
令和元年 10 月 10 日

(記者資料提供：令和元年 10 月 8 日)

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

クラスター推進センター 都市運営・広報課 塚口・西田

TEL：078-306-2231 E-mail：kbic-pr“AT” fbri-kobe.org



がんの新しい発症メカニズムを発見！

スプライシングとクロマチンをつなぐ新規発癌機構と治療応用

井上 大地 博士（神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター血液・腫瘍研究部上席研究員）が、メモリアルスローンケタリングがんセンターのオマー・アブデルワハブ医師（米国ニューヨーク州ニューヨーク）、フレッドハッチンソンがん研究センターのロバート・ブラッドリー博士（米国ワシントン州シアトル）らとの共同研究により、スプライシング異常とクロマチン異常をつなぐ新しいパスウェイが、癌の発症・進展に重要な役割を果たしており有望な治療標的であることを明らかにしました。

その研究成果が、2019 年 10 月 10 日に、国際科学誌 Nature（ネイチャー）にオンライン版で発表されましたので、お知らせ致します。研究成果等の具体的な内容につきましては、添付資料をご参照ください。

※FBRI のロゴは、公益財団法人神戸医療産業都市推進機構の商標です。



令和元年 10 月 10 日

(記者資料提供：令和元年 10 月 8 日)

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構

がんの新しい発症メカニズムを発見！ スプライシングとクロマチンをつなぐ新規発癌機構と治療応用

ポイント

- 遺伝子のスプライシング（※1）を制御する SF3B1 遺伝子の変異がどのようにがんを引き起こすのか？ゲノム編集技術を応用したスクリーニング法と生体モデルを用いた詳細な実験により BRD9 遺伝子のスプライシング異常が主な原因であることを突き止めました。
- SF3B1 遺伝子に変異を持つ細胞ではスプライシング異常により BRD9 のタンパクが喪失し、BRD9 を中心とするクロマチン（※2）制御タンパク複合体(ncBAF)の構成不全を導くことを示しました。
- BRD9 の異常なスプライシングを抑制する核酸医薬やゲノム編集技術により BRD9 を回復させ腫瘍縮小を導く創薬に成功しました。
- クロマチン構造を制御する ncBAF 自体には、がん細胞で遺伝子変異が認められないものの、構成タンパクのスプライシング異常による機能不全が発癌につながることを初めて証明しました。
- これまで別々に捉えられてきた遺伝子スプライシングとクロマチンによる遺伝子発現制御をつなぐ新しい分野を提唱する成果といえます。

井上 大地 博士(神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター血液・腫瘍研究部上席研究員)は、メモリアルスローンケタリングがんセンターのオマー・アブデルワハブ医師、フレッドハッチンソン癌研究センターのロバート・ブラッドリー博士らとの共同研究により、SF3B1 遺伝子変異による BRD9 のスプライシング異常が、癌の発症・進展に重要な役割を果たしており有望な治療標的であることを明らかにしました。本研究は The Leukemia & Lymphoma Society（米国）、リディアオリリー記念ピアス皮膚科学振興財団、小林がん学術振興会の支援のもとに行われました。その研究成果は、国際科学誌 Nature（ネイチャー）に、2019 年 10 月 9 日午後 6 時（英国時間）、10 月 10 日午前 2 時（日本時間）にオンライン版で発表されました。

1. 背景

我々の細胞ひとつひとつの中には 2 万以上の遺伝子がコードされていますが、遺伝情報が DNA から RNA に転写される過程でイントロンと呼ばれる非コード領域が取り除かれ、コード領域のエキソンのみが結合した核酸配列が生み出されます。この過程はスプライシングと呼ばれ、遺伝情報に基づ

いて正常なタンパク質を作り出す上で必須の機構と言えます。近年の遺伝子解析技術の進歩により、骨髄異形成症候群などの血液のがんをはじめ、乳がん・膵臓がん・悪性黒色腫など多くのがんで SF3B1 遺伝子などのスプライシングに関連した遺伝子の変異が報告されています。しかし、下流の遺伝子のスプライシング異常が発癌に関与することが予想されていたものの、どのようにがんが誘導されるのかについては、ほとんど解明されていませんでした。そこで、本研究では SF3B1 遺伝子の中でがんの発症や進展に不可欠な標的をスクリーニングにより見つけ出し、有望な治療標的の同定とメカニズムに基づく創薬を目指しました。

