

令和元年9月10日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18989

研究課題名(和文) Ftsj1によるtRNA修飾の癌での病態生理の解明とそれに基づく治療法の開発

研究課題名(英文) Development of anticancer drugs based on the knowledge of the roles of Ftsj1-mediated tRNA modification

研究代表者

藤村 篤史 (Fujimura, Atsushi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：10771082

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：癌細胞における翻訳制御機構の一端を解明するために、tRNA修飾酵素FTSJ1が癌の動態をどのように規定するかを研究した。FTSJ1は癌細胞の幹細胞性を維持するのに必要であり、この発現低下により、癌細胞の自己複製能や造腫瘍能が著しく低下した。この原因として、FTSJ1ががん幹細胞性の維持に必要なCyr61やCTGFなどの液性因子の発現を制御していることを明らかにした。本研究の遂行により、今後革新的な抗がん剤開発に直結するデータを豊富に得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、がん生物学において近年勃興しつつある「転写と翻訳の乖離」の問題解決の一端を担うものと考えられる。とりわけ、「転写と翻訳の乖離」に起因する「がん組織の不均一性」に関しては、がんを難治たらしめる「幹細胞性」の獲得・維持と密接に関係しているため、本研究で明らかになった事項を外挿すれば、「がん幹細胞を標的とする抗がん剤の開発」といった、全く新しい切り口からの制癌戦略の構築が可能となる。このことは、本研究が学術的に意義深いものだけでなく、がん治療法の開発といった社会的意義にも大きく影響を与えるものであると確信する。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the roles of translational machinery in cancer biology, I focused on tRNA-modification enzyme FTSJ1, and investigated how FTSJ1 determined the cancer cell fate. FTSJ1 is required to sustain the cancer stem cell-related traits: when FTSJ1 is down-regulated, the cancer cells lost the self-renewal capacity and tumor-forming capacity. As a functional target of FTSJ1, I identified Cyr61 and CTGF, both of which are essential to control cancer stem cell. These results indicate the possibilities of the development of FTSJ1 inhibitor as a groundbreaking anti-cancer drug.

研究分野：がん幹細胞、翻訳制御機構

キーワード：tRNA修飾酵素 癌幹細胞

1. 研究開始当初の背景

転写翻訳機構は真核生物の生命現象の要であり、種々の因子が精巧かつダイナミックに連関して制御される。癌においては、epigenetics 等の転写制御機構や、リボソームを主座とした翻訳制御機構についてこれまで多くの知見が得られてきたが、翻訳機構の要諦である tRNA、とりわけその修飾が癌生物学にどのようなインパクトを与えるのかという点については、ほとんど理解が進んでいなかった。これは、tRNA の修飾様式が極めて多岐広範に亘り、しかもその多くで未だに責任酵素が明確に同定されていないことに起因する。私と共同研究を進めている熊本大学分子生理学教室(富澤一仁教授)では、これまでリジン tRNA のチオメチル化修飾と2型糖尿病の病態生理との関連について解析を行ってきた実績がある。私はこうした現況を踏まえて、tRNA 修飾の病態生理的役割を癌研究領域で解析することで、新たな制癌戦略の確立に向けた体系的な理解を進めていきたいと願い、本研究を提案した。

2. 研究の目的

本研究では、「癌における翻訳機構の病態生理の解明」を将来の目標に据え、その端緒として、翻訳効率および正確性を規定する tRNA 修飾に着目し、主に乳癌を対象として次の3点に尽力する。(1) 癌進展に關与する tRNA 修飾酵素の候補の一つとして同定した FTSJ1 について、発癌/担癌モデルを用いてその役割を多角的に解析する。(2) FTSJ1 による癌進展機構を説明するモデルとして、がん幹細胞性シグナルの増幅機構を解析する。(3) FTSJ1 が標的とする機能因子を同定する。以上(1)~(3)の検証を通して、未だに不明な点の多い tRNA 修飾の癌における病態生理的役割を解明し、以って制癌戦略の構築に役立つ知見を得ることを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1) 癌進展における FTSJ1 の役割について

悪性腫瘍細胞株(乳癌、胃癌、脳腫瘍)に対して、shRNA レンチウイルスを用いて FTSJ1 をノックダウンさせた亜株を作成した。これらの亜株の分子的特性を評価するために、ウェスタンブロットングや定量 PCR 等を用いて、特に幹細胞性に係るプロファイリングを行った。その上で、自己複製能(癌幹細胞性)を評価するためにスフェア形成アッセイを、また生存率や増殖能を評価するためにクロノジェニックアッセイを行った。また、胃癌細胞株の FTSJ1 の発現レベルを変化させた亜株を用いて、造腫瘍能を評価した。

(2) FTSJ1 によるがん幹細胞性シグナルの制御機構について

FTSJ1 の発現レベルを変化させた乳癌および胃癌の亜株を用いて、がん幹細胞性中核転写因子の標的遺伝子のプロファイリングや

転写活性レポーターによる評価を行った。

(3) FTSJ1 が標的とする機能因子の同定について

FTSJ1 の発現増減により転写・翻訳レベルでタンパク質量が変化する因子を同定するために、主にバイオインフォマティクスの手法を駆使した。これに追加して、実際に同定した液性因子ががん幹細胞性を制御することを確認した。

