

[ 研究区分： 学際的・先端的研究 (S) ]

研究テーマ： 生体機能分子探索シーズに基づく応用生命科学研究 ：染色体パッセンジャー関連新規分子の活用	
研究代表者： 生命環境学部 生命科学科 教授・達家雅明	連絡先： tatsuka@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者： 教授・小西博昭（生命環境学部 生命科学科） 準教授・矢間太（生命環境学部 生命科学科） 教授・嶋本文雄（人間文化学部 健康科学科）	
<b>【研究概要】</b> SAKI はこれまでの研究からヒトがんで遺伝子増幅を伴って高発現していることがわかっていたが、本研究により SAKI による tRNA の 5-メチルシトシン修飾に加えて、METTL1 による tRNA の 7-メチルグアニン修飾の抑制が互いに連携し、汎用抗がん剤のひとつである 5-フルオロウラシル（5-FU）感受性を決定していることが判明した。この結果から、5-FU の作用機作研究のエポックを提供する。また、酵母で観察されている tRNA メチル化制御と関係した RTD 経路（rapid tRNA decay）がヒトでも存在することを証明するものであり、分子遺伝学分野への貢献となる。	

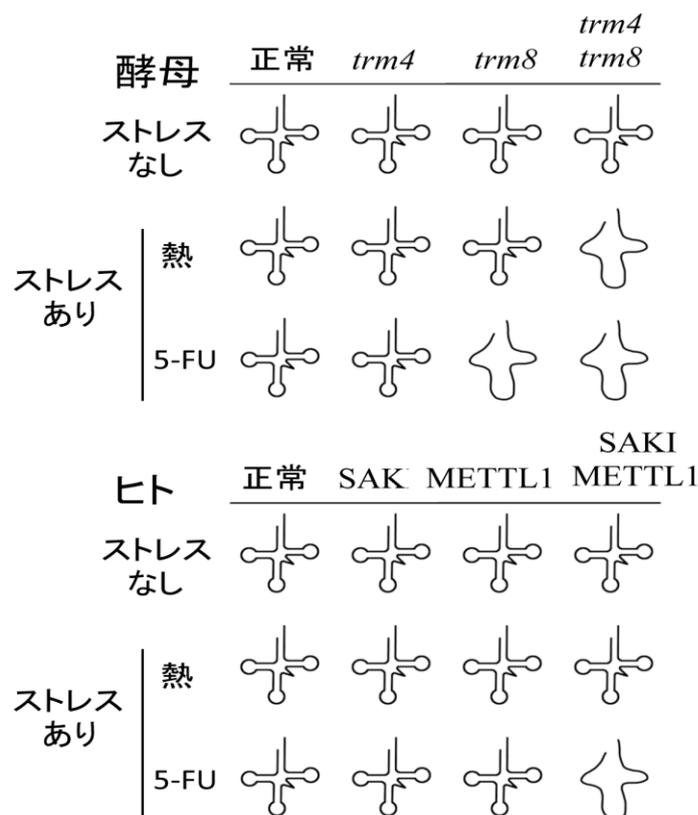
#### 【研究内容・成果】

オーロラ B 基質のひとつとして我々が発見した SAKI（Mol Biol Cell. 2007 Mar;18(3):1107-17.）は、その後の当該研究室の岡本茉佑美らの研究からがん細胞で遺伝子増幅を伴って高発現していることがわかっていた（DNA Cell Biol. 2012 May;31(5):660-71.）。本研究プロジェクトの遂行により、子宮頸部がん HeLa 細胞を用いた解析から、1）SAKI ノックダウン細胞はコントロール細胞と比較して増殖能の低下は観察されなかった。このことから、SAKI はヒトにおいて細胞増殖との関連性は薄いと考えられた。2）更に、SAKI ノックダウン細胞の軟寒天中でのコロニー形成能（がん性増殖、すなわち造腫瘍能とパラレルと考えられる）を調べたところ、コントロール細胞と大きな差異は観察されなかった。このことから、SAKI はヒトがんで遺伝子増幅を伴って高発現しているが、その役割は腫瘍増殖に関連したものではないことが明らかとなった。3）更に、酵母での SAKI 類似遺伝子解析から RTD 経路の存在が報告されていたが、動物細胞でこの経路の存在を調べるために、SAKI（5-メチルシトシン修飾を担う）に加えて別の tRNA メチル化酵素（7-メチルグアニン修飾を担う）をノックダウンした HeLa 細胞を作成して調べたところ、ダブルノックダウン細胞で HeLa 細胞親株と較べてその増殖能に変化は無かった。4）また、造腫瘍能にも変化は無かった。5）酵母では RTD 経路は温熱に対して作動することを知られているが、ダブルノックダウン細胞では HeLa 細胞親株と較べて温熱感受性に大きな変化は無かった。6）しかし、ダブルノックダウン細胞の抗がん剤感受性について調べたところ、抗がん剤として一般に広く使用されている 5-FU に対して非常に高い感受性を示した。一方、シスプラチンや電離放射線、パクリタキセルなどに対しては高感受性を示さなかった。