2. 研究手法・成果

まず臨床検体の大規模な解析により、SF3B1 遺伝子の変異を持つあらゆる悪性腫瘍で共通して生じているスプライシング異常を抽出しました。さらにその中から、標的遺伝子由来のタンパクが NMD（ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構）（※3）に基づいて喪失することが予想される標的遺伝子を独自のアルゴリズムに従って 200 個程度まで絞りこみました。続いて各々の標的をノックアウトするゲノム編集技術を応用した CRISPR スクリーニング法（※4）により、細胞のがん化を惹起するスプライシング異常として BRD9 遺伝子を同定しました。

SF3B1 遺伝子の変異を持つ細胞では、BRD9 の 14 番目のエクソンと 15 番目のエクソンの間のイントロン配列の一部が勝手にエクソンとして認識されてしまいます。都合の悪いことに、このエクソンの中には終止コドンが含まれており、転写された場合、NMD の機序で分解されます。つまり、BRD9 の遺伝子配列そのものには異常を認めなくても SF3B1 遺伝子の変異により BRD9 の機能喪失をきたすことを明らかとしました。さらに SF3B1 変異体がイントロン内のエクソンを認識する上で必須の数塩基の配列をミニジーンアッセイと呼ばれる詳細な実験で同定しました。

BRD9 はアセチル化リジン等を認識するブルモドメインを有する分子群のひとつであることが知られていましたが、がんにおける役割については全くわかっていませんでした。我々の研究で、BRD9 が新規に同定された新しいクロマチン制御複合体である ncBAF (non canonical BAF) に特異的な構成因子であり、SF3B1 変異による BRD9 の喪失はこのクロマチン制御複合体の形成不全を引き起こすことが分かりました。さらに、これまでに機能が未解明であった DUF ドメインが ncBAF の構成に不可欠であることも示しました。つづいて、ChIP シーケンスにより全ゲノム上での局在を検討すると、BRD9 や ncBAF は、クロマチン 3 次元構造の維持に関わる CTCF とゲノム上で共局在しており、SF3B1 変異が BRD9 の異常なスプライシングを介して ncBAF の形成不全、そしてそれに伴うクロマチン構造の変化をきたしていると考えられます。

他グループからの報告で一部の白血病や肉腫などでは BRD9 はがんを促進する方向に働くとされていましたが、我々の研究では少なくとも悪性黒色腫においてはがんを抑制することを示しました。実際に、SF3B1 変異を有する悪性黒色腫の患者検体では、スプライシング異常により BRD9 の発現レベルが顕著に低下していました。マウスモデルで BRD9 を抑制すると黒色腫ができ、BRD9 の発現を高めると腫瘍が小さくなることを証明しました。これらの作用には、BRD9 のブルモドメインだけでなく DUF ドメインが不可欠であるため、治療応用のためには BRD9 のタンパク全体を回復させる必要があります。そこで、核酸医薬としてアンチセンスオリゴ（※5）によりイントロン上の異常なエクソンの転写を抑制する方法、イントロンの転写に不可欠である数塩基の配列をゲノム編集により除去する方法を開発しました。悪性黒色腫の細胞株や患者検体を用いたマウスへの異種移植モデルを用いて、これらの方法が SF3B1 変異を有する細胞特異的に機能し BRD9 のスプライシングやタ

ンパクを回復させることで顕著な治療効果を認め、今後の臨床現場での治療応用に向けて大きく前進することができました。

3. 波及効果

これまでにタンパク質をコードするエクソンの変異を中心に研究が進められてきましたが、本研究によりスプライシング関連遺伝子の変異により BRD9 のイントロンの一部がエクソンとして転写されることが発癌に直接関与することを明らかとしました。また BRD9 はクロマチン制御因子であることから、これまで別々に考えられていた、スプライシングとクロマチン制御という二つの重要な機構が発癌においてリンクしていることを初めて示すことができました。特にスプライシング異常により、それ自体は変異を有さないタンパクが喪失する現象は、他の癌種においても予想され、核酸医薬など新しい分野での創薬につながっていくものと期待されます。

4. 今後の予定

創薬においては、核酸医薬をがん細胞に届ける効率を高め、効果的かつ腫瘍特異的に標的とする治療法の開発を目指します。今回の研究では主に悪性黒色腫のモデルを使用しましたが、SF3B1 変異は血液がんから固形がんまで多岐にわたるため、他の腫瘍モデルでも治療効果を検討する予定です。特に骨髓異形成症候群の中でミトコンドリアへの鉄沈着を有するタイプでは、大半の症例で SF3B1 変異を有するため、治療により造血機能の回復が期待されます。

