータ解析を簡便に効率よく実施できます。
- ◆ RNAseqChef を用いて、ブロッコリー等に含まれる天然化合物「スルフォラファン」の作用は細胞・組織の種類によって異なること、小胞体ストレス応答を促進して生体機能を活性化することを明らかにしました。

(概要説明)

熊本大学発生医学研究所細胞医学分野の衛藤 貫 研究員と中尾光善教授は、プログラミング言語を用いて、RNAシーケンス (RNA-seq) 法により取得した遺伝子の発現情報を自動的に解析するウェブアプリ「RNAseqChef」を新たに開発・公開しました (<http://imeg-ku.shinyapps.io/RNAseqChef>)。RNA-seq法は遺伝子の働きを調べる上で、生命科学分野において幅広く用いられる基本的な技術です。国内外の公共データベースには様々な細胞・組織のRNA-seqデータが集約されていますが、情報科学の専門知識が必要なため、多くの研究者が利用するにはハードルがあります。本研究により、情報科学の習得の有無にかかわらず、学生・初心者、医師及び産官学の研究者を含めて、再現性のあるRNA-seqデータの解析が簡便に効率よく可能になります。

ブロッコリー等に含まれる天然化合物「スルフォラファン」は抗酸化や抗炎症、抗肥満など、健康増進につながる多様な効果を有することが報告されてい

ます。その一方で、スルフォラファンが細胞・組織に対してどのようなメカニズムで作用するのかは明らかではありません。RNAseqChefの科学的な有用性を実証するために、公共データベースの中から、スルフォラファンを投与したヒト培養細胞とマウスで取得されたRNA-seqデータを解析しました。その結果、細胞・組織の種類によってスルフォラファンへの感受性や応答が異なることが明らかになりました。さらに、スルフォラファンの作用機序として、抗酸化を促進する制御因子「NRF2」を活性化することが唯一知られています。RNAseqChefによる解析で、小胞体ストレス応答を誘導する制御因子「ATF6」を活性化することが明らかになりました。高脂肪食による肥満マウスにスルフォラファンを投与して得られたRNA-seqデータを調べたところ、肝臓特異的に小胞体ストレス応答の遺伝子発現が促進されることが分かりました。スルフォラファンが生体機能高める分子機序の解明につながると考えられます。

RNAseqChefを無償公開することで、遺伝子発現のビックデータが上記のように簡便に効率よく解析可能となり、医学・薬学・農学などの幅広い生命科学分野の研究の加速、とりわけ、臨床研究のデータ解析、化合物・薬剤の作用機序の解明などへの貢献が期待されます。

本研究成果は、文部科学省科学研究費助成事業、熊本大学発生医学研究所高深度オミクス事業研究助成などの支援を受けて、米国生化学・分子生物学会誌「*Journal of Biological Chemistry (JBC)*」オンライン版に英国（GMT）時間の令和5年5月11日【**日本時間の5月12日**】に掲載されました。また、本研究成果はJBCの「Editors' Picks」にも選ばれました。

（研究の内容及び成果）

私たちの体を構成する細胞はヒトゲノム上の約2万5千個の遺伝子の中から必要な遺伝子を選択して、mRNAを合成し、それを鋳型にしてタンパク質を合成しています。RNA-seq法は細胞に含まれる全てのmRNAの種類と量を調べることができるので、例えば、無処理の細胞と化合物を処理した細胞を比較することで全遺伝子レベルで化合物の影響を検証することができます【**図1**】。また、異なる細胞・組織のRNA-seqデータを比較検討することで、細胞・組織特異的な効果を明らかにすることができます。このため、RNA-seqのデータ解析は、医学・生命科学研究に欠かせない基本的な技術になっています。現在、10万程度のデータセットが国内外の公共データベースに集約されており、今後も飛躍的に増加することから、極めて有益な情報源になります。その一方、RNA-seqのデータ解析には情報科学の専門知識が不可欠であるため、簡単には活用できないという問題があります。そこで、この問題を解決するために、全遺伝子の発

現変動を自動的に解析・可視化するウェブアプリ「RNAseqChef」^{※1}を新たに開発しました。専門的になりますが、RNAseqChefは、2群間の比較解析や3群間の多重比較解析、時系列データの多重比較解析、ベン図解析、エンリッチメント解析など、RNA-seq解析に用いられる機能を包括的に備えており、しかも直感的な操作で利用することができます【図2】。

