

令和 7 年 6 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K06925

研究課題名（和文）がんで蓄積する未成熟転写終結RNAの多層的ライフサイクルの全容解明

研究課題名（英文）Towards understanding of life cycle of prematurely terminated RNAs accumulated in cancer cells

研究代表者

尾上 耕一 (Ogami, Koichi)

名古屋大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70796523

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞では、イントロン内で早期に転写が終結して生じる異常なRNA（ptRNA）が産生される。ptRNAは、潜在的に有害な分子とも、機能性タンパク質を供給する有益な分子ともなり得るが、それらがどのように制御され、がんとのどのように関連するかについては、ほとんど解明されていない。本研究では、さまざまながんにおけるptRNAの発現を解析し、その多様なプロファイルを明らかにするとともに、これらの傾向ががん患者の分類に利用できる可能性を示した。ptRNAの発現は細胞の未分化性やRNA修飾因子の発現と関連することがわかった。さらに、ptRNA由来タンパク質の解析から、新生抗原となり得る候補分子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、がんにおけるRNA異常の中でも未開拓のままである早期転写終結型RNA(ptRNA)に焦点を当て実施した。主要な成果として、がん患者のRNAデータからptRNAを高精度に同定できるパイプラインの構築に成功したことが挙げられる。これを適用することで、がん種ごとに特徴的なptRNAの発現や、同じがん種の患者間におけるptRNA発現の多様性、ptRNAの制御に関わる遺伝子の同定に関する知見が得られることを実証した。さらに、ptRNAから生じる異常タンパク質の評価に関する基盤も構築した。これらの成果をもとに、ptRNA情報に基づくがんの診断や治療標的の探索への発展することが期待される。

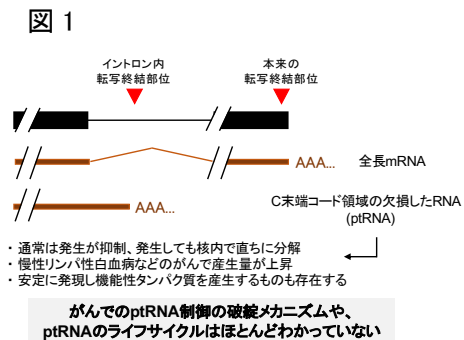
研究成果の概要（英文）：In cancer cells, aberrant RNAs (ptRNAs) are produced due to premature transcriptional termination within introns. ptRNAs can act either as potentially harmful molecules or as beneficial sources of functional proteins; however, how they are regulated and associated with cancer remains largely unclear. In this study, we analyzed ptRNA expression across various cancer types and revealed their diverse expression profiles, demonstrating their potential utility in classifying cancer patients. We found that ptRNA expression is associated with cellular immaturity and the expression of RNA modification factors. Furthermore, our analysis of ptRNA-derived proteins identified candidate molecules with potential as neoantigens.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：イントロン内ポリアデニル化 がんトランスクリプトーム RNA代謝 RNA修飾 新生抗原

1. 研究開始当初の背景

近年、がん細胞でイントロン内のポリアデニル化シグナルの利用亢進により産生された未成熟転写終結型 RNA (ptRNA, prematurely terminated RNA) が蓄積していることが報告され、注目を集めている。これらの報告では、がん抑制遺伝子や相同組換え因子などの遺伝子から C 末端の欠損した異常なタンパク質の発現が起こることが示され、がんとの関連が示唆されている (図 1)。これまでに研究代表者は、RNA 分解酵素複合体である RNA exosome が ptRNA 分解を担うこと、その欠損により、ptRNA が細胞質にも蓄積・翻訳されることを明らかにしてきた (Ogami et al., Genes Dev 2017)。



一方で、ptRNA の中には安定に発現し、機能性タンパク質を産生するものも存在する。このように、ptRNA は、潜在的な有害分子とも、機能性タンパク質を供給する有益な分子ともなり得る。本研究は、がんで蓄積する ptRNA の同定と分析により、ptRNA の脱制御に関する知見を得るとともに、そのプロファイルに基づくがんの分類、およびそれらの翻訳産物の新生抗原としての性質の解明を目的に開始した。

