

がん細胞が抗がん剤耐性になるメカニズムの発見

1. 発表者：

山田 俊理（明治薬科大学 日本学術振興会特別研究員（PD））
今町 直登（研究当時：東京大学アイソトープ総合センター 大学院生）
今村 亮俊（東京大学アイソトープ総合センター 協力研究員）
谷上 賢瑞（東京大学アイソトープ総合センター 特任助教）
川村 猛（東京大学アイソトープ総合センター 准教授）
鈴木 穰（東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授）
長浜 正巳（明治薬科大学薬学部 教授）
秋光 信佳（東京大学アイソトープ総合センター 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆がん細胞は、シスプラチンなどの抗がん剤で損傷した DNA を修復することにより、抗がん剤耐性を獲得する。今回我々は、RNA 分解因子 PUMILIO が DNA 修復の仕組みをコントロールしていることを発見した。
- ◆DNA 損傷の修復をコントロールする仕組みとして、これまで注目されていなかった RNA 分解制御が重要であることを示した。
- ◆PUMILIO タンパク質の分解を抑制する手法が、抗がん剤の作用を増強させるものと期待される。この研究を通して、抗がん剤の治療効果を向上させる新しい戦略を提案でき、癌患者の生存率や QOL の向上に貢献することが期待される。

3. 発表概要：

細胞は外界の環境変化に応答するために、細胞内の mRNA（注1）量を調整する必要があります。この mRNA 量を制御する上で重要な因子が RNA 結合タンパク質です。ヒトの細胞内にはおよそ 2,000 種の RNA 結合タンパク質が存在していますが、その多くの生理的機能は分かっていません。東京大学（秋光信佳教授ら）と明治薬科大学（山田俊理研究員、長浜正巳教授）の合同研究チームは、RNA 結合タンパク質が①どのような生理的環境下で、②どの遺伝子群を制御するか、をシステムチックに解析する研究手法の確立に成功しました。そして、発生や神経において重要な役割を果たすことが知られていた RNA 結合タンパク質 PUMILIO に注目して、がん細胞が抗がん剤シスプラチンで障害された DNA を修復する機構を、PUMILIO がコントロールしていることを発見しました。今回の研究成果は、RNA 結合タンパク質に着目した新たな治療法開発の基盤となることが期待されます。

4. 発表内容：

<研究の背景・課題>

細胞はさまざまな外部環境の変化に対応するために、細胞内の因子を必要に応じて分解または安定化させる必要があります。細胞内の mRNA の安定性を制御する上で重要な因子が RNA 結合タンパク質です。RNA 結合タンパク質は数多く存在し、ヒトではおよそ 2000 種類存在します。多くの研究者は RNA 結合タンパク質が細胞内でどの RNA と結合するかを同定してき

ました。その結果、RNA 結合タンパク質は非常に多くの mRNA と結合するということが明らかになりました。例えば、8 RNA 塩基を特異的に認識し、分解を促進する PUMILIO (PUM) は、約 3,000 種の mRNA と結合するという実験結果が得られています。では、PUM はこの結合する 3,000 種全ての mRNA を分解するのでしょうか。また、特定の外部環境の変化により、PUM による分解が阻害されたり促進されたりするのでしょうか。さらに、このような PUM の働きはどのような生理的意味を持つのでしょうか。

<研究内容>

これらの疑問に答えるために、東京大学と明治薬科大学の合同研究チームは、BRIC-seq (注2) と呼ばれる手法を用いて、細胞内に存在する全ての mRNA の安定性を測定しました。その結果、PUM を欠損させた細胞では、約 100 種の mRNA が安定化することを見出しました。この安定化した mRNA のうち、48 種が PUM に結合する mRNA でした。そこで、この 48 種を PUM の分解標的 mRNA としました (図1)。

