



令和4年10月12日

報道機関 各位

熊本大学

血液悪性腫瘍の原因遺伝子 *DDX41* の変異が 造血障害を引き起こす機序を解明

(ポイント)

- 血液悪性腫瘍の原因遺伝子のひとつである *DDX41* 遺伝子の変異^{*1}が造血障害を起こす機序を明らかにしました。
- *DDX41* がRNAスプライシング^{*2}に関与し、またRNAスプライシングと転写伸長^{*3}とを連携させる役割を担うことを発見しました。
- *DDX41* 遺伝子変異を伴う血液悪性腫瘍に最適な治療法の開発に寄与することが期待されます。

(概要説明)

悪性腫瘍(がん)は、私たちの細胞の中に存在する遺伝暗号が異常な配列に置き換わり、かつ、それが蓄積することによって発症する病気です。10年ほど前から、次世代シーケンサーと呼ばれる、遺伝子配列を大量に読み取ることのできる装置が広く使われるようになり、悪性腫瘍に関係する遺伝子配列異常の解析が飛躍的に進みました。

急性骨髄性白血病(AML)や骨髄異形成症候群(MDS)と呼ばれる血液悪性腫瘍においても、すでに、これらの病気の発症に関わる遺伝子配列異常の大半が判明しています。一方で、血液細胞にそうした遺伝子配列異常が起きた際、細胞の中でどのような変化が生じ、最終的にAMLやMDSの発症に至るのかという機序については、まだ多くが明らかにされていません。

こうしたなか、熊本大学大学院生命科学研究部の松井啓隆(まつい ひろたか)教授らの研究グループは、AML・MDSの原因遺伝子のひとつとして知られる *DDX41* 遺伝子に注目し、この遺伝子の異常が細胞にもたらす障害の詳細を解析してきました。その結果、遺伝子異常に伴って細胞内の *DDX41* タンパク質が減少するために、RNAスプライシングと転写伸長という、本来協調的に行われるべきふたつの重要な生命現象の連携が損なわれ、DNA複製障害^{*4}を介して血液細胞の産生障害を起こすことを明らかにしました。

最近、*DDX41* 遺伝子変異はAML・MDSの約5%に検出されることが明らかにされ、

遺伝的な血液悪性腫瘍の原因遺伝子のひとつであることも判明しています。本研究成果は、本遺伝子異常を有するAML・MDSの治療戦略の確立に貢献することが期待できます。

本研究成果は、科学雑誌「Leukemia」に、令和4年10月14日にオンライン掲載されます。本研究は、広島大学原爆放射線医科学研究所の稲葉俊哉教授、国立がん研究センター鶴岡連携拠点の横山明彦チームリーダーをはじめとする多くの研究者らとの共同研究として行われたもので、文部科学省科学研究費補助金の支援および民間財団からの研究助成を受けて実施したものです。

(説明)

[背景]

急性骨髄性白血病(AML)や骨髄異形成症候群(MDS)といった血液悪性腫瘍では、5%程度の割合で、*DDX41*という遺伝子に変異が認められます。*DDX41*遺伝子からは、DEAD-box型RNAヘリケース*⁵という酵素の一種(*DDX41*タンパク質)が作られますが、*DDX41*遺伝子に変異を持つ細胞では、この酵素の量や機能が低下します。

最近の大規模な遺伝子解析研究により、父親由来および母親由来の、ふたつある遺伝子のうち、生まれつき片方の*DDX41*遺伝子に変異を持つ方が一定程度存在することが明らかにされています。また、こうした方の一部では後に、元々正常だったもう片方の*DDX41*遺伝子に別の変異が加わって、結果的に両方の*DDX41*遺伝子に変異が生じ、血液悪性腫瘍の発症につながることを判明しています(図1)。*DDX41*遺伝子に変異を持つ血液悪性腫瘍は、遺伝的素因のある場合であっても発症年齢が60代と比較的遅い、男性に患者が多い、骨髄細胞が少なくなりやすいなどの特徴を示し、また、血液悪性腫瘍を発症するよりも早い段階で、白血球数が減少する傾向があります。

RNAヘリケースは私たちの身体の中に30種類以上存在し、RNAスプライシング、リボソームRNA生合成、細菌やウイルス由来のDNA/RNAの認識など、RNAに関する多彩な役割を担っています。これまでに他の研究グループから、*DDX41*がRNAスプライシングに関与するという報告がなされましたが、*DDX41*の造血における役割や、*DDX41*遺伝子変異が血液悪性腫瘍の発症を引き起こす詳細な機序は不明のままでした。

[研究の内容と成果]