また、クロマチン構造の脱制御がどのように遺伝子発現の脱制御を引き起こすかについても生体モデルを用いて明らかにします。すでに BRD9 を組織特異的にノックアウトできるマウスモデルの作成に成功しており、このマウスを用いて BRD9 や ncBAF がクロマチン制御にどのように関わっているかを詳細に検討しています。

5. 論文タイトルと著者

Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer

スプライシング異常を介した non-canonical BAF 複合体の機能異常と発癌機構の解明

Daichi Inoue^{1,2,*}, Guo-Liang Chew^{3,*}, Bo Liu¹, Brittany C. Michel^{4,5,6}, Joseph Pangallo³, Andrew R. D'Avino^{5,6}, Tyler Hitchman¹, Khrystyna North^{3,7}, Stanley Chun-Wei Lee¹, Lillian Bitner¹, Ariele Block¹, Amanda R. Moore¹, Akihide Yoshimi¹, Luisa Escobar-Hoyos¹, Hana Cho¹, Alex Penson¹, Sydney X. Lu¹, Justin Taylor¹, Yu Chen^{1,8}, Cigall Kadoch^{5,6}, Omar Abdel-Wahab^{1,8,**}, Robert K. Bradley^{3,7,**}

¹ メモリアルスローンケタリングがんセンター、腫瘍病態学部門

² 神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター、血液・腫瘍研究部

³ フレッドハッチンソンがん研究センター、情報生物学部門

⁴ ハーバード大学医学部、小児腫瘍学部門

⁵ マサチューセッツ工科大学・ハーバード大学、ブロード研究所

⁶ ハーバード大学医学部、医学生物学部門

⁷ ワシントン大学、ゲノム工学部門

⁸ メモリアルスローンケタリングがんセンター、内科学部門

***筆頭著者**

****責任著者**

6. 用語解説

※1 スプライシング

DNA の塩基配列に基づく遺伝情報から、不要な部分を取り除く編集作業をスプライシングという。真核生物では、各遺伝情報はコドン（暗号）としての意味をもたないイントロンによって中断されている。イントロンを含んだままで DNA から転写されたのち、スプライシングによって不要箇所のイントロンが除去され成熟したメッセンジャーRNA となる。

※2 クロマチン

DNA とその周囲のタンパクの核内での3次元構造を指す。DNA はヒストンなどの蛋白質がつくるヌクレオソームという複合体に巻き付いている。さらにらせん状にたたまることでコンパクトに核内に収納されている。クロマチンの構造は DNA の領域により異なり、機能している部位では緩んだ構造で活発に RNA の転写が行われる。

※3 NMD (Nonsense-mediated mRNA decay)

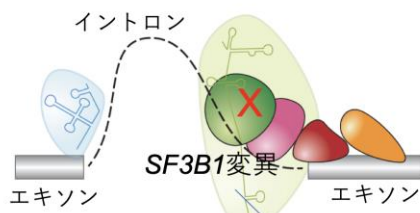
DNA 配列の変異により本来の終始コドンより上流に出現した終止コドンを含むメッセンジャーRNA を分解・除去することにより、最終産物である異常なタンパク質の量を未然に減少させるメッセンジャーRNA の品質監視機構。スプライシング異常においても、コドンのずれにより半数程度で NMD の機序で分解されと考えられる。

※4 CRISPR スクリーニング

DNA 切断酵素「Cas9」とゲノム DNA 上の任意の配列を認識する RNA 分子「sgRNA」を使いゲノム DNA 上を特定の位置で切断するゲノム編集技術を利用して標的遺伝子の絞り込みを行う。本研究では NMD の機序で分解される各々の標的遺伝子に対して複数の sgRNA ライブラリーを作成後、Cas9 を発現したサイトカイン依存性細胞株に導入し腫瘍化に直接寄与する NMD ターゲットを同定した。

※5 アンチセンスオリゴ

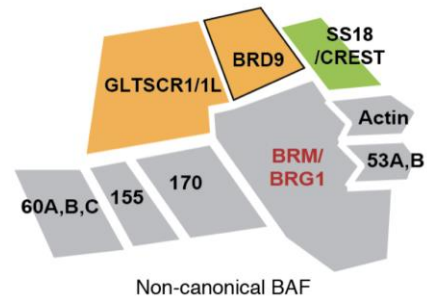
標的と相補的な配列を有する化学合成により製造された一本鎖の核酸であり、標的配列に結合して遺伝子発現・スプライシング・タンパクへの翻訳を制御することで、がんや遺伝性疾患など難治性疾患に対する革新的医薬品としての発展が期待されている。



BRD9 スプライシング異常



クロマチン構造を変換する複合体の形成不全



がん抑制遺伝子の抑制

発癌
(悪性黒色腫)

