

反復配列 RNA の異常発現が膵癌発生を促進するメカニズムを解明

1. 発表者：

岸川 孝弘 (東京大学医学部附属病院 消化器内科 特任臨床医)
大塚 基之 (東京大学医学部附属病院 消化器内科 助教 (特任講師 (病院)))
小池 和彦 (東京大学医学部附属病院 消化器内科
／東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 消化器内科学 教授)

2. 発表のポイント：

- ◆反復配列 RNA と呼ばれるタンパク質情報を持たない RNA が異常発現すると、DNA の変異を蓄積させて癌化を促進させることを、膵癌をモデルとして、新たに見出しました。
- ◆これまでは機能を持たないと考えられ、着目されることの少なかった反復配列 RNA に、「癌化促進」という重大な機能があることを示しました。
- ◆癌になる前段階から発現してくる反復配列 RNA の機能や発現メカニズムをさらに解明することによって「発癌を予防する医療」への展望を拓くと期待されます。

3. 発表概要：

膵癌は抗癌治療の発展した現在においても予後不良であり、難治癌の代表的存在として知られています。この発癌の過程において、単純な配列の繰り返しで構成される反復配列 RNA と呼ばれるタンパク質情報を持たない RNA (ノンコーディング RNA) が、癌になる前段階から異常に発現していることが明らかになってきました。東京大学医学部附属病院 消化器内科の岸川孝弘 特任臨床医、大塚基之 助教 (特任講師 (病院))、小池和彦 教授らの研究グループは、マウスの膵臓の良性腫瘍から樹立した細胞を用いて研究を行い、これまで機能を持たないと考えられてきた反復配列 RNA の一種である MajSAT RNA が、ゲノムやミトコンドリアの DNA の突然変異を蓄積させることで、細胞を癌化させることを見出しました。さらに、その機序として、MajSAT RNA が YBX1 というタンパク質と結合して その細胞内局在を変化させることで、正常な DNA ダメージ修復機能を阻害して、突然変異の蓄積を促進させていることを示しました。これらの結果は、癌化の過程の早期から、反復配列 RNA が いわば「細胞内変異原」として機能し、発癌プロセスを進める機構として重大な働きをしていることを示唆しており、発癌機序の解明、発癌予防という観点からも重要な成果であるといえます。本研究成果は、日本時間 9 月 26 日に *Nature Communications* にて発表されました。

4. 発表内容：

【研究の背景】

膵癌は、現代の発展した抗癌治療をもってしても いまだ難治癌の代表として知られており、その罹患者数は急増しています。膵癌のリスク因子は、肺癌や胃癌、肝臓癌などとは異なり、はっきり分かっているものが少なく、癌化を早期に診断し、あるいは予防するためには、発癌のメカニズムについての解明が急務と考えられます。一方で、反復配列と呼ばれるゲノムの中に同じ配列が繰り返し出現する領域のうち、サテライト配列 (注 1) と呼ばれる領域からの転写産物 (サテライト RNA) が癌、特に膵癌において異常に増加していることが最近報告されました (Ting et al. *Science* 2011; 331(6017):593)。さらに興味深いことに、このサテライ

ト RNA は癌になる前段階の PanIN（注 2）と呼ばれる腺腫様良性腫瘍の段階から発現していることも分かりました。

このことから、本研究グループはサテライト RNA が、前癌細胞の中で何らかの悪影響を及ぼし、癌化を促進させるような未知の機能を持っているのではないかという仮説を立てました。サテライト RNA は染色体のセントロメアという領域に集中して存在し、通常の細胞では強く転写が抑制されている領域です。さらに生命の設計図であるタンパク質の情報がない領域の RNA、すなわちノンコーディング RNA であるため、これまではほとんど機能を持たないと考えられていました。このような、今まであまり注目されることの少なかった領域に着目することで、新しい観点からの発癌機序を解明できるのではないかと考えました。