本研究ではまず、*DDX41*が結合するRNA配列の解析を行いました。その結果、*DDX41*は、メッセンジャーRNAの5'RNAスプライスサイト*⁶に結合することが分かりました(図2)。また、*DDX41*はRNAスプライシングのプロセスのうち、C複合体という段階でRNAスプライシング複合体に組み込まれることが判明し、*DDX41*がRNAスプライシング因子であることが確かめられました。一方で、これまでにMDSを中心とする血液悪性腫瘍で知られている他のRNAスプライシング因子の遺伝子変異の場合とは異なり、3'RNAスプライスサイトへの影響は少なかったことなどから、*DDX41*は、従来から知られているMDS関連RNAスプライシング因子とは異なる役割を担うものと考えられました。

次に、*DDX41*の量を減らした細胞(ノックダウン細胞)を作成し、その変化を解析

したところ、DDX41ノックダウン細胞では、細胞周期*7のうちS期におけるDNAの複製が軽微に障害され、障害が軽微であるがゆえに、細胞分裂を迎えるまでに、DNA複製障害に伴うDNA損傷の存在が無視され、十分な修復がなされないことがわかりました。そのために、細胞分裂を経た細胞においてDNA損傷が残され、強い形態異常や細胞死が生じました。

最後に、DDX41の発現低下によりDNA複製障害が起きる原因を探りました。RNAスプライシングは、転写伸長と連動し協調的に進行することが知られていますが、DDX41は、RNAスプライシング因子・転写伸長因子の双方と相互作用することがわかりました。また、転写伸長を直接的に担うRNAポリメラーゼII(Pol II)という酵素の分布を解析したところ、Pol IIは、転写の際に5'RNAスプライスサイトでいったん速度を落とし、RNAスプライシング因子の完了を待つことが示されました(図3)。しかしながら、DDX41の量が不足する場合、または十分に機能しない場合には、Pol IIの5'RNAスプライスサイトにおけるスローダウンが起こらず、RNAスプライシングが終わっていないにも関わらず転写伸長を進めようとする現象が観察されました。その結果、転写伸長因子とDNA複製が衝突するリスクが増加し、これがDNA複製障害に結び付くことが示唆されました。

さらにこうした現象は、培養細胞だけでなく、人工的にDDX41遺伝子変異を導入したマウスの血液細胞でも観察されたため、本機序により、DDX41遺伝子変異が造血障害を起こすものと考えられました。

[展開]

血液悪性腫瘍は、主に細胞の増殖や分化に関わる因子をコードする複数の遺伝子に変異が生じることで発症します。今回初めて、RNAヘリケースが造血を制御する詳細な機序、ならびにRNAヘリケースをコードする遺伝子の変異が造血障害を引き起こす機序が明らかになりました。

血液悪性腫瘍においては、遺伝子変異に伴って生じる異常なタンパク質の働きを抑える、あるいは、腫瘍細胞に特異的に発現するタンパク質に結合し細胞の増殖・生存を阻害する、などのいわゆる分子標的治療が導入されることにより、その治療成績が向上しつつあります。今回の研究により、DDX41遺伝子変異を持つ血液悪性腫瘍では、DNA複製機構をはじめとするいくつかのシステムに障害を抱えていることが分かり、これらが腫瘍細胞の「アキレス腱」になりうることを示唆されました。

今後、造血障害が悪性腫瘍に進展するさらに詳細な機序を解明するとともに、こうした「アキレス腱」を攻撃する分子標的治療法の確立を進めることができれば、血液悪性腫瘍をさらに治癒の期待できる病気に変えられるものと期待されます。

