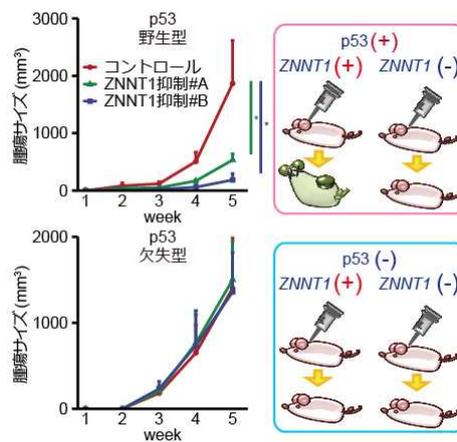


## p53 野生型大腸がんの発症に重要な 長鎖ノンコーディング RNA の発見

### 発表のポイント

- ◆長鎖ノンコーディング RNA である ZNNT1 が、野生型 p53 を持つ大腸がん細胞の腫瘍形成を促進する役割を果たしていることを明らかにしました。
- ◆ZNNT1 が、RNA 制御因子 SART3 タンパク質と結合し、p53 を不安定化している機構を明らかにしました。
- ◆本成果は、ZNNT1 及び ZNNT1-SART3 複合体形成を標的とした薬剤の開発や大腸がんの治療に貢献すると期待されます。



ZNNT1 は、野生型 p53 を有する大腸癌細胞の腫瘍形成能に重要である

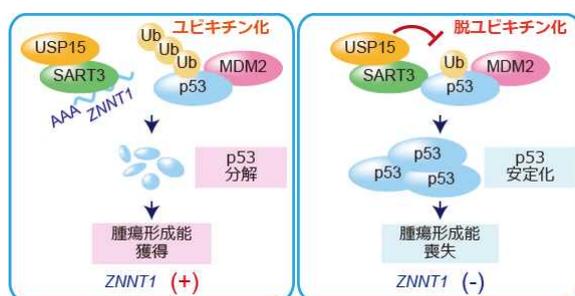
### 発表概要

東京大学定量生命科学研究所の秋山徹特任教授と、同大学アイソトープ総合センターの谷上賢瑞特任准教授(研究当時：同大学定量生命科学研究所助教)らによる研究グループは、野生型 p53 (注 1) を持つ大腸がん (注 2) の腫瘍形成を制御する長鎖ノンコーディング RNA (長鎖 ncRNA, 注 3) である ZNNT1 を発見しました。

タンパク質をコードしない RNA のうち、200 塩基以上の RNA を長鎖 ncRNA と総称し、長鎖 ncRNA の機能破綻ががん化を引き起こすことが明らかになってきました。しかし、長鎖 ncRNA は特定の性質を持っておらず、個々の長鎖 ncRNA が腫瘍の発生や進行に寄与する詳細なメカニズムについては、未だ明らかになっていない点が多く残されています。本研究では、ZNNT1 が、RNA 制御因子である SART3 タンパク質 (注 4) と結合し、USP15 による脱ユビキチン化 (注 5) を阻害することで p53 タンパク質を不安定化し、p53 野生型大腸がんの増殖や腫瘍形成を制御していることを明らかにしました。

本研究結果によって、脱ユビキチン化を制御する長鎖 ncRNA が存在することが明らかになりました。さらに、大腸がん細胞内における ZNNT1-SART3 複合体が、がん治療の重要な標的とな

ることが示唆されました。ZNNT1 及び ZNNT1-SART3 複合体形成を標的とした薬剤を創製することにより、大腸がんの治療に貢献することが期待されます。



**ZNNT1 が SART3-USP15 複合体を介して p53 を制御する機構**

ZNNT1 は SART3 と相互作用して p53 との会合を阻害して p53 を不安定化し、それによって p53 野生型大腸がんの腫瘍形成を促進する。

## 発表内容

ヒトゲノムの大部分の領域からタンパク質をコードしないノンコーディング RNA (ncRNA) が転写されていることが知られています。かつてはその大半がジャンクだと考えられてきましたが、増殖・発生・分化・幹細胞性の維持といった様々な生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしていることが明らかになってきました。200 塩基以上の長鎖 ncRNA は種類も極めて多様であり、それぞれ多様な特性を持っていると考えられています。また長鎖 ncRNA は DNA や RNA、タンパク質などと相互作用することで、転写やスプライシング、翻訳など様々な機能を伴って、癌の多様な表現系に寄与していることが明らかになってきました。

今回、本研究グループは、長鎖 ncRNA である ZNNT1 が、RNA 制御因子である SART3 タンパク質と複合体を形成し、脱ユビキチン化酵素 USP15 による p53 タンパク質の安定化を阻害することによって、p53 野生型大腸がんの腫瘍形成に重要な役割を果たしていることを見出しました。