以上の結果は、SAKI による tRNA の 5-メチルシトシン修飾に加えて、METTL1 による tRNA の 7-メチルグアニン修飾の抑制が互いに連携し、SAKI と METTL1 両方の tRNA メチル化修飾が同時に抑制された時、汎用抗がん剤のひとつである 5-フルオロウラシル（5-FU）に非常に高い感受性を示すことが明らかとなった。この結果から、酵母で観察されている tRNA メチル化制御と関係した RTD 経路（修飾されていない tRNA はストレスで tRNA が変化した時にすみやかに分解されて細胞死に至る仕組み：rapid tRNA decay）がヒトでも存在することを証

[ 研究区分：学際的・先端的研究 (S) ]

明された。また、更に、世界中で最も広く使われている抗がん剤である 5-FU の作用機作については、この薬が開発されてから 57 年余を経過してもなお判然としないところがあったが、今回、tRNA 代謝がこの抗がん剤の感受性に大きな影響を与えていることが判明し、この後の作用機作研究、特に、抗がん剤増感効果や副作用軽減などの研究に与える影響は大きいものと思われる。



(禁無断複製：この図の著作権は達家雅明にあります)

図の説明：tRNA は高度に修飾を受けている。一般に、ウリジン修飾は pseudouridine (プソイドウリジン/シュードウリジン) として知られて生存にとって必須の修飾である。しかしながら、tRNA 修飾はその修飾を欠いた場合に致死となる修飾 (これを「必須の修飾」と呼ぶ) 以外に、欠いても生存には一見無関係と思われる修飾が多数存在する (このような修飾を「非必須の修飾」と呼ぶ)。ヒトに存在する SAKI はその構造的な類似性と酵素活性の相似性から、酵母に存在する *trm4* に相当する (Mol Biol Cell. 2007 Mar;18(3):1107-17.)。酵母では、*trm4* は別の修飾酵素である *trm8* との二重欠失によって、温熱に高感受性となるという報告があった。そこで、ヒトの細胞での SAKI 機能解析を進めるために、酵母 *trm4* に相当するヒト SAKI、更に、酵母 *trm8* に相当するヒト METTL1 の二重欠失細胞をヒト子宮頸部がん HeLa 細胞で作成したところ、5-FU に対しては高感受性となっていた。更に、他の抗がん剤や X 線、紫外線などで試験したところ、いずれの感受性も変更が無く、SAKI と METTL1 による tRNA 修飾は、5-FU によるストレスに特異的であった。また、その他の実験データによる状況証拠から、SAKI と METTL1 による tRNA 修飾は、酵母で知られている RTD 経路 (修飾されていない tRNA はストレスで tRNA が変化した時にすみやかに分解されて細胞死に至る仕組み：rapid tRNA decay) による tRNA 品質管理システムのヒト・バージョンであろうと考えられた。