図1. DDX41遺伝子変異の獲得による血液悪性腫瘍の発症

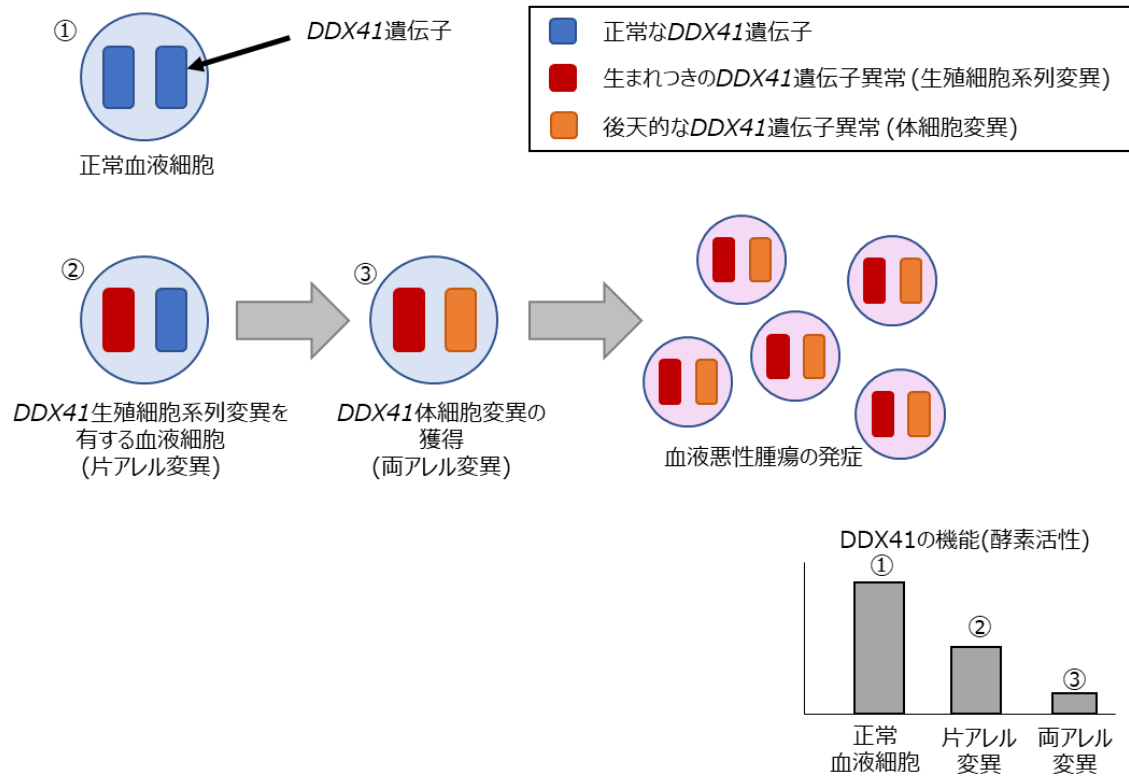
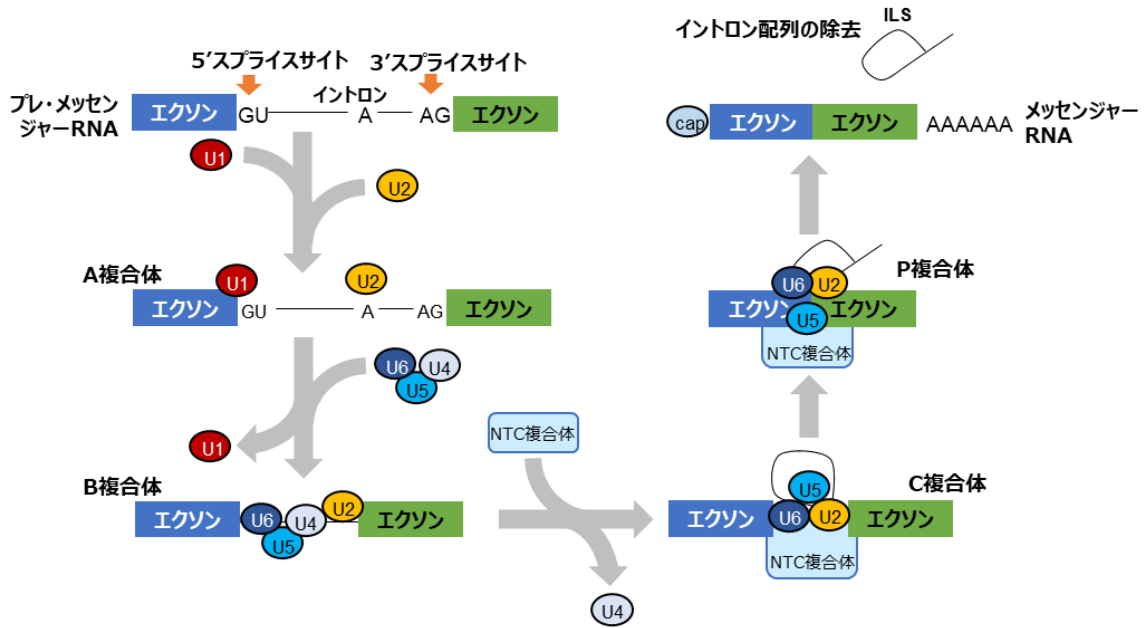


図1の説明

正常血液細胞では、DDX41遺伝子は父親由来・母親由来のふたつが存在し、そのどちらにも遺伝子配列の異常はありません(①)。しかしながら、一部の方では生まれつき片方のDDX41遺伝子に配列異常があり(②)、DDX41タンパク質の酵素活性が十分ではありません。こうした方の血液細胞が後に、もともと正常であったDDX41遺伝子に後天的な変異を獲得すると(③)、DDX41の機能がさらに損なわれ、これが血液悪性腫瘍の発症要因になります。