次に PUM による mRNA 分解を抑制するような生理的条件を探索しました。その結果、シスプラチンなど DNA 傷害を誘起する抗がん剤が PUM による mRNA の分解を阻害することを見出しました。さらに、PUM の標的 mRNA の中でも PCNA (注3) や UBE2A (注4) が安定化されることにより、損傷乗り換え DNA 合成 (注5) が活性化することを発見しました。実際に DNA の合成速度と細胞の生存率を測定した結果、シスプラチン投与下では、PUM の機能が阻害されることで、DNA 合成が促進され、細胞の生存率が上昇することを見出しました。これらの結果から、細胞は DNA 損傷時に PUM を消失させることで mRNA を安定化・増加させ、組み換え DNA 修復を活性化し、細胞が生存できる確率を高めていることを明らかにしました (図2)。

<研究の波及性、創薬への期待>

DNA 損傷修復の研究は、主に、核内における転写やタンパク質の翻訳後修飾による修復コントロールが研究されてきました。今回の研究では、細胞質の mRNA 安定化が DNA 修復において重要な役割を果たすことを明らかにしました。一般に、損傷した DNA から新たな mRNA を産生することは、異常なタンパク質を作り出す危険性があるため、既存の mRNA を安定化させることが生存戦略として有効であると考えられます。今回の研究では PUM に限った mRNA 安定性制御の役割を解明しましたが、今後はよりゲノムワイドな視点で mRNA 安定性と DNA 損傷修復との関係性が研究されることが期待されます。

伝統的な抗がん治療では、DNA に架橋し DNA 複製を阻害することでがん細胞を死滅させる効果がある抗がん剤 (シスプラチンなど) が用いられています。この治療法の課題は、がん細胞が抗がん剤に対する耐性を獲得してしまう点にありました。今回の研究成果により、がん細胞は PUM の発現量を調整することにより、抗がん剤に対する耐性を獲得することが明らかとなりました。そこで、PUM の発現量を制御する治療法の開発により、がん細胞の治療抵抗性を軽減させることで抗がん剤の治療効果を向上させることが期待されます。

5. 発表雑誌:

雑誌名: 「Cell Reports」 (オンライン版: 4月21日)

論文タイトル: Systematic Analysis of Targets of Pumilio-mediated mRNA Decay Identifies Reveals that PUM1 Repression by DNA Damage Activates Translesion Synthesis under DNA damage tolerance stresses

著者: Toshimichi Yamada, Naoto Imamachi, Katsutoshi Imamura, Kenzui Taniue, Takeshi Kawamura, Yutaka Suzuki, Masami Nagahama, Nobuyoshi Akimitsu*

DOI 10.1016/j.celrep.2020.107542

URL [https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(20\)30442-3](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(20)30442-3)

6. 注意事項：

日本時間4月22日（水）午前0時（米国東部夏時間：21日（火）午前11時）以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先：

東京大学アイソトープ総合センター
教授 秋光 信佳（あきみつ のぶよし）
〒113-0032 東京都文京区弥生 2-11-16
Tel: 03-5841-2877
E-mail: akimitsu@ric.u-tokyo.ac.jp

東京大学アイソトープ総合センター事務室庶務係
上席係長 油井 聡（ゆい さとし）
〒113-0033 東京都文京区弥生 2-11-16
Tel:03-5841-2881
E-mail: syomu@ric.u-tokyo.ac.jp

明治薬科大学生体分子学研究室
教授 長浜 正巳（ながはま まさみ）
Tel:042-495-8479
E-mail: nagahama@my-pharm.ac.jp

8. 用語解説：

（注1）mRNA

DNA上に存在する遺伝子情報からRNA合成酵素により産生されたRNAのこと。遺伝情報はmRNAの塩基によってコドンの形式でコードされ、全20種類のアミノ酸に対応している。mRNAは核で合成されてから細胞質へ出て、タンパク質を合成する装置であるリボソームに付着する。ここでmRNAの遺伝情報に従い、特定のタンパク質が合成される。

（注2）BRIC-seq (5-bromouridine immunoprecipitation chase)