【研究内容】

まず、遺伝子改変によって膵臓特異的に Kras 遺伝子（注 3）に変異を持つマウスを用いて、膵臓に形成された腫瘍から細胞株を樹立しました。マウスの場合には major satellite RNA

(MajSAT RNA) と呼ばれるサテライト RNA が前癌段階で発現してくるので、この細胞に MajSAT RNA を強制的に発現させることで、組織中で起こる変化を培養環境で観察する系を樹立しました。その結果、MajSAT RNA 発現細胞は足場のない場所での増殖や、細胞密度に捉われない無秩序な増殖など、癌細胞に見られる表現型を獲得することが分かりました。さらに MajSAT RNA を発現させたまま 1 カ月間継続して培養した細胞を用いて、新たに蓄積した突然変異の数を次世代シーケンス解析によって調べたところ、MajSAT RNA を発現していない細胞よりも、ゲノム DNA に変異が多く蓄積していることが分かりました。またミトコンドリア DNA（注 4）についても、やはり MajSAT RNA を発現する細胞の方で変異が多く、かつゲノムコピー数が減少していることが分かりました。

次に、MajSAT RNA 発現細胞で DNA 変異が蓄積するメカニズムを調べるために、MajSAT RNA と結合するタンパク質を質量分析法によって検索したところ、YBX1 という多機能タンパク質が同定されました。YBX1 は通常時は細胞質に存在していますが、酸化ストレスなどのダメージ刺激を受けると核内に移動し、DNA 修復や転写調整などの役割を果たすことが知られています。MajSAT RNA は細胞質でこの YBX1 と結合することによって、ストレス刺激後の YBX1 の核内移行を阻害することが分かりました（図 1）。その結果、細胞内の酸化ストレスレベルは変わらないのに対して、塩基除去修復（注 5）とよばれる DNA 修復機構の遅延が起こることが示されました（図 2）。またこれらの変化は MajSAT RNA 発現細胞に YBX1 を過剰に発現させ、核内移行機能を回復することによって、あるいは、MajSAT RNA と結合しない変異型の YBX1 を発現させることによってキャンセルされることから、YBX1 の機能阻害は MajSAT RNA によって生じていることが示されました。

以上のことから、癌化の初期段階で発現してくる MajSAT RNA の存在によって、酸化ストレスなどで細胞に日常的に加わる DNA ダメージからの回復が遅延し、結果的にゲノムやミトコンドリア DNA の突然変異が蓄積されて、その後の細胞癌化を促進していることが示唆されました。

【社会的意義・今後の予定】

これらの結果は、癌化過程の早期から発現してくる反復配列 RNA が、いわば「細胞内変異原」として機能し、発癌プロセスを進める機構として重大な働きをしていることを示唆しています。膵癌は Kras 遺伝子の変異が最初に起こり、その後さまざまな遺伝子変異が蓄積して発癌にいたると考えられていますが、Kras 変異を契機に反復配列 RNA が発現してくることで後

続の変異が起こる確率が上がるのであれば、発癌予防という観点からも反復配列 RNA の機能を解明していくことは重要であるといえます。また、本発表者らが、今年、膵癌およびその前癌病態の患者さんで血清中に流れる微量なサテライト RNA の量を測定することによって早期診断ができることを報告したように (Kishikawa T, Otsuka M, Koike K et al. *JCI Insight* 2016;1(8):e86646)、癌を早期に見つけるためのマーカーとしても応用できる可能性があります。

今後は、これらの細胞で得られたデータをもとにマウスを用いた組織での検討および他癌腫での検討を加えるとともに、ヒトへの応用、特に発癌抑止医療の確立を目指した制御機構の解明を進めていきたいと考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Nature Communications*

論文タイトル： Satellite RNAs promote pancreatic oncogenic processes via the dysfunction of YBX1

著者： 岸川孝弘、大塚基之*、吉川剛史、大野元子、伊地知秀明、小池和彦 (* 責任著者)

