

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08716

研究課題名(和文) Ab initio法を活用した造血系腫瘍におけるlncRNAの統合的機能解析

研究課題名(英文) Integrated functional analysis of lncRNAs in hematopoietic tumors using the Ab initio method

研究代表者

森 努 (Mori, Tsutomu)

福島県立医科大学・看護学部・准教授

研究者番号：60244373

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：lncRNAは、その多様な機能や相互作用に関してまだ未解明の部分があり、特に、造血器腫瘍との関連性を持つlncRNAについて、これまでに十分な研究がなされていない。本研究では、ab initio遺伝子軌道法を用いて、lncRNAの遺伝子ネットワーク構造および機能を解析し、造血器腫瘍に関連するlncRNAを特定した。特定されたlncRNAは、LINC00635、LINC00636、LINC01591の3つであった。これらのlncRNAは、細胞周期、DNA損傷修復、細胞移動および免疫応答に関与しており、造血器腫瘍の進行や治療において重要な役割を果たす可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究で、LINC00635、LINC00636、LINC01591の3つのlncRNAが造血器腫瘍との関連性が強いことが示された。これらlncRNAは、細胞周期、DNA損傷修復、細胞移動および免疫応答に関与しており、造血器腫瘍の進行や治療において重要な役割を果たす可能性がある。今後は、これらのlncRNAの機能を更に詳細に解析し、治療標的としての可能性を探るためのwet実験を進めていく予定である。この研究成果は、lncRNAの機能解析および造血器腫瘍の治療における新たな視点を提供するものであり、今後の研究に大きな貢献をすることが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study was initiated to elucidate the physiological functions of long non-coding RNAs (lncRNAs) and their roles in pathological conditions. lncRNAs are still largely unexplored in terms of their diverse functions and interactions, and their detailed analysis is of great importance in the life sciences and medicine. In particular, lncRNAs associated with hematopoietic tumors have not been well studied, and their elucidation may lead to the development of new therapeutic strategies. In this study, we analyzed the gene network structure and function of lncRNAs using the ab initio genetic orbital method and identified lncRNAs specifically associated with hematopoietic tumors. The lncRNAs identified were LINC00635, LINC00636, and LINC01591. These lncRNAs are involved in the cell cycle, DNA damage repair, cell migration, and immune response, and may play important roles in hematopoietic tumor progression and therapy.

研究分野：Information theory of gene networks

キーワード：bioinformatics long non-coding RNA hematopoietic tumors ab initio 遺伝子軌道法

1. 研究開始当初の背景

(1) 遺伝子は進化過程で2系統に分枝した。タンパクを情報分子とする protein coding gene と、RNA を情報分子とする non-coding RNA である。後者を代表するのは、長さが200ヌクレオチドを超える long non-coding RNA (lncRNA) であり、protein coding gene よりも多く存在すると考えられている。近年の研究から、lncRNA が遺伝子の機能調節や細胞の生理機能に重要な役割を果たすことが明確になってきた。とくに、エピジェネティックな調節因子として働くことが示され、遺伝子発現制御やクロマチンリモデリング、RNA スプライシングへの関わりが明らかにされている。さらに疾患との関連性も深いことが認識され、lncRNA による病態形成メカニズムを解明することは、生命科学および医学の領域における重要な課題であるとの見方が一般的となった。しかし、lncRNA の具体的機能や作用機序に関しては、いまだ未知の部分が多く残されている。とりわけ造血器腫瘍に關与する lncRNA は、これまで十分な研究がなされておらず、その特定と機能解明は、新たな治療標的の発見や病態理解の進展に結びつく可能性がある。

(2) lncRNA の重要性が認知されてきたにも関わらず、従来の研究から、本質的な課題が指摘されている。すなわち、lncRNA が如何にして他の分子 (DNA、RNA、タンパク質) と相互作用を行い、如何なる生物学的過程に關与するか、に關する情報が極めて不足していることである。だが、こうした情報を lncRNA の分子構造に求める試みは、タンパク分子の場合に比べて著しく困難である。なぜなら lncRNA の立体構造は不明確であるため、構造-機能連関の知見が極めて乏しく、標準的な実験技術が確立していないためである。その上、lncRNA は数多くの分子と複雑な相互作用を持つがゆえに、その全体像を把握することは極めて困難と言わざるを得ない。こうした多くの要因により、lncRNA の機能解析は殆ど進んでいないのが現状である。

