

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マウスで確認

1. 発表者：

岸川 孝弘 (東京大学医学部附属病院 消化器内科 (留学中))
大塚 基之 (東京大学医学部附属病院 消化器内科 講師)
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膵臓の前癌病態形成が促進されることを動物モデルで確認しました。
- ◆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、単純な塩基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 (留学中)、大塚基之 講師、小池和彦 教授らの研究グループは、以前、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 と呼ばれる「サテライト配列 (注 1) 由来の RNA」が YBX1 というタンパク質と結合すると、YBX1 のもつ DNA ダメージ修復機能を阻害して、突然変異の蓄積を促進、細胞を癌化させることを見出しました

(Kishikawa et al. *Nat Commun* 2016;7:13006 [※1])。今回は、新たに MajSAT RNA を恒常的に発現するマウスを作製し、このマウスで膵臓に炎症を惹起したところ、膵組織内の DNA ダメージが増え、さらに膵特異的 Kras 遺伝子 (注 2) 変異マウスとの交配で膵臓の前癌病態の形成が促進されることを確認しました。これらの結果は、以前に、細胞レベルの検討で見いだした、反復配列 RNA が「細胞内変異原」として機能し、発癌プロセスを進める重大な働きをしていることを生体でも確認したことになり、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 5 月 10 日に *Molecular Cancer Research* (Online First) にて発表されます。なお、本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 次世代がん医療創生研究事業「次世代の診断・治療・予防法の創生をめざした膵がん特異的リピート RNA の新規探索と応用」、「血中反復配列 RNA の高感度測定による癌の早期診断と囲い込み法の開発」および文部科学省科学研究費補助金等の支援により行われました。

[※1] 2016 年 9 月 26 日プレスリリース http://www.h.u-tokyo.ac.jp/vcms_lf/release_20160926.pdf

4. 発表内容：

【研究の背景】

膵癌は、抗癌治療に著しい革新の見られる現代においても、いまだ難治癌の代表として知られており、しかもその罹患者数は年間約 34,000 人と増加の一途をたどっています。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。本研究グループは、サテライト配列という、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からの転写産物（反復配列 RNA）が、癌、特に膵癌において異常に増加していることに着目し新しい発癌機序を解明してきました。すなわち、癌化の初期段階で発現してくる major satellite RNA (MajSAT RNA) と呼ばれる反復配列 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、その後の細胞癌化を促進していることを以前に示しました (Kishikawa et al. *Nat Commun* 2016;7:13006)。今回は、これら細胞レベルの研究で見いだした癌化機構が実際に生体 (in vivo) でも起きているのかを検証するため、MajSAT RNA を恒常的に発現する遺伝子改変マウスを作製して検討を加えました。

【研究内容】

まず、遺伝子導入によって MajSAT RNA を全身で恒常的に発現するトランスジェニックマウスを作製しました。このマウスは通常の飼育状態では膵臓をはじめとする臓器に慢性的な炎症が惹起され、腋窩や胸腺などにリンパ腫の形成が見られました。次に、膵臓特異的に炎症を惹起する化学物質を与えて検討をしたところ、培養細胞での検討結果と同様に、炎症によって誘導される YBX1 タンパク質の核内移行が阻害され、膵細胞の DNA 障害が蓄積していることが判りました。

次に、膵上皮特異的に Kras 変異が導入され恒常的に Kras タンパク質が活性化しているマウスとの交配による変化を検討しました。その結果、変異型 Kras 単独のマウス (PK) でも見られる膵前癌病態である PanIN (注 3) が、変異型 Kras と MajSAT RNA を両方発現するマウス (PKM) において形成が早まり、かつ、その数も増えることが判りました (図 1)。また、PKM マウスは PK マウスに比べて生命予後が短く早期に致死的になることが示されました (図 2)。

これらの結果は以前に培養細胞でみいだした、癌化の初期段階で発現してくる MajSAT RNA の存在によって、種々のストレス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 の変異が蓄積されて、その後の細胞癌化を促進しているという現象を、マウスを用いた in vivo (生体) 実験でも確認したことになります。