4. 研究成果

(1) 癌進展における FTSJ1 の役割について

FTSJ1 の shRNA を導入した乳癌細胞株 MDA-MB-231 および胃癌細胞株 NUGC3 および悪性脳腫瘍細胞株 JK2 の各亜株から得られたサンプルを用いて、ウェスタンブロットングおよび定量 PCR を行った。FTSJ1 ノックダウン細胞株においては、コントロール shRNA 導入株に比べて、癌幹細胞性マーカーとして知られる Nestin、CD44、CD133 の発現が有意に低いことがわかった。また生物学的評価として、スフェア形成アッセイを行ったところ、FTSJ1 が自己複製能の維持に必須であることを明らかにした。細胞の生存率や増殖能を評価するためのクロノジェニックアッセイでは、FTSJ1 が癌細胞の維持に必要なことがわかった。

(2) FTSJ1 によるがん幹細胞性シグナルの制御機構について

FTSJ1 の発現レベルを上昇または低下させた乳癌および胃癌細胞株の亜株を用いて、がん幹細胞性中核転写因子の標的遺伝子のプロファイリングを行ったところ、当該転写因子の標的遺伝子の代表である CTGF や Cyr61 の発現レベルが FTSJ1 の発現レベルとよく相関することがわかった。また、転写調節活性を評価するために広く使用されているレポーター活性と FTSJ1 の発現レベルはよく相関することがわかった。

(3) FTSJ1 が標的とする機能因子の同定について

(2) で同定した Cyr61 や CTGF が実際ががん幹細胞性を規定するか否かを評価するために、乳癌や脳腫瘍細胞株に対して、shRNA レンチウイルスを用いてこれらの液性因子をノックダウンさせた亜株を作成した。これらの亜株の幹細胞性を(1)と同様に評価したところ、実際に Cyr61 と CTGF がともに幹細胞性の維持に必要なことがわかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5件)

1. Defective Mitochondrial tRNA Taurine Modification Activates Global Proteostress and Leads to Mitochondrial Disease. Fakruddin M, Wei FY, Suzuki T, Asano K, Kaieda T, Omori A, Izumi R, Fujimura A, Kaitsuka T, Miyata K, Araki K, Oike Y, Scorrano L, Suzuki T, Tomizawa K. *Cell Rep.* 22(2):482-496. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.051. 査読あり(2018).
2. Reactive sulfur species regulate tRNA methylthiolation and contribute to insulin secretion. Takahashi N, Wei FY, Watanabe S, Hirayama M, Ohuchi Y, Fujimura A, Kaitsuka T, Ishii I, Sawa T, Nakayama H, Akaike T, Tomizawa K. *Nucleic Acids Res.* Jan 9;45(1):435-445. doi: 10.1093/nar/gkw745. Epub 2016 Aug 27. 査読あり(2017).
3. Induction of Expandable Tissue-Specific Stem/Progenitor Cells through Transient Expression of YAP/TAZ. #Panciera T, #Azzolin L, #Fujimura A, Di Biagio D, Frasson C, Bresolin S, Soligo S, Basso G, Bicciato S, Rosato A, Cordenonsi M, Piccolo S. *Cell Stem Cell.* Dec 1;19(6):725-737. doi: 10.1016/j.stem.2016.08.009. Epub 2016 Sep 15. 査読あり(2016) (# co-first authors).
4. HDAC9 regulates the alternative lengthening of telomere (ALT) pathway via the formation of ALT-associated PML bodies. Jamiruddin MR, Kaitsuka T, Hakim F, Fujimura A, Wei FY, Saitoh H, Tomizawa K. *Biochem Biophys Res Commun.* Dec 2;481(1-2):25-30. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.11.026. Epub 2016 Nov 8. 査読あり(2016).
5. Mtu1-Mediated Thiouridine Formation of Mitochondrial tRNAs Is Required for Mitochondrial Translation and Is Involved in Reversible Infantile Liver Injury. Wu Y, Wei FY, Kawarada L, Suzuki T, Araki K, Komohara Y, Fujimura A, Kaitsuka T, Takeya M, Oike Y, Suzuki T, Tomizawa K. *PLoS Genetics.* Sep 30;12(9):e1006355. doi: 10.1371/journal.pgen.1006355. eCollection 2016 Sep. 査読あり(2016).

[学会発表](計 5件)

1. 会議区分：国内会議
発表の種類：学会発表(シンポジウム)
会議名称：第95回日本生理学会大会
開催場所：高松
開催年月日：2018年03月28-30日
題目又はセッション名：Lineage-restricted dedifferentiation of neurons by transient expression of YAP-TAZ
2. 会議区分：国内会議
発表の種類：学会発表
会議名称：第94回日本生理学会大会
開催場所：浜松
開催年月日：2017年03月28-30日
題目又はセッション名：FTSJ1-Dependent Translational Control of Transcriptional Factor Networks Is Essential for Glioma Stem-Like Cells
3. 会議区分：国内会議
発表の種類：学会発表
会議名称：第94回日本生理学会大会
開催場所：浜松
開催年月日：2017年03月28-30日
題目又はセッション名：A tRNA Methyltransferase FTSJ1 Is Essential for Translational Control of the Hippo Transducer YAP/TAZ in Cancer Cells
4. 会議区分：国内会議
発表の種類：学会発表
会議名称：第67回西日本生理学会
開催場所：鹿児島
開催年月日：2016年10月7-8日
題目又はセッション名：YAP/TAZによる組織特異的な体性幹細胞への脱分化誘導法の確立
5. 会議区分：国際会議
発表の種類：学会発表
会議名称：tRNA 2016 Conference
開催場所：濟州島(韓国)
開催年月日：2016年09月4-8日
題目又はセッション名：Ftsj1 determines cancer stem cell-related traits of breast and gastric cancer

[図書](計 0件)

[産業財産権]
出願状況(計 0件)
(現在出願準備中)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤村 篤史 (Fujimura, Atsushi)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：10771082