東京大学アイソトープ総合センター秋光教授らにより開発された手法。5-bromouridine (BrU)を細胞にパルスしBrU標識された新生RNAをBrU抗体により回収する。穏やかな条件下で細胞内のRNAの安定性（半減期）を解析できる点が特徴である。

（注3）PCNA

DNA合成酵素の補酵素。DNA修復因子や細胞周期の制御因子の多くはDNAに結合するのではなく、PCNAと結合する。PCNAはDNA合成に必須のタンパク質として知られている。

（注4）UBE2A

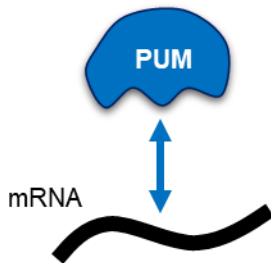
タンパク質をユビキチン化する機能をもつ。損傷乗り換え DNA 合成の際には、PCNA をユビキチン化する。

(注5) 損傷乗り換え DNA 合成

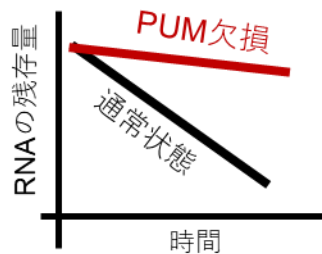
損傷を受けた DNA は DNA 複製を正常に行えない。このような DNA 複製異常はゲノムの不安定化や細胞死を引き起こすため、細胞は損傷部位を乗り越えて DNA 合成を行うことができる。

9. 添付資料 :

PUMに結合するmRNAを同定



PUMにより安定性が制御されているmRNAを同定



PUMに結合する mRNA

PUM欠損時に安定化する mRNA

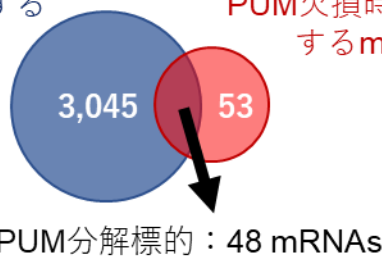


図1. PUM が結合し分解する mRNA を同定する手法

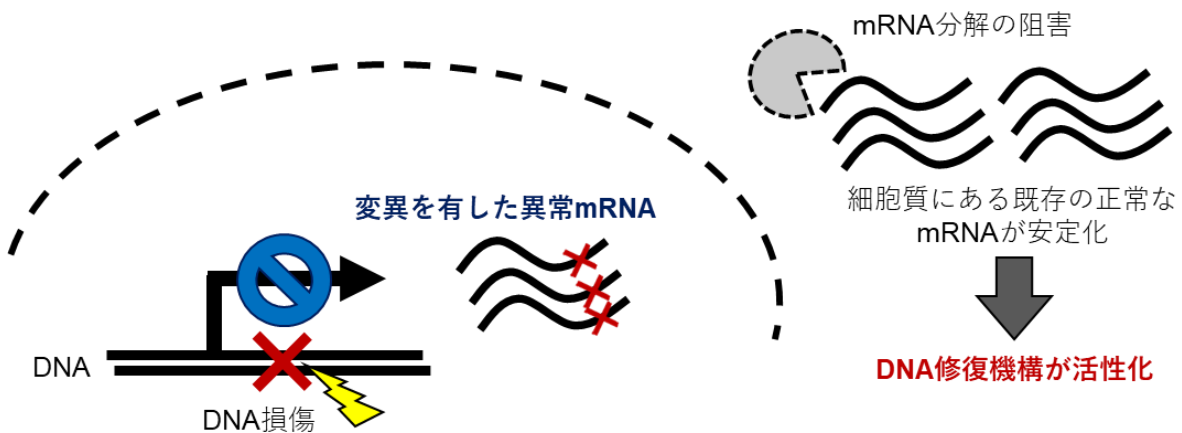


図2. DNA 損傷時の修復として mRNA を安定化させる利点