(3) DNA 二重らせんの発見以来、遺伝子は分子構造をコードすることで機能発揮するとされてきた。だが私たちは、高次元情報理論に基づく計算により、遺伝子のネットワーク情報量 $H(N_i)$ は分子情報量 $H(M_i)$ を遙かに凌駕することを見出した。すなわち、

$$H(N_i) \gg H(M_i) \tag{1}$$

式(1)は、ネットワーク構造を決定せずに遺伝子機能を知ることが不可能であることを表わすと同時に、wet 実験に依存せず $H(N_i)$ 計算のみで遺伝子の機能推定が可能となることを示唆する。このとき遺伝子 G_i のネットワーク機能 ϕ は、確率論的な影響力の線形結合を用い、以下のような LCIO (linear combination of information orbitals) として表現できる。

$$\phi[\vec{r}(G_i)] = \sum_{j \neq i} c_{ij} \chi_{ij}(r) \tag{2}$$

これは G_i が他の遺伝子全てに及ぼす影響力の総和を表し、量子化学の分子軌道法と同様であることから、本法を **ab initio 遺伝子軌道法 (ab initio GO 法)** と名付けた (特許第 6820621 号)。この式(2)から、遺伝子のネットワーク機能は、他の全遺伝子への相互情報量 MI を求めれば計算でき、wet の実験を必要としない。

上記2式(1,2)は一般性を持つため、ab initio GO 法の対象は protein coding gene か non-coding RNA かを問わない。このとき、分子情報量 $H(M_i)$ がネットワーク情報量 $H(N_i)$ より圧倒的に少ないのだから、lncRNA においても、分子構造に基づく機能ではなくネットワーク機能への注目が重要ではなかろうか。先述通り、これまで lncRNA の機能解析は殆ど進んで来なかった。しかし情報の多くが遺伝子間ネットワーク構造 (図1) で表出されることに着目すれば、多次元情報理論を適用することで、タンパクの場合と同様の数理的解析が可能となる。

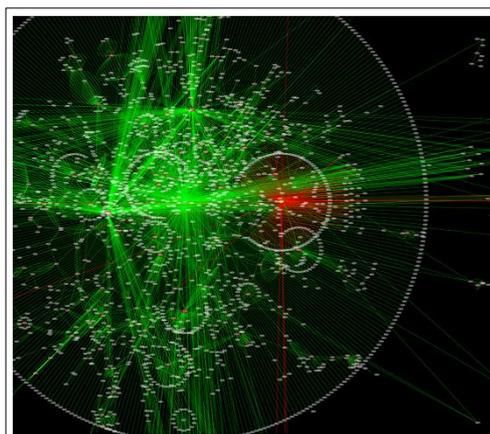


図1. 各遺伝子を点(node)、遺伝子同士の相互関係を線(edge)で表現した遺伝子ネットワーク。

(4) 私たちは無限次元の情報理論を世界に先駆けて開拓し、遺伝子が交換する相互情報量の定量法を開発するとともに、実験操作の不要な機能解析法を実用化した。この ab initio GO 法はネットワーク情報量に基づいて遺伝子特性を数値化し、機能計算に結びつける手法である。この技術により、従来は10年余も費やした機能解析が、僅か数分で行える。特筆すべきは、本法が理論上、protein coding gene か non-coding RNA かを問わずに適用可能なことである。この特性は、分子構造情報が欠落する故に進歩が妨げられてきた lncRNA 研究において、ab initio GO 法がゲームチェンジャーとなる可能性に期待を抱かせるものである。そこで私たちは、造血器腫瘍に關与する lncRNA の探索に ab initio GO 法を適用するとともに、特定された lncRNA の機能解析を通じて病態解析への応用を図った。

2. 研究の目的

本研究では、*ab initio* GO法を用いて造血器腫瘍の病態に関与するlncRNAを特定するとともに、特定されたlncRNAが腫瘍病態を導く機序の解明を目指した。さらに、この検討過程を通じて、lncRNA研究における*ab initio* GO法の有効性を実証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 私たちはまず、TCGAデータベースに登録されたlncRNAデータから出発した。そして、生物学的作用の強いlncRNAを特定する目的で、高頻度の発現変動が観察される遺伝子のうち、他の遺伝子群との相互情報量MIが統計的有意性を示す、合計121のlncRNAに注目した。次に*ab initio* GO計算を実行し、各lncRNAのネットワーク構造を特定した。TCGAは、多種多様な癌のゲノム、エピゲノム、トランスクリプトームデータを含む包括的なリソースであり、lncRNA研究において非常に有用である。