図2. RNAスプライシングのプロセスとDDX41の関与

A) RNAスプライシングプロセス



B) 5'スプライスサイトへのDDX41の結合

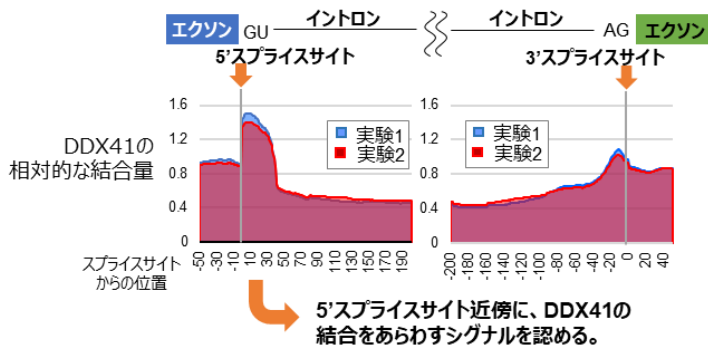
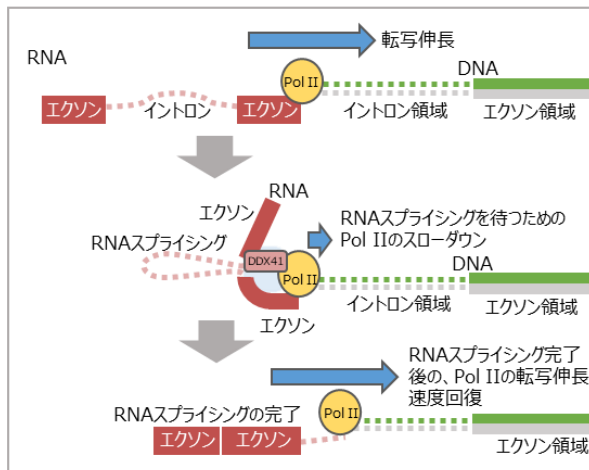


図2の説明

- A) DNAから転写されて作られたRNAには、当初は、エクソン(青色・緑色)の間にイントロンという領域が存在していますが、上図に示すように、様々なタンパク質/RNA(U1からU6で示される因子)がエクソンとイントロンの境界を認識し、段階的に境界部分を切断することによって、イントロンを取り外します。これを、RNAスプライシングといいます。
- B) エクソン・イントロン境界のうち、イントロンの始まりに相当する部位のことを5'スプライスサイト、イントロンの終わりの部分を3'スプライスサイトといいます。本研究では、CLIP-seqという特殊な解析方法を用いることにより、DDX41が5'スプライスサイトに結合することを見出しました。

図3. RNAスプライシングと転写伸長の連携

A) 正常なRNAスプライシングと転写伸長の連携



B) DDX41が機能しない場合のRNAスプライシングと転写伸長の連携障害

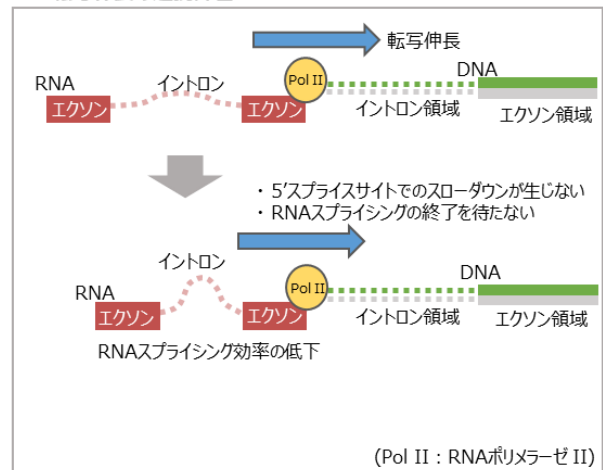


図3の説明

- A) RNAポリメラーゼ II(Pol II)は、DNAの配列を読み取りながらDNA上を移動し、RNAを合成していきます。合成されたRNAからはイントロンがとり外される必要がありますが(RNAスプライシング)、この際Pol IIは、上図に示すように5'スプライスサイトでいったん速度を落とし、RNAスプライシングが完了するのを待ちます。RNAスプライシングが終わると再び、Pol IIによる転写伸長の速度が回復します。
- B) DDX41が不足する場合、あるいは機能しない場合には、DDX41を介した転写伸長とRNAスプライシングとの連携が障害されます。

[用語解説]