本研究グループはまず、同一検体由来の腫瘍形成能の異なる細胞株を用いた遺伝子発現解析から、ZNNT1 が腫瘍形成能の高い細胞株において高発現していることを見出しました。ZNNT1 の発現を恒常的に抑制した大腸がん細胞をヌードマウス（注 6）に移植すると、腫瘍形成能が顕著に減少することが明らかとなりました。続いて、ZNNT1 の発現を抑制した大腸がん細胞を用いた遺伝子発現解析から、p53 によって制御される遺伝子群が ZNNT1 によって制御されていることを見出しました。そこで、p53 が欠失している大腸がん細胞における ZNNT1 の発現を恒常的に抑制し、ヌードマウス皮下における増殖を確認したところ、ZNNT1 は p53 欠失型大腸がん細胞の腫瘍形成能には影響を与えないことを見出しました。既に p53 タンパク質は、ユビキチン-プロテアソーム機構を介して、制御されていることが知られています。そこで本研究グループは、ZNNT1 が p53 タンパク質へ与える影響を調べました。結果、大腸がん細胞では、ZNNT1 が p53 タンパク質のユビキチン化を亢進することで、p53 タンパク質を不安定化していることが明らかになりました。また、ZNNT1 の発現を抑制すると、p53 標的遺伝子である p21 の発現が亢進することが明らかになりました。

多くの長鎖 ncRNA は、タンパク質と複合体を形成することによって機能を獲得することが知られています。本研究グループは、ZNNT1 の機能を明らかにするために、質量分析による ZNNT1 結合タンパク質の同定を試みた結果、RNA 制御因子である SART3 に結合することを見出しました。SART3 は、2 つの RNA 認識モチーフ (RRM1 と RRM2) を持ち、転写、プレ mRNA スプライシング、スプライソソームアセンブリ、mRNA 合成を制御することにより、幹細胞の増殖と分化、胚発生に関与していることや、がん組織で発現が亢進していることが知られています。本研究グ

ループが、SART3 と ZNNT1 のお互いの結合に重要な領域を調べたところ、SART3 は RRM2 を介して ZNNT1 の 2006 - 2066 領域に結合していることが明らかになりました。

続いて本研究グループは、ZNNT1 が制御する p53 野生型大腸がんの腫瘍形成機構に SART3 がどのような影響を及ぼすのかを調べました。結果、SART3 の発現を抑制しておくと、ZNNT1 の発現抑制による p53 野生型大腸がん細胞の腫瘍形成能の減少及び p53 タンパク質の増加が緩和されることを明らかにしました。さらに、ZNNT1 の発現を抑制することにより、SART3 と p53 の結合が増加することを見出しました、これらの結果から、ZNNT1 は SART3 による p53 の安定化を阻害することで、大腸癌の腫瘍形成能を制御している可能性が考えられます。

次に、SART3 による p53 タンパク質の安定化機構を明らかにするために、質量分析による SART3 結合タンパク質の探索を進めたところ、脱ユビキチン化酵素 USP15 が同定されました。続いて、USP15 と SART3 を共発現すると p53 タンパク質量が増加することを見出し、SART3 が USP15 を p53 にリクルートすることで、脱ユビキチン化による p53 タンパク質の安定化が引き起こされる可能性が示唆されました。また、USP15 は ZNNT1 と結合し、USP15 の発現を抑制すると、ZNNT1 の発現抑制による p53 タンパク質の増加及び p53 野生型大腸がん細胞の増殖抑制が緩和されることが明らかとなりました。これらの結果から、ZNNT1 は USP15 による p53 の脱ユビキチン化を阻害することで p53 タンパク質を不安定化し、大腸がんの腫瘍形成能獲得に寄与している可能性が考えられます。

これらの結果は、長鎖 ncRNA である ZNNT1 が SART3-USP15 複合体による p53 の安定化を阻害することで、p53 野生型大腸がんの造腫瘍性に寄与していることを示唆しています。今後、ZNNT1 と ZNNT1-SART3 複合体に対する分子標的薬を創出することによって、大腸がんの撲滅に一步前進することが可能であると考えられます。

## 発表者

東京大学

定量生命科学研究所

秋山 徹 (特任教授)

林 寛敦 (特任助教)

小田 健昭 (特別研究員)

鴨志田 祐己 (特別研究員)

アイソトープ総合センター

谷上 賢瑞 (特任准教授) <研究当時：東京大学定量生命科学研究所 (助教)>

## 論文情報

<雑誌> PNAS Nexus

<題名> LncRNA ZNNT1 induces p53 degradation by interfering with the interaction between p53 and the SART3-USP15 complex.