2. 研究の目的

ptRNA の同定には、3'READS など、ポリアデニル化部位の同定に特化した RNA シーケンス手法が利用されてきた。一方で、がん研究の分野では通常の mRNA-seq が一般に用いられている。本研究では第一に、mRNA-seq データから ptRNA を高い精度で同定できるパイプラインの構築に着手した。これをがん臨床検体の mRNA-seq データに適用し、pan-cancer で ptRNA の同定、さらにはその発現と関連する遺伝子の探索を実施した。さらに、ptRNA から生じるタンパク質は C 末端にイントロンが翻訳領域化した異常なアミノ酸配列を含んでいることに着目し、それらのネオペプチドとしての性質の分析を行った。

3. 研究の方法

- (1) pan-cancer での ptRNA 解析：公的がんデータベース TCGA に登録されている 33 がん種・10,495 症例の原発がん組織、および隣接正常組織の両方のデータがある 22 がん種・719 症例、BEAT-AML および京都大学バイオバンクに収集された白血病の臨床検体の計 2,000 症例以上の RNA-seq データについて、上述のパイプラインにより ptRNA の解析を行った。
- (2) ptRNA 制御因子の同定：ENCODE に登録されている遺伝子のノックダウン・ノックアウト条件における RNA-seq 1,110 例について、上述のパイプラインにより ptRNA の解析を行った。
- (3) ptRNA にコードされるネオペプチド配列の解析：ptRNA の翻訳領域化されたイントロンについて、in silico translation、および k-mer ペプチドリストを作成した (k=8,9,10,11)。flank 配列は 0,10,30mer とし、MHCflurry2.0, HLApollo, Munis により免疫提示性とペプチド断片へのプロセッシング可能性をスコア化した。また、終止コドンを欠く異常な RNA の分解メカニズムである non-stop decay の基質となりうるかを判断するため、終止コドンの有無についても情報を得た。

4. 研究成果

(1) ptRNA の同定パイプライン

通常の RNA-seq からイントロン内転写終結部位を同定するソフトウェアはすでに複数報告されているが、それらの多くはポリアデニル化部位データベース PolyADB や PolyASite 2.0などを参照して定量するものであり、de novo での検出をするものではない。最近、de novo 同定のパイプラインが報告されたが、膨大な量の部位が検出され、その多くが偽陽性である点で実用性に乏しい。本研究では、複数の厳しい基準を全て満たす部位のみを同定する新規のパイプラインを構築することで、既存の方法よりも高精度にイントロン内転写終結部位を同定することに成功した。この方法で得られた部位の上流には、ポリアデニル化シグナル(AATAAA)が高い頻度で見られた (図 2、IPA sites: イントロン内転写終結部位)。

図 2 ポリアデニル化配列の解析



この方法で得られた部位の上流には、ポリアデニル化シグナル(AATAAA)が高い頻度で見られた (図 2、IPA sites: イントロン内転写終結部位)。

(2) pan-cancer での ptRNA 解析

TCGA の RNA-seq データから ptRNA を同定・発現解析し、サンプル間での発現のばらつきが上位 2,000 の ptRNA に基づき患者を分類したところ、がん種に特徴的な ptRNA 発現イベントが存在することが明らかとなった (図 3)。さらに、同一がん種内であっても、ptRNA プロファイルにより異なるクラスターに分けられることを見出している。また、隣接正常組織との比較により、一部のがん種において、ptRNA 発現が上昇傾向にある患者群と、低下傾向にある患者群が混在するケースがあることが判明した (図 4)。

さらに、急性骨髄性白血病に特に注視した解析では、シングルセル RNA-seq データの ptRNA 解析パイプラインも新たに構築することで、ptRNA 発現プロファイルの患者間多様性、それらの分化ヒエラルキーとの関連および RNA 修飾酵素の発現との関連を明らかにしている。

(3) ptRNA 制御因子の同定

ENCODE に登録されている遺伝子のノックダウン・ノックアウト条件における RNA-seq データを用いて、ptRNA 発現の制御因子の網羅的な探索を実施した。それらの中から、これまで ptRNA 制御に関する報告のない複数の候補因子を見出すことができた。

(4) ptRNA にコードされるネオペプチド配列の解析

利用したソフトウェアで、抗原提示される可能性が高いもののコンセンサスを取り、複数の候補を得た。また、*in silico translation* の結果、ptRNA のうち、終止コドンに欠くものは 0.7%程度と少なく、*non-stop decay* の基質となりうるものは稀であることが明らかとなった。