*1. 遺伝子の変異：DNAは4種類のデオキシヌクレオチドという物質で構成され、約30億文字に相当する遺伝暗号として細胞のなかに納められています。DNAが何らかの損傷を受けた場合には、それを修復する作業が行われますが、修復が正しく行われなかった場合には、本来の遺伝暗号と異なる配列に置き換わることがあります。DNAのうち、主にタンパク質を作らせるための設計図に相当する部分のことを遺伝子と呼び、遺伝子領域の配列が本来と別のもに変わることが、遺伝子変異といいます。遺伝子変異が起こると、本来それをもとに作られるべきタンパク質が作られなくなったり、異常なタンパク質が合成されるようになってしまう。

*2. RNA スプライシング：細胞内でタンパク質が合成される際、まず転写によってDNAからRNA（メッセンジャーRNA）が合成され、続いて翻訳によってRNAからタンパク質が合成されます。DNAから転写されたRNAにはエクソンと呼ばれる部分とイントロンと呼ばれる部分が存在しますが、このうちタンパク質に翻訳されないイントロンは、転写後にRNAから取りはずされます。このイントロンが取り外される現象をRNA スプライシングといい、RNA スプライシングを含む複数の過程を経てメッセンジャーRNAが作られ、翻訳に用いられます。

*3. 転写伸長：DNAからRNAが合成される転写では、遺伝子の始りの部分(転写開始点)から終わりの部分(転写終結点)に向かって、RNAポリメラーゼIIという酵素が移動しながら、DNAの配列を読み取りRNAを合成していきます。この現象を転写伸長といいます(図3もご参照ください)。

*4. DNA複製障害：ひとつの細胞が分裂してふたつに増える際、まず核の中に存在す

る DNA が複製され、もとの倍の量になります。複製された DNA は、細胞が分裂する際に、ふたつの細胞に均等に分配されます。DNA を複製する際には、DNA 二重らせん構造がいったん解きほぐされそれぞれの DNA 鎖が複製されますが、DNA が途中で切れていたり、一部が欠けていたりするときには、損傷した DNA を修復しなくてはならないため、複製に遅れが生じます。

*5. RNA ヘリケース (RNA ヘリカーゼ) : RNA の構造を変換する酵素の総称。RNA が相補的に結合して二本鎖となっている構造を解いたり、RNA とタンパク質との相互作用を調整したりする役割を担い、転写(DNA から RNA を合成するプロセス)、RNA スプライシング、リボソーム(タンパク質を作るための細胞内構造体)の合成など、RNA が関与するほとんどの場面に関与すると考えられています。

*6. RNA スプライスサイト : RNA スプライシングによってイントロン領域が取り外される際、エクソンとイントロンの境目にある、イントロン側の特別な配列が目印となります。イントロンの始まりに相当する目印 (部位) は 5'スプライスサイト、イントロンの終わりに相当する目印は 3'スプライスサイトと呼ばれています。様々なタンパク質/RNA 複合体がそれぞれを認識し切断することで、RNA スプライシングが行われます(図 2 もご参照ください)。

*7. 細胞周期 : 細胞は、G1 期(DNA 合成準備期)→S 期(DNA 合成期) →G2 期(分裂準備期) →M 期(分裂期)というサイクルを繰り返しながら増殖します(ただし、分裂しない細胞では、G0 期と呼ばれる静止状態になる場合もあります)。このうち S 期において、*4 で説明した DNA の複製が行われます。

(論文情報)

論文名 : DDX41 coordinates RNA splicing and transcriptional elongation to prevent DNA replication stress in hematopoietic cells

著者 : Satoru Shinriki^{†#}, Mayumi Hirayama[†], Akiko Nagamachi, Akihiko Yokoyama, Takeshi Kawamura, Akinori Kanai, Hidehiko Kawai, Junichi Iwakiri, Rin Liu, Manabu Maeshiro, Saruul Tungalag, Masayoshi Tasaki, Mitsuharu Ueda, Kazuhito Tomizawa, Naoyuki Kataoka, Takashi Ideue, Yutaka Suzuki, Kiyoshi Asai, Tokio Tani, Toshiya Inaba, and Hirotaka Matsui[#] ([†]:co-first authors, [#]: corresponding authors)

掲載誌 : Leukemia

URL : <https://www.nature.com/articles/s41375-022-01708-9>

DOI : 10.1038/s41375-022-01708-9

【お問い合わせ先】

熊本大学 大学院生命科学研究部

臨床病態解析学講座

担当 : 教授 松井啓隆

電話 : 096-373-5283

e-mail : hmatsui@kumamoto-u.ac.jp