<著者> Kenzui Taniue, Takeaki Oda, Tomoatsu Hayashi, Yuki Kamoshida, Yasuko Takeda, Anzu Sugawara, Yuki Shimoura, Lumi Negishi, Takeshi Nagashima, Mariko Okada-Hatakeyama, Yoshifumi Kawamura, Naoki Goshima, Nobuyoshi Akimitsu and Tetsu Akiyama\*

<DOI> 10.1093/pnasnexus/pgad220

〈URL〉 [https://academic.oup.com/pnasnexus/advance-article/doi/10.1093/pnasnexus/pgad220/7218881?utm\\_source=author+ollfree+link&utm\\_campaign=pnasnexus&utm\\_medium=email&guestAccessKey=8c59d2bc-f438-41ef-a5b2-68d8282f9b6f](https://academic.oup.com/pnasnexus/advance-article/doi/10.1093/pnasnexus/pgad220/7218881?utm_source=author+ollfree+link&utm_campaign=pnasnexus&utm_medium=email&guestAccessKey=8c59d2bc-f438-41ef-a5b2-68d8282f9b6f)

## 研究助成

本研究は、日本医療研究開発機構「次世代がん医療創生研究事業」(17cm0106103h0002)、文部科学省科学研究費・新学術領域「1 細胞解析による幹細胞の多様性創出機構の解明」(17H06325)「lncRNA のエピゲノム制御に基づく大腸癌形成能獲得機構の解明」(15H01464)、基盤研究 B「lncRNA-RBP 複合体によるユビキチン-プロテアソーム制御機構」(21H02758)、挑戦的萌芽「RNA 品質管理機構によるイントロン-エクソン化 RNA 生成と癌維持機構への関与」(21K19402)、上原財団、武田財団、小林財団、MSD 生命科学財団などのもとで実施されました。

## 用語解説

(注 1) p53

癌抑制遺伝子である p53 は、転写因子としての役割がよく知られている。p53 は、DNA 損傷、癌遺伝子発現、低酸素などのシグナルに応答し、細胞周期停止、老化、アポトーシスを引き起こす細胞ストレスセンサーとしての機能を有している。また、p53 は不安定なタンパク質であり、生体内における半減期は 20 分未満である。p53 タンパク質の安定性は、ユビキチン - プロテアソーム機構によって制御されていることが知られており、Mdm2 は p53 の分解や機能停止を促進する最も重要なユビキチン化酵素である。

(注 2) 大腸がん

近年、日本において大腸癌は罹患率・死亡率ともに上昇傾向にあり、2008-2009 年の部位別癌死亡率では男性では肺癌・胃癌に続いて 3 位、女性では 1 位となっており、更なる治療法の改善が待ち望まれている。

(注 3) 長鎖ノンコーディング RNA (長鎖 ncRNA)

ncRNA は、タンパク質をコードしない RNA のこと。長鎖 ncRNA は、20-30 塩基の短鎖 ncRNA 以外の ncRNA で、概ね 200 塩基以上の長さを有する。長いものでは、数十万塩基にも及ぶ。相互作用するタンパク質や細胞内局在によって、様々な生物学的役割をこなす。

(注 4) SART3

SART3 は 2 つの RNA 認識モチーフ (RRM1 と RRM2) を持つ核内 RNA 結合タンパク質であり、免疫療法の標的抗原として研究されている。SART3 は、転写、プレ mRNA スプライシング、スプライソソームアセンブリ、mRNA 合成を制御することにより、幹細胞の増殖と分化、胚発生に関与している。また SART3 は、幹細胞だけでなく、大半の癌組織の核内においても高発現していることが知られている。

(注 5) 脱ユビキチン化

ユビキチン化は、ユビキチン修飾系によってエネルギー依存的に特定のタンパク質にユビキチンが結合する反応のこと。ユビキチン化されたタンパク質は、プロテアソームによって分解

を受ける。ユビキチンとその基質タンパク質間、またはユビキチン鎖中のユビキチン間のイソペプチド結合を切断する加水分解反応を脱ユビキチン化という。

(注6) ノードマウス

胸腺を欠くため免疫機能が働かないマウス。

## 問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学アイソトープ総合センター

特任准教授 谷上 賢瑞

Tel: 03-5841-2877; E-mail: kenzui@ric.u-tokyo.ac.jp

東京大学定量生命科学研究所

特任教授 秋山 徹 (あきやま てつ)

Tel: 03-5841-8483; E-mail: akiyama@iqb.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学アイソトープ総合センター

庶務係

Tel: 03-5841-2881 E-mail: syomu.ric@gs.mail.u-tokyo.ac.jp