

【スプライシングと抗がん剤耐性】

Splicing and resistance to anticancer drugs

福村 和宏・前田 明

Kazuhiro Fukumura

Akila Mayeda

Key words

mRNA 前駆体スプライシング,
短いイントロン, SPF45 (RBM17),
抗がん剤耐性

要 約

ヒトのイントロンの長さは約 40 塩基から 100 万塩基以上と、その差は 1 万倍以上にもなるが、正確無比にスプライシングされている。これらのイントロンが、同一の因子と分子機構でスプライシングされるとは考えにくい。そこで、ヒトゲノム中に存在する短いイントロンに注目し、そのスプライシングに必要な因子をヒトの核タンパク質から探索し、SPF45 (RBM17) を同定した。さらに、その SPF45 依存的なスプライシングは、教科書に記載されている U2AF 依存的なスプライシングとは分子機構が異なっていることを証明した。興味深いことに、SPF45 は、がん細胞で過剰発現している抗がん剤耐性の責任因子として知られていたが、その抗がん剤耐性獲得に至る作用機序は全く明らかにされていない。筆者らは、SPF45 によるスプライシング制御機構が、抗がん剤耐性獲得メカニズム解明の鍵になっているのではないかと予想している。

はじめに

真核生物の遺伝子は、イントロンによって細かく分断されている。そのため、mRNA 前駆体からイントロンを取り除く mRNA 前駆体スプライシング（以下スプライシング）は、正常な遺伝子発現に必須である。ヒト遺伝子のイントロンの長さは、43～100 万塩基以上（平均 5,849 塩基）に分布しており、その差は 1 万倍を優に超えるが、一寸の狂いもなくスプライシングされる。正確なスプライシングにはイントロンとエクソン境界を認識する必要があり、その不可欠な目印がシグナル配列、すなわち、5' スプライス部位、ブランチ部位、ポリピリミジン配列（PPT）と 3' スプライス部位である。これらのシグナル配列には、それぞれスプライシング必須因子である U1 snRNP, U2

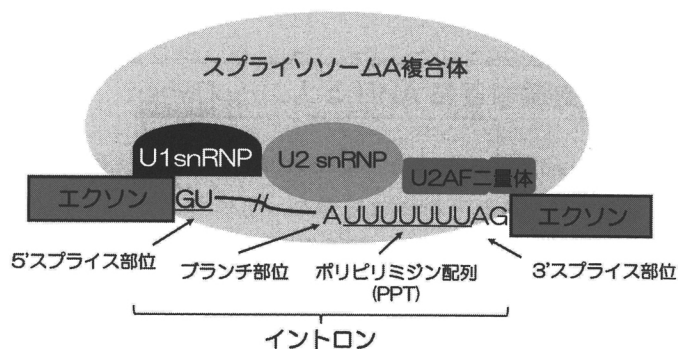


図 1 スプライシングのシグナル配列とスプライソソーム A 複合体

スプライシング反応の初期にイントロン上に形成されるスプライソソーム A 複合体の構造。その複合体に含まれるスプライシング必須因子が、それぞれ描かれたシグナル配列に結合する。ポリピリミジン配列は U で略記している。

snRNP, そして U2AF 二量体が結合し、初期の複合体であるスプライソソーム A 複合体を形成することで、イントロンが認識される（図 1）。しかし、A 複合体の立体構造は、ヒトゲノムに存在する短いイントロンをはみ出すほど大きい¹⁾。はたして、そのような短いイントロンは、どのようにしてスプライシングされるのだろうか？この素朴な疑問こそが、この研究を始める動機となった。

1. 短いイントロンのスプライシング因子としての SPF45 の発見

HNRNPH1 遺伝子の 56 塩基の短いイントロンをモデルとして²⁾、154 種類の核タンパク質に対する siRNA ライブラリをスクリーニングすることにより、スプライシング必須因子を探索した。その結果、選択的スプライシング因子として知られていた SPF45 (RBM17) が同定された。さらに、SPF45 を発現抑制したヒト培養細胞のトランスクリプトーム解析

藤田医科大学 総合医科学研究所 遺伝子発現機構学研究部門

Division of Gene Expression Mechanism, Institute for Comprehensive Medical Science, Fujita Health University

〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98 TEL: 0562-93-9378

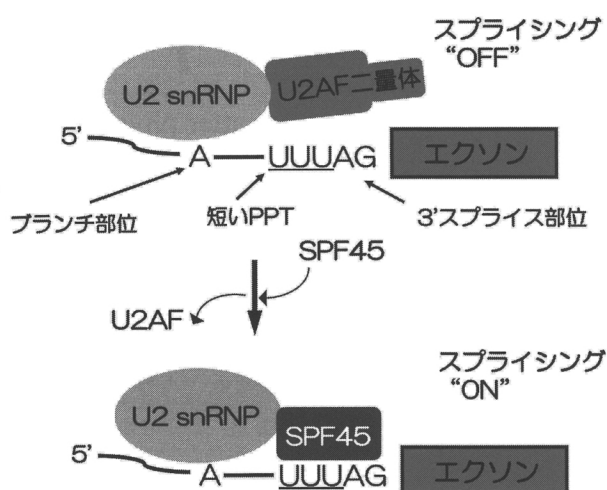


図2 短いイントロンで起こる SPF45 依存的なスプライシング
短いイントロンの短いPPTには、U2AF二量体が結合できず、その結果 SPF45 と置き換わり、SPF45 が U2 snRNP の構成タンパク質因子 (SF3b155) と結合して、スプライシングが遂行される。

(RNA-Seq) から、多くの短いイントロンにおいて、U2AF 二量体ではなく、SPF45 に依存するスプライシングが起こっていた²⁾。

SPF45 依存的にスプライシングされる短いイントロンの PPT 配列は非常に短く、U2AF 二量体が結合していなかった。さらに、SPF45 は U2AF 二量体に置き換わって U2 snRNP と、その構成タンパク質である SF3b155 (SF3B1) を介して結合することで、スプライシングが引き起こされることが判明した (図2)²⁾。U2AF 二量体は、スプライシングの必須因子として知られていたもので、まさに常識を覆す知見となった。

2. SPF45 は抗がん剤に対する多剤耐性に密接に関わる

これは基礎研究の成果であるが、医学分野への応用も期待できる。注目すべきことに、正常組織に比べて多種類のがんで、SPF45 が高発現している³⁾。さらに、SPF45 を過剰発現させると少なくとも6つの抗がん剤に対する多剤耐性を獲得する⁴⁾。抗がん剤の多剤耐性獲得は、抗がん剤を細胞外に排出するポンプ作用を持つトランスポーターの過剰発現が、既知の作用機序である。しかしながら、SPF45 を過剰発現させた抗がん

剤耐性細胞は、抗がん剤が細胞内に蓄積したままであり、この事実は新しい抗がん剤耐性獲得メカニズムの存在を示唆する⁴⁾。

現在、SPF45 の過剰発現が、抗がん剤耐性に関わる遺伝子群の発現上昇を誘導し、抗がん剤耐性を獲得しているという仮説を立て、研究を進めている。実際、SPF45 を発現抑制した細胞の RNA-Seq で、多種類の選択的スプライシングの変化や遺伝子発現変動を確認している。興味深いことに、SPF45 発現抑制細胞では MYC 遺伝子を含むがん関連遺伝子の顕著な発現減少が生じていた (未発表)。実は、MYC の過剰発現が化学療法抵抗性のがん細胞で重要な役割を果たすことが知られている^{5,6)}。

おわりに

筆者らが発見した SPF45 依存的スプライシング機構が、抗がん多剤耐性獲得のメカニズム解明の鍵を握っていると言っても過言ではないだろう。抗がん多剤耐性の問題が解決される糸口になれば嬉しい限りである。

文 献

- 1) Shimada MK, Sasaki-Haraguchi N, Mayeda A. Identification and validation of evolutionarily conserved unusually short pre-mRNA introns in the human genome. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 10376-10388 (2015).
- 2) Fukumura K, Yoshimoto R, Sperotto L, *et al.* SPF45/RBM17-dependent, but not U2AF-dependent, splicing in a distinct subset of human short introns. *Nat. Commun.* 12: 4910 (2021).
- 3) Sampath J, Long PR, Shepard RL, *et al.* Human SPF45, a splicing factor, has limited expression in normal tissues, is overexpressed in many tumors, and can confer a multidrug-resistant phenotype to cells. *Am. J. Pathol.* 163: 1781-1790 (2003).
- 4) Perry WL III, Shepard RL, Sampath J, *et al.* Human Splicing Factor SPF45 (RBM17) confers broad multidrug resistance to anticancer drugs when overexpressed—a phenotype partially reversed by selective estrogen receptor modulators. *Cancer Res.* 65: 6593-6600 (2005).
- 5) Niimi S, Nakagawa K, Yokota J, *et al.* Resistance to anticancer drugs in NIH3T3 cells transfected with c-myc and/or c-H-ras genes. *Br. J. Cancer.* 63: 237-241 (1991).
- 6) Lee KM, Giltman JM, Balko JM, *et al.* MYC and MCL1 Cooperatively promote chemotherapy-resistant breast cancer stem cells via regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Cell Metab.* 26: 633-647 (2017).

謝 辞

本稿で紹介した内容は、摂南大学の芳本玲講師、大阪大学の廣瀬哲郎教授、神戸大学の井上邦夫教授、ミュンヘン工科大学の Michael Sattler 教授らとの共同研究の成果を含みます。また本研究は、日本学術振興会の科研費 (18K07304, 16H04705, 16K14659) の助成を受けています。