

課題番号 54

加齢が及ぼす癌微小環境としての修飾核酸モドミクスの変調

[1] 組織

代表者：藤村 篤史

(岡山大学医歯薬学研究科細胞生理学)

対応者：魏 范研

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 20 万

[2] 研究経過

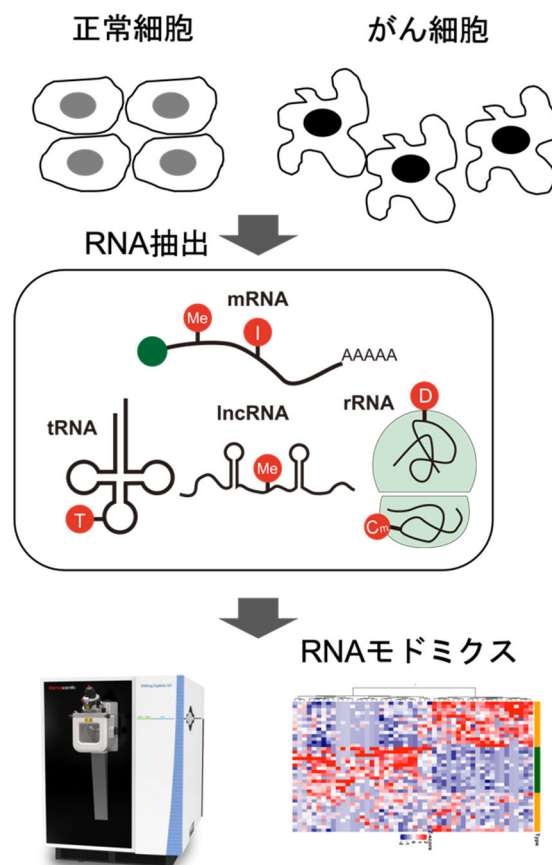
研究目的

本研究の目的は、加齢性的変化を伴う RNA 修飾の変動に関するオミクス解析 (RNA Modification Omics = RNA modomics) を通して、癌の病態を簡便かつ迅速にリアルタイムで捉えるための方法論を確立し、以って癌の病勢判定を行うためのエビデンスの蓄積を目指すものである。癌の特性を理解する上で、癌細胞そのものを理解することと同様に重要であると考えられている要素が「癌の微小環境」である。微小環境の構成要素は、癌組織間質に存在する線維芽細胞や免疫系細胞などの細胞性成分のほか、癌細胞そのものから分泌される液性因子などを含む液性成分などであり、これらが様々に相互作用することで、癌の進展を促進的・抑制的に制御している。

我々は最近、膠芽腫において、修飾核酸が微小環境の重要な構成要素であることを発見した (Yamamoto ら, *iScience*, 2019)。例えば膠芽腫においては、tRNA 修飾酵素 TRIT1 によって修飾される N6-isopentenyladenosine (i^6A) が膠芽腫細胞外へと分泌されるが、この i^6A は強力な細胞毒性を有しており、 i^6A の解毒作用を持つ膠芽腫幹細胞 (Glioma Stem Cell: GSC) 以外を細胞死へと誘導する。結果的に膠芽腫組織では GSC が enrich され、治療抵抗性の獲得などを通して、予後の不良化に帰結する。GSC は tRNA 修飾酵素 CDK5RAP1 を用いて i^6A を 2-methylthio- i^6A (ms^2i^6A) へ無毒化することで細胞死を回避しているが、この機能は低酸素環境で特に増強されることがわかった。このように、修飾核酸は癌の微小環境の構成要素として機能的に重要であるだけでなく、癌細胞のコンディションを如実に反映する重要なマーカーとして使用できる可能性がある。