「スルフォラファン」は、ブロッコリー等の野菜に含まれる栄養成分（イソチオシアネートと呼ばれる一種）で、最近、健康増進に注目される天然化合物です。国内外の研究により、スルフォラファンには抗酸化、抗炎症、抗肥満などの多様な効果を持つことが報告されています。他方、癌細胞はスルフォラファンにより細胞死が誘導されるなど、その作用機序の解明が望まれています。そこで、公共データベースに登録されているRNA-seqデータの統合解析により、スルフォラファンの機能の解明を目指しました。

スルフォラファンで処理したヒト培養細胞（上皮細胞及びケラチノサイト）を用いたRNA-seqデータを解析しました。その結果、両方の細胞に共通するスルフォラファンの作用として、既に知られているように、転写因子NRF2^{※2}を介した抗酸化の活性化を確認しました。さらに、NRF2には依存せず、小胞体ストレス応答が促進されることが分かりました。小胞体ストレス応答は、小胞体内に生じた不良タンパク質の折りたたみや分解を促す役割があります。小胞体ストレス応答の異常は、神経変性疾患や肥満を起こすことが知られています。

次に、高脂肪食による肥満モデルマウスにスルフォラファンを投与した場合のRNA-seqデータを解析しました。肝臓、白色脂肪組織、褐色脂肪組織及び骨格筋の計5種類の組織のデータを用いました。その結果、スルフォラファンは、肝臓で小胞体ストレス応答とその制御因子ATF6^{※3}の活性化、骨格筋で抗酸化とその制御因子NRF2の活性化を起こすことが分かりました。また、白色脂肪組織では、コレステロール合成経路を抑制することが分かりました。全ての組織に共通した作用として、コラーゲンや時計遺伝子の発現抑制が確認されました【図3】。

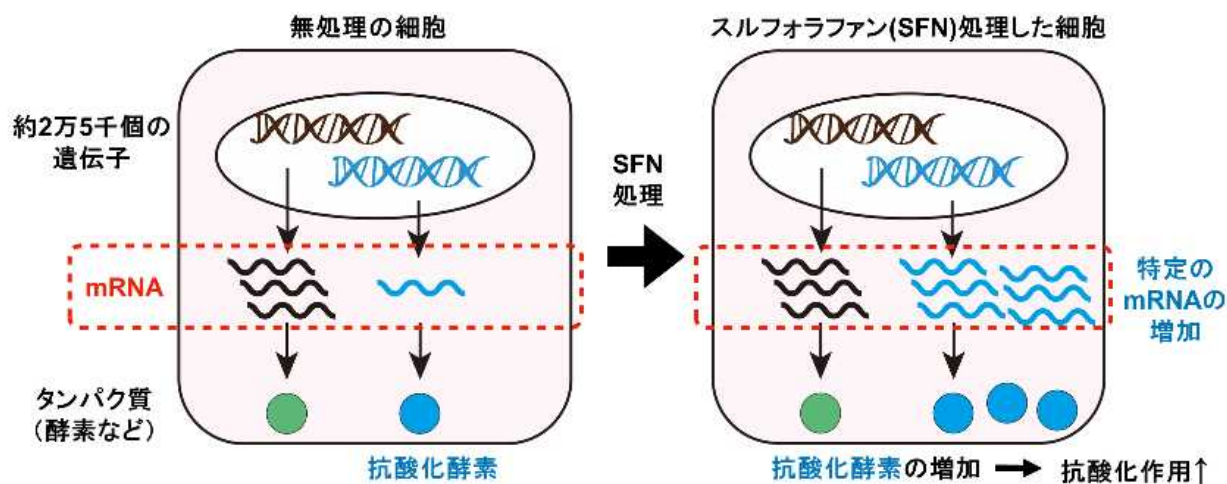
RNAseqChefの解析を用いて、スルフォラファンは、肝臓でATF6が小胞体ストレス応答を活性化して脂肪肝や肥満を抑制すること、また線維化に関わるコラーゲンの遺伝子を抑制することが示唆されました【図4】。

本研究グループは、「エピジェネティクス」とよばれる学問の観点から、ゲノム上の遺伝子の働き方（ON/OFF）、健康と病気のメカニズムについて研究を進めています。今回の研究で開発したRNAseqChefは、すべての研究者・臨床医な