図 3 ptRNA に基づく pan-cancer の UMAP

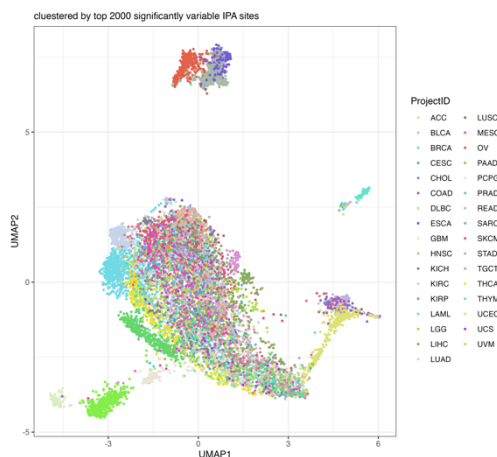
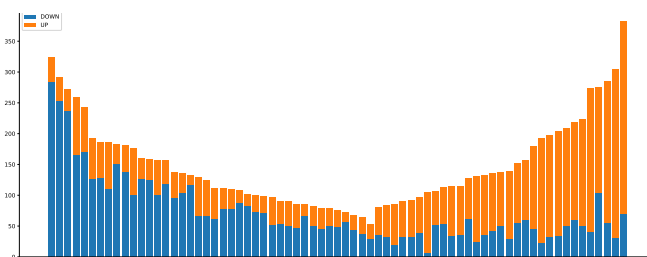


図 4 同一がん種内における ptRNA 発現傾向の多様性



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ogami Koichi, Ogawa Keima, Sanpei Shoko, Ichikawa Fumito, Udagawa Tsuyoshi, Hoshino Shin-ichi	4. 巻 12
2. 論文標題 A Combinatorial Code for CPEB-Mediated c-myc Repression	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2410 ~ 2410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells12192410	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Miho M., Iijima Kenta, Ogami Koichi, Shinjo Keiko, Murofushi Yoshiteru, Xie Jingqi, Wang Xuebing, Kitano Yotaro, Mamiya Akira, Kibe Yuji, Nishimura Tatsunori, Ohka Fumiharu, Saito Ryuta, Sato Shinya, Kobayashi Junya, Yao Ryoji, Miyata Kanjiro, Kataoka Kazunori, Suzuki Hiroshi I., Kondo Yutaka	4. 巻 14
2. 論文標題 TUG1-mediated R-loop resolution at microsatellite loci as a prerequisite for cancer cell proliferation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-40243-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogami Koichi, Oishi Yuka, Hoshino Shin-ichi	4. 巻 4
2. 論文標題 Protocol for analyzing intact mRNA poly(A) tail length using nanopore direct RNA sequencing	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 102340 ~ 102340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2023.102340	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kitai Hiroki, Kato Noritoshi, Ogami Koichi, Komatsu Shintaro, Watanabe Yu, Yoshino Seiko, Koshi Eri, Tsubota Shoma, Funahashi Yoshio, Maeda Takahiro, Furuhashi Kazuhiro, Ishimoto Takuji, Kosugi Tomoki, Maruyama Shoichi, Kadomatsu Kenji, Suzuki Hiroshi I.	4. 巻 20
2. 論文標題 Systematic characterization of seed overlap microRNA cotargeting associated with lupus pathogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 248
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12915-022-01447-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ogami Koichi, Oishi Yuka, Sakamoto Kentaro, Okumura Mayu, Yamagishi Ryota, Inoue Takumi, Hibino Masaya, Nogimori Takuto, Yamaguchi Natsumi, Furutachi Kazuya, Hosoda Nao, Inagaki Hiroto, Hoshino Shin-ichi	4. 巻 41
2. 論文標題 mTOR- and LARP1-dependent regulation of TOP mRNA poly(A) tail and ribosome loading	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111548 ~ 111548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.111548	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 尾上耕一、星野真一
2. 発表標題 Making TOP mRNA a Top Priority: Unraveling the Regulation of Protein Synthesis Machinery through Poly(A) Tail Dynamics
3. 学会等名 第61回生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾上耕一、鬼丸洸、芳野聖子、鈴木洋
2. 発表標題 RNAフィードバックモデルによる転写サイクル調節
3. 学会等名 2022年度 先端モデル動物支援 若手支援技術講習会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾上耕一、鬼丸洸、芳野聖子、鈴木洋
2. 発表標題 核内RNAレベルに呼応した転写凝集体の状態変化と転写サイクルへの影響
3. 学会等名 第12回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 尾上耕一、星野真一
2. 発表標題 mTOR経路不活化時におけるLARP1を介した長鎖ポリA型TOP mRNAの蓄積と意義
3. 学会等名 第3回シロリムス新作用研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------