【社会的意義・今後の予定】

本研究の意義は、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が生体 (in vivo) でも示されたこととなります (図 3)。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、反復配列 RNA が発現してくることで前癌病態への移行や癌化が促進されるのであれば、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、膵前癌病態からの反復配列 RNA の存在は、本発表者らがこれまでに、膵癌およびその前癌病態の患者さんから血清中に流れる微量な反復配列 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 [※2])、癌を早期に見つけるためのバイオマーカーとしても応用できる可能性があります。

今後は、培養細胞および今回のマウス組織で得られたデータをもとに、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。

[※2] 2016年6月3日プレスリリース http://www.h.u-tokyo.ac.jp/vcms_lf/release_20160603-2.pdf

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Molecular Cancer Research* (Online First)

論文タイトル： Satellite RNA Increases DNA Damage and Accelerates Tumor Formation in Mouse Models of Pancreatic Cancer

著者： 岸川孝弘、大塚基之*、鈴木辰典、清宮崇博、關場一磨、石橋 嶺、田中恵理、大野元子、山上まり、小池和彦 (* 責任著者)

DOI 番号：10.1158/1541-7786.MCR-18-0139

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

講師 大塚 基之 (おおつか もとゆき)

TEL：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

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

<AMED 事業に関するお問い合わせ先>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

戦略推進部 がん研究課

次世代がん医療創生研究事業担当

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1

TEL：03-6870-2221 FAX：03-6870-2244

E-mail：cancer@amed.go.jp

7. 用語解説：

(注1) サテライト配列： ゲノム上には単純な塩基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。

(注2) 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、前癌状態とされる

PanIN 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。

(注3) 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。大腸癌で提唱されている正常→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。

8. 添付資料:

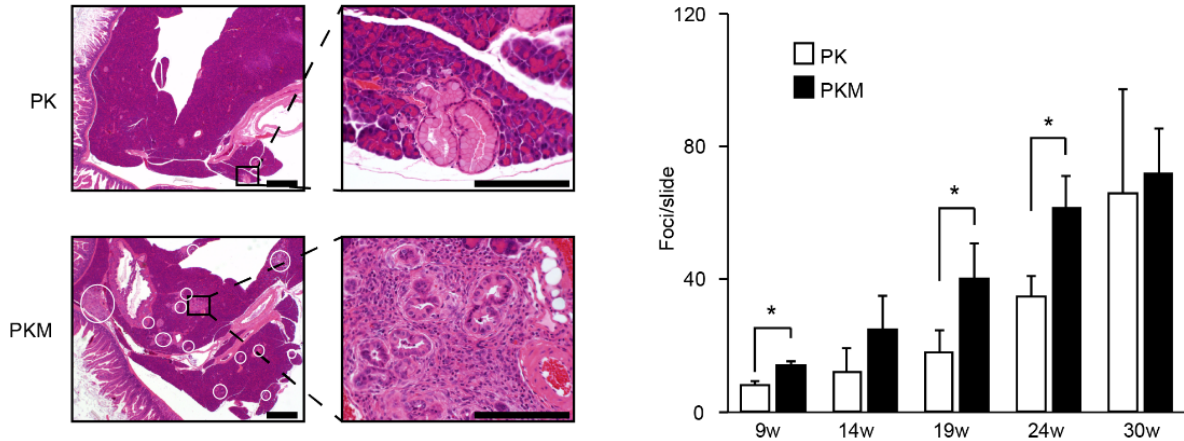


図1 変異型 *Kras* を単独で発現するマウス (PK) と変異型 *Kras* と *MajSAT* RNA 両方を発現するマウス (PKM) に発生する PanIN の比較
 左: 各マウスの膵組織の HE 染色像。白丸が発生した PanIN を示す。
 右: 週齢ごとの PanIN の発生数の比較。若週齢の PKM マウスにおいて有意に発生数が増加している。