DOI 番号： 10.1038/NCOMMS13006

6. 問い合わせ先：

<研究内容に関するお問い合わせ先>

東京大学医学部附属病院 消化器内科

特任臨床医 岸川 孝弘 (きしかわ たかひろ)

電話：03-5800-8812 E-mail：tkishikawa-tky@umin.ac.jp

助教 (特任講師 (病院)) 大塚 基之 (おおつか もとゆき)

電話：03-5800-8812 E-mail：otsukamo-tky@umin.ac.jp

<取材に関するお問い合わせ先>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当：渡部、小岩井

電話：03-5800-9188 (直通) E-mail：pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

1) サテライト配列： ゲノム上には単純な配列が繰り返し出現する反復配列と呼ばれる領域が幅広く存在し、ヒトでは全ゲノムの約半分が反復配列で占められると言われている。その中でセントロメアと呼ばれる染色体の中心部分に高度に反復して集中的に存在する反復配列はサテライト配列と呼ばれ、ヒトでは Alpha satellite や HSATII、マウスでは minor satellite や major satellite などと呼ばれる複数の配列パターンが知られている。

2) PanIN： pancreatic intraepithelial neoplasia の略。膵癌の前駆病変とされる微小な膵管上皮内良性腫瘍で、進行とともに徐々に異形度が強くなり癌化に至ると考えられている。大腸癌で指摘されている正常→腺腫→癌という発癌プロセス (adenoma-carcinoma sequence) と同じように遺伝子変異が蓄積することによって癌化するモデルの一つと考えられている。

3) Kras 遺伝子： 細胞増殖のスイッチ機能を持つタンパク質で、特定の領域に突然変異を来すと増殖に抑制が効かなくなる。代表的ながん遺伝子の一つで、膵癌においては特に変異の割合が高く、ヒトの膵癌で 90%以上に変異が見られるだけでなく、前癌状態でも半数近くに変異を認める。また、遺伝子改変により Kras 遺伝子に変異を起こしたマウスは膵臓にヒトの PanIN に類似した腺腫様腫瘍を形成する。

4) ミトコンドリア DNA： 真核生物の細胞の中にはミトコンドリアと呼ばれる細胞内小器官が複数存在し、エネルギーの産生やアポトーシスの制御など重要な役割を担っている。ミトコンドリアは核 DNA とは別に独自の DNA を持って分裂、増殖している。核 DNA と比較してダメージを修復するための機構が少ないため、遺伝子の変異が起こりやすいと考えられている。またダメージを受けたミトコンドリア DNA は分解除去されるため、細胞あたりのミトコンドリア DNA のコピー数が減少すると言われている。

5) 塩基除去修復： DNA ダメージを修復する機構はその損傷の程度によって複数存在するが、塩基除去修復 (base excision repair) は DNA を構成する塩基の酸化損傷など、酸化ストレスによって生じる軽微な障害に対して、ダメージを受けた塩基を除去して正常な塩基に差し替えることで修復する機構である。軽微な損傷は高頻度で起こるため、修復が遅延すると点突然変異 (1 塩基の変異) が蓄積する原因となると言われている。

8. 添付資料 :