研究の概要

上記の例の他にも修飾核酸は多岐にわたっており、それらの病態生理的意義はほとんど分かっていない。修飾核酸はトランスポーターを介して細胞外・血中へと排出されるため、研究代表者の開発した質量分析器ベースの修飾核酸モドミクス技術を用いれば、各種検体中の修飾核酸を網羅的に掌握することが可能である。本研究では難治性がんの代表格である膠芽腫を対象に、*de novo* 発がんモデルマウスを用いて、修飾核酸モドミクスの解析結果とそれぞれの病態をリンクさせるための基礎実験を行う (下図参照)。この際、若いマウスと老年のマウスとの体組織における修飾核



酸モドミクスの解析を並行して実施し、加齢に伴う修飾核酸のランドスケープに変化があるか否かを確認する。さらに、若年マウスと加齢マウスのそれぞれに対して、発がん誘導をかけた際に生じる病態生理上の変化および修飾核酸モドミクスを多角的に評価する。

なお、腫瘍モデルの作成および病態生理上の解析は岡山大学で、修飾核酸のモドミクス解析は東北大学加齢研の魏教授が担当する。それぞれの結果を有機的か

つ統合的に解析することで、加齢に伴って変化する癌関連因子の一つとして修飾核酸の重要性を提示することができるとともに、癌の微小環境の新たな構成要素として修飾核酸を位置付けることが可能となる。なお、本共同研究の実施は、新型コロナウイルス感染症予防の観点から、打ち合わせは基本オンラインで行なった。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

今年度において以下の研究成果が得られた。

(1) がん細胞における RNA 修飾の変動

本研究では予備検討としてまず乳がんをモデルに RNA 修飾解析を行った。具体的には乳腺の上皮に由来する非がん細胞と乳がん細胞から Total RNA を抽出し、RNase P1 で RNA を分解した後に、質量分析装置 (Shimazu LCMS8060 と Thermo Fisher Scientific Orbitrap Expolirs 240) を用いて RNA 修飾の網羅的解析を行い、非がん細胞とがん細胞間で RNA 修飾に差があるかを検証した。RNA 修飾解析の結果、ヒトトランスファーRNA(tRNA)、リボソームRNA(rRNA)、メッセンジャーRNA (mRNA) に由来する 50 種類以上の RNA 修飾が検出された。また、修飾量を細胞種間で比較検討した結果、いくつかの RNA 修飾について有意な変動が見られた。論文作成前であるため、具体的な修飾名の公開は今回控えるが、ミトコンドリアでのタンパク質翻訳に関わる tRNA に存在する修飾は有意に低下し、酸化ストレス応答に関わる tRNA に存在する修飾はがん細胞で有意に上昇していた。これらの結果から、これらの修飾を含む tRNA の発現量ががん細胞で上昇していることが示唆された。一般的にがん化した細胞ではミトコンドリアに依存するエネルギー代謝経路が変容しており、また、正常細胞と比べて酸化ストレス耐性が亢進しているが、今回見られた tRNA 修飾の変容がこれらがん細胞特有の性質変化の分子基盤となっている可能性が高く、今後さらなる検討が必要である。

(2) 加齢に伴うにおける RNA 修飾の変動

加齢はがん化のリスク要因のひとつであることはよく知られているが、加齢の分子基盤に不明な点が多い。加齢における RNA 修飾の変動を解析するため、加齢医学研究所で飼育している若齢マウスと加齢マウスの臓器 (肝臓や腎臓) から Total RNA を精製し、RNA 修飾の網羅解析を行った。その結果、RNA 修飾は加齢により大きく変動することが認められた。特にミトコンドリア機能に関連する RNA 修飾は加齢マウスで大きく低下した。このことから、加齢に伴う代謝異常の原因の一つが RNA 修飾の変容であることが示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

がん化や加齢に伴う RNA 修飾の変容に着眼した本研究は極めて先駆的であり、重要な知見が得られつつある。今後の検討により RNA 修飾の変容ががん化や加齢の原因であることが実証されれば、RNA 修飾を標的とする創薬やバイオマーカーの創出が可能であり、応用的な価値が高いと考える。

[4] 成果資料

研究遂行中であるため、該当しない。