ど、国内外のユーザーがRNA-seq データ解析を速やかに実施できるウェブアプリであるため、生命科学分野で幅広い研究に貢献することが期待されます。

図1

RNA-seq解析: 細胞に含まれる全種類のmRNAを分析する技術



無処理群とSFN処理群の細胞を比較することで、全遺伝子レベルでSFNの作用を検証

図2

ウェブアプリ「RNAseqChef」(RNA-seq data Controller highlighting gene expression features)

RNA-seq解析で用いる機能を包括的に備えて、直感的な操作で実行できる

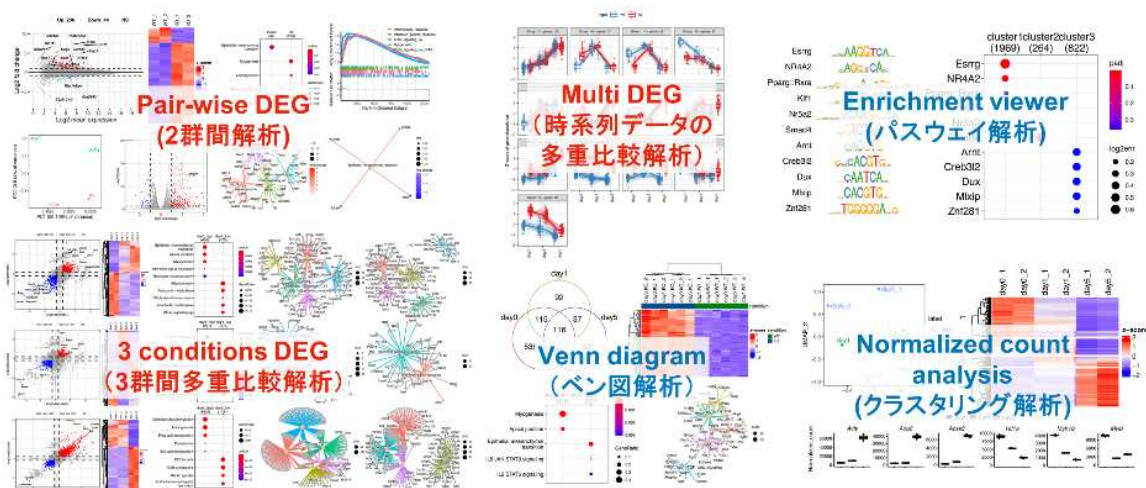


図3

ブロッコリー由来の天然化合物「スルフォラファン」(SFN)の作用機序の解明

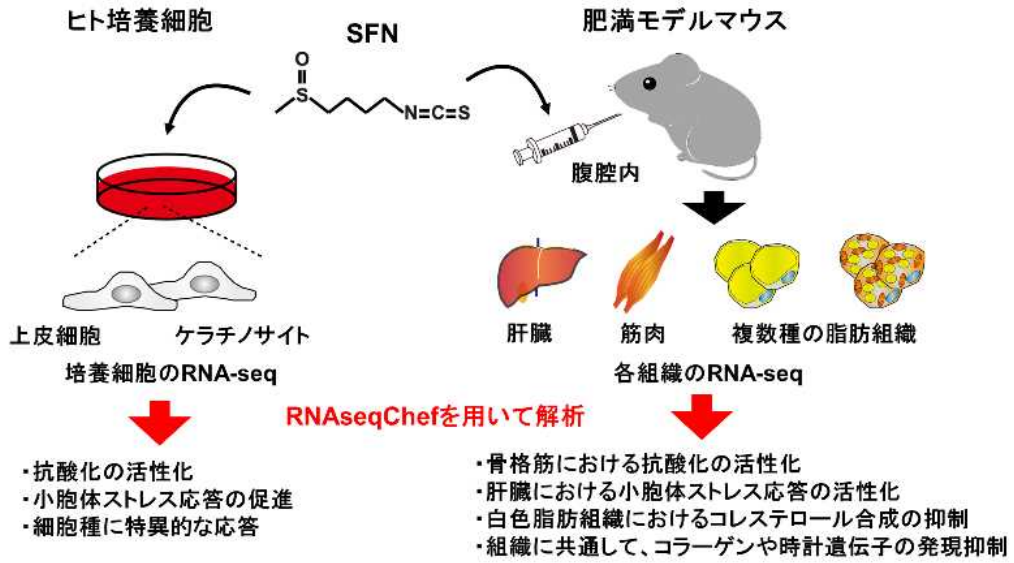
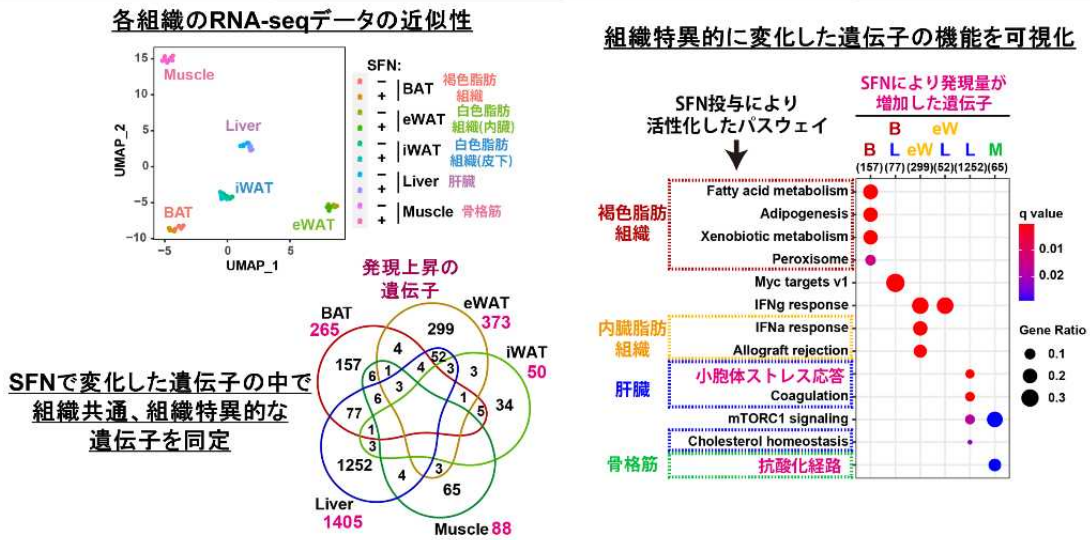


図4

RNAseqChefは全遺伝子レベルでスルフォラファンの作用を「見える化」する



(用語解説)

※ 1 : RNAseqChef

RNA シークエンスのデータ解析を統合的に実行して可視化する新規ウェブアプリケーション。無償公開することで、国内外の医学・生命科学研究の促進が期待できる。

※ 2 : NRF2

NRF2 は酸化ストレスに応答してはたらく転写因子。活性化すると抗酸化作用を持つ遺伝子発現を促進することで細胞を保護する役割を持つ。

※ 3 : ATF6

ATF6 は小胞体ストレスに応答してはたらく転写因子。活性化するとタンパク質の折りたたみを補助する遺伝子や不良タンパク質を分解する遺伝子発現を促進することで細胞を保護する役割を持つ。

(論文情報)