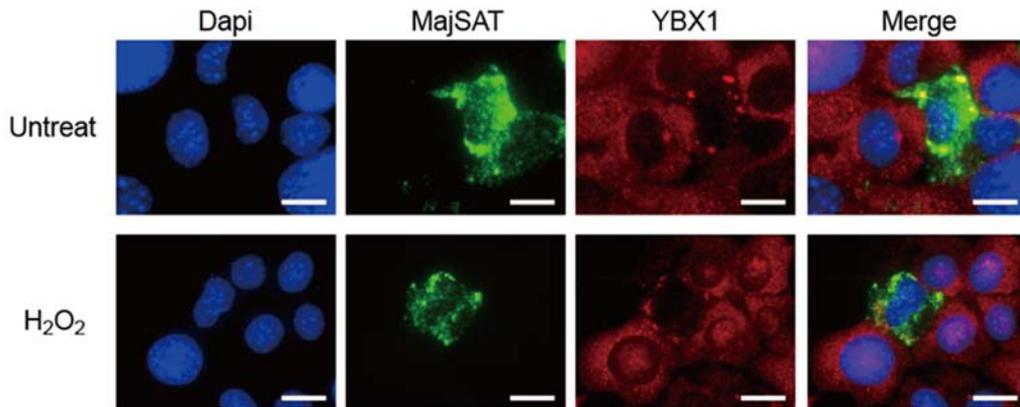


図1. MajSAT RNA 発現細胞では酸化ストレス後の YBX1 の核内移行が阻害される
 MajSAT RNA を緑、YBX1 タンパクを赤の蛍光で共染色した。MajSAT RNA が発現して
 いない細胞では過酸化水素処理後に YBX1 が細胞質から核内に移行しているのに対して、
 MajSAT RNA 発現細胞では YBX1 が細胞質に dot 状に凝縮し、さらにストレス刺激後に核内
 にも移行しなかった。

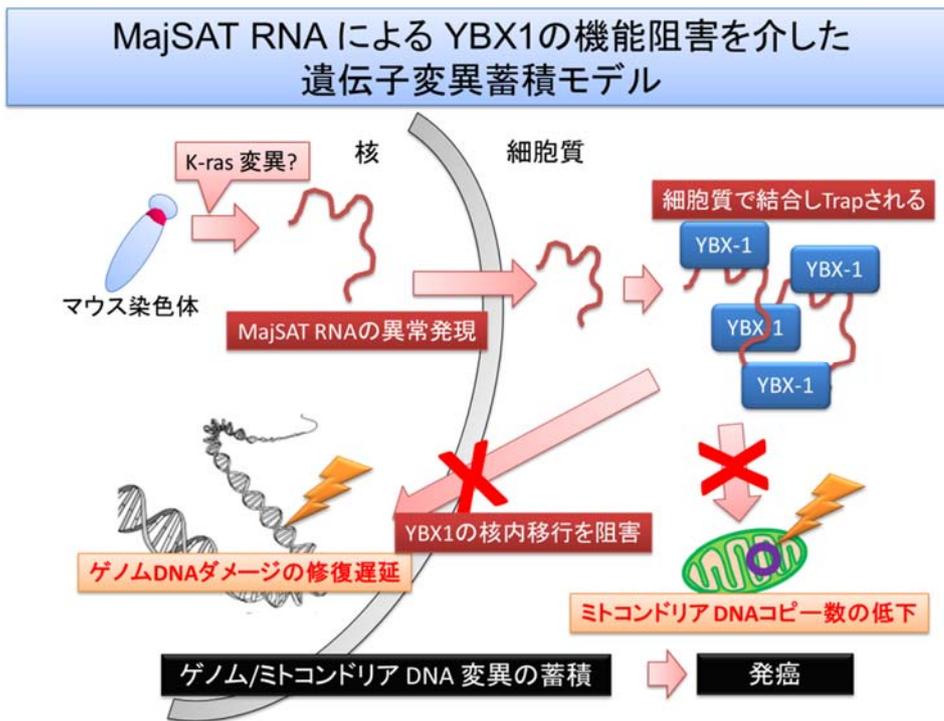


図2. MajSAT RNA による YBX1 の機能阻害を介した遺伝子変異蓄積モデル

マウスゲノムのセントロメア領域から異常発現した MajSAT RNA は細胞質に局在し、YBX1 と結合する。酸化ストレスなどにより DNA ダメージが加わった際、正常ならば YBX1 が核内に移動するが、MajSAT RNA 発現細胞では細胞質に Trap されているため移動できず、結果的にダメージ修復が遅延する。その結果 DNA 変異が蓄積され発癌が促進されると考えられる。