

令和 4 年 3 月 28 日

RNA 修飾を介した非小細胞肺癌の悪性化の新しいメカニズムを発見

<研究成果のポイント>

- 非小細胞肺癌の切除検体を用いた免疫染色の結果、RNA のメチル化である N6-メチルアデノシン (m⁶A) の脱メチル化酵素である ALKBH5 は非小細胞肺癌において高発現していました。
- ALKBH5 は、非小細胞肺癌細胞株で CDKN1A や TIMP3 の発現を低下させ肺癌の悪性化を促進することを世界で初めて明らかにしました。
- ALKBH5 を介した CDKN1A や TIMP3 の発現変化は、IGF2BP1-3 (IGF2BPs) による mRNA の安定性の低下を介していることを細胞株を用いた実験で明らかにしました。

※本研究成果は、国際学術誌「Cancer Gene Therapy」に日本時間 3 月 22 日に公表されました。

<概要>

浜松医科大学腫瘍病理学講座の土屋一夫医師、梶村春彦教授らは、同内科学第二講座（須田隆文教授）、常葉大学保健医療学部（太田力教授）、聖隷三方原病院呼吸器外科（棚橋雅幸部長）、同病理診断科（小川博部長）らとの共同研究により、RNA のメチル化である N6-メチルアデノシン (m⁶A) の脱メチル化酵素である ALKBH5 が非小細胞肺癌において高発現しており、IGF2BPs による標的 mRNA の認識を介して肺癌の悪性化を促進することを世界で初めて明らかにしました。

<研究の背景>

RNA のメチル化である N6-メチルアデノシン (m⁶A) はヒトの発癌において重要な役割を担っています。m⁶A 脱メチル化酵素には ALKBH5 と FTO がありますが、非小細胞肺癌の悪性化への関与は完全には解明されていません。

<研究手法・成果>

<研究方法>

非小細胞肺癌の切除検体で、ALKBH5 および FTO の発現を免疫染色で定量化し予後との関係を解析しました。ALKBH5 および FTO の遺伝子発現を変化させ、細胞機能、m⁶A の量的変化を評価しました。ALKBH5 を発現抑制した肺癌細胞で、マイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子発現の変化を解析し、ALKBH5 の標的遺伝子を同定しました。さらに、標的遺伝子のメッセンジャーRNA の安定性とタンパク質発現の解析を行い、IGF2BPs を発現抑制させ、標的遺伝子との関連を調べました。

<成果>

免疫染色で ALKBH5 が高発現していると生存期間が短縮することが明らかとなりました。また、ALKBH5 の高発現は、非小細胞肺癌における不良な生存期間と関連していました。培養細胞を用いた実験では、ALKBH5 の発現抑制は、肺癌細胞の細胞増殖能を抑制しましたが、FTO の発現抑制では細胞増殖能を抑制しませんでした。また ALKBH5 の発現抑制は、細胞周期停止を促進し、アポトーシス細胞数を増加させました。さらに、ALKBH5 の過剰発現は、気道上皮細胞の細胞増殖能を促進しました。液体クロマトグラフ質量分析では、ALKBH5 の発現状況依存的

に m⁶A 量が変化しました。マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析と m⁶A 抗体を用いて免疫沈降した RNA の遺伝子発現を解析した結果、4 つの遺伝子を ALKBH5 の標的遺伝子として同定しました。そのうち、ALKBH5 の発現抑制により CDKN1A や TIMP3 のタンパク質発現の増加が観察されました。さらに ALKBH5 の発現抑制で見られた細胞増殖の減少は、CDKN1A または TIMP3 の遺伝子発現抑制により部分的に相殺されました。また、ALKBH5 の発現抑制で見られた CDKN1A や TIMP3 発現の増加や細胞増殖の減少は、ALKBH5 と IGF2BPs の 1 つをとともに発現抑制することで相殺され、少なくとも IGF2BPs の 1 つの発現抑制によってこれらの mRNA の安定性が低下しました。

<今後の展開>

本研究の結果から、肺癌において高発現している ALKBH5 が、IGF2BPs を介して癌の悪性化を促進することからこれらのメカニズムを標的とした ALKBH5 阻害薬の開発と肺癌治療への応用が期待されます。研究グループは m⁶A を修飾するその他の酵素群についても一部検討し終えており(土屋他、Oncoimmunology 2021)、肺がんのエピトランスクリプトームの全貌の理解を目指しています。

<用語解説>

RNA 修飾：転写された RNA は 170 種類以上の修飾をうけることが知られており、近年この修飾が、癌、感染症、発生などの生物学的プロセスに重要な意義があることがわかってきた。これらの全体像は RNA エピジェネティクスあるいはエピトランスクリプトームという概念で議論されるようになっていく。

N6-メチルアデノシン(m⁶A)：アデノシンの N6 位のメチル化で真核生物の mRNA の主要な RNA 修飾。

免疫沈降：特定の抗原を認識する抗体を用い、標的抗原に親和性を示す分子を混合物中から選択的に分離・分析する免疫化学的手法。

<発表雑誌>

Cancer Gene Therapy (DOI:10.1038/s41417-022-00451-8)

<論文タイトル>

m⁶A demethylase ALKBH5 promotes tumor cell proliferation by destabilizing IGF2BPs target genes and worsens the prognosis of patients with non-small-cell lung cancer

<著者>

Kazuo Tsuchiya, Katsuhiko Yoshimura, Yuji Iwashita, Yusuke Inoue, Tsutomu Ohta, Hirofumi Watanabe, Hidetaka Yamada, Akikazu Kawase, Masayuki Tanahashi, Hiroshi Ogawa, Kazuhito Funai, Kazuya Shinmura, Takafumi Suda, Haruhiko Sugimura

<研究グループ>

浜松医科大学腫瘍病理学講座、同内科学第二講座、常葉大学保健医療学部、聖隷三方原病院呼吸器外科、同病理診断科

<研究支援>

本研究は、日本学術振興会 (JP22659072, JP24659161, JP26670187, JP16K15256)、喫煙科学研究財団、および浜松医科大学学内研究プロジェクトの支援を受けてまとめられた成果です。

<本件に関するお問い合わせ先>

国立大学法人 浜松医科大学 腫瘍病理学講座(〒431-3192 浜松市東区半田山 1-20-1)

医師 土屋一夫

Tel: 053-435-2220, Fax: 053-435-2225

E-mail: bandfor2004@yahoo.co.jp

同大 腫瘍病理学講座

教授 梶村春彦

E-mail: hsugimur@hama-med.ac.jp

<参考図>

非小細胞肺癌の癌悪性化の分子メカニズム