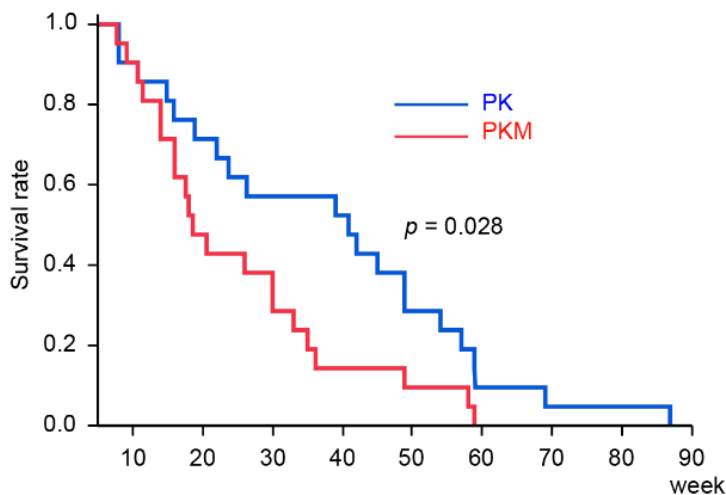


図2 PK マウスと PKM マウスの生存比較曲線
 PKM マウスにおいて有意に予後が悪化していた。

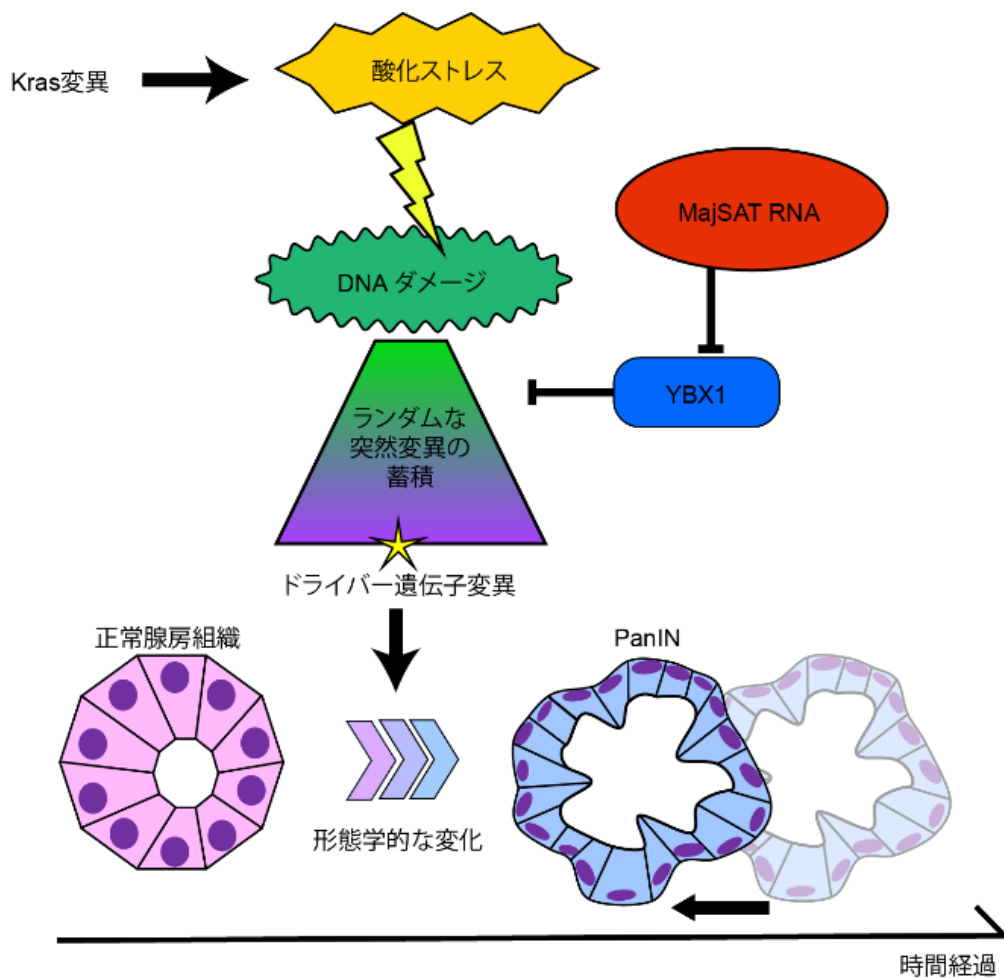


図3 MajSAT RNA 発現がもたらす発癌促進機構の概念図

酸化ストレスにより日常的に惹起される DNA ダメージを YBX1 タンパク質が修復するが、MajSAT RNA がこの機能を阻害することによって、修復されなかった DNA がランダムな突然変異として蓄積する。結果的に発癌を促進するドライバー遺伝子に変異する機会が増え、発癌のプロセスを加速させることが推定される。