論文名 : **A web-based integrative transcriptome analysis, RNAseqChef, uncovers cell/tissue type-dependent action of sulforaphane**

(トランスクリプトームの統合解析ウェブアプリ RNAseqChef は細胞・組織特異的なスルフォラファンの作用を明らかにする)

著者名 (*責任著者) : Kan Etoh and Mitsuyoshi Nakao*

掲載雑誌 : Journal of Biological Chemistry

DOI : 10.1016/j.jbc.2023.104810

URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925823018380>

【お問い合わせについて】

この研究成果につきましては、熊本大学発生医学研究所細胞医学分野にお問い合わせください。ご説明する機会を予定させていただきます。

【お問い合わせ先】

熊本大学発生医学研究所 細胞医学分野
担当：教授 中尾 光善 (なかお みつよし)
研究員 衛藤 貫 (えとう かん)
電話・FAX : 096-373-6804
e-mail : mnakao@gpo.kumamoto-u.ac.jp

【ご寄附のお願い】

RNAseqChef を無償公開して、国内外のユーザーに広く活用いただくため、必要な維持・拡充費が生じます。医学・生命科学研究の発展のため、賛同いただける場合にはご寄附をお願いいたします。

熊本大学発生医学研究所のホームページ (https://www.imeg.kumamoto-u.ac.jp/imeg_supporters2020/) をご覧いただき、「確認事項」の中の「熊本大学へのメッセージ」欄に「細胞医学分野」と記入ください。ご不明の点は、上記の問い合わせ先にご連絡ください。