(2) 次に、Ingenuity Pathway Analysis (IPA)を用いて造血器腫瘍との関連性が高いlncRNAを特定するとともに、生物学的パスウェイと病態形成機序の解明を試みた。IPAは、遺伝子とその関連する経路、疾患、生物学的機能を解析するための強力なツールであり、遺伝子の機能的役割を理解するために広く活用されている。

4. 研究成果

(1) これらの手法から、LINC00635、LINC00636、LINC01591の3つのlncRNAが特定された。これらのlncRNAは、造血器腫瘍の発生において中心的な役割を担う可能性が示唆された。以下に、それぞれのlncRNAの解析結果を詳述する。

LINC00635の解析結果

LINC00635はDNA合成や修復、エピジェネティックな調節において重要であり、白血病の進行に重要な役割を果たしていることが示唆された。とくに細胞周期とDNAメチル化に関わる経路が強く関与していることが明らかになった。具体的な解析結果は以下の通りである。

Canonical Pathways 解析

Canonical Pathways解析結果(図2)では、慢性骨髄性白血病シグナル伝達(-log(p-value)=8.20、z-score=5.00)、リボヌクレオチドレダクターゼシグナル伝達経路(-log(p-value)=8.07、z-score=2.40)、細胞周期チェックポイント(-log(p-value)=7.65、z-score=5.40)、アリル炭化水素受容体シグナル伝達(-log(p-value)=7.34、z-score=2.24)、DNAメチル化および転写抑制シグナル伝達(-log(p-value)=7.13、z-score=3.44)などの経路に強く関与している。これらの経路は、細胞増殖、ゲノム安定性の維持、解毒プロセス、免疫応答の調節に重要である。以上により、LINC00635が白血病の病態形成機序に関わるだけでなく、免疫応答や造血器腫瘍の進展に関与する可能性が示唆された。



図2. LINC00635のcanonical pathways解析

Diseases and Biofunctions 解析

Diseases and Biofunctions解析結果では、LINC00635が慢性骨髄増殖性疾患(p-value=4.08E-6、z-score=1.69)、急性白血病(p-value=1.16E-12、z-score=1.583)、B細胞腫瘍(p-value=4.64E-17、z-score=1.381)など、血液系腫瘍の発生に関わることと、その活性化がこれら腫瘍性疾患の進展に影響を及ぼすことが示唆された。以上、LINC00635が造血器腫瘍に関与する機能を特定することができた。

LINC00636 の解析結果

LINC00636 は細胞分裂と DNA 損傷修復に重要な役割を果たすことが示唆され、特に Polo-Like Kinase および BRCA1 の経路が強く関与している。具体的な解析結果は以下の通りである。

Canonical Pathways 解析

Canonical Pathways 解析結果では、同遺伝子が細胞骨格シグナル伝達、慢性骨髄性白血病のシグナル伝達、細胞周期チェックポイントなど、重要な生物学的プロセスに関与していることが示された。具体的には、核内細胞骨格シグナル伝達経路 ($-\log(p\text{-value}) = 8.64$, $z\text{-score} = 6.11$) や慢性骨髄性白血病シグナル伝達 ($-\log(p\text{-value}) = 8.43$, $z\text{-score} = 4.91$) が挙げられる。

Diseases and Biofunctions 解析

Diseases and Biofunctions 解析結果では、LINC00636 が急性リンパ芽球性白血病 ($p\text{-value} = 1.69E-08$, $z\text{-score} = 1.16$) 急性白血病 ($p\text{-value} = 1.82E-13$, $z\text{-score} = 0.713$) 骨髄性白血病 ($p\text{-value} = 1.46E-11$, $z\text{-score} = 0.518$) などの造血器腫瘍との強い関連性が認められた。これらの結果は、LINC00636 が造血器腫瘍の形成や進展に大切な役割を果たす可能性を示しており、今後の研究でのさらなる解明が期待される。

LINC01591 の解析結果

LINC01591 は細胞分裂と癌に関連する経路に大きく関与しており、特に白血病やリンパ腫などの血液腫瘍において重要な役割を果たしている。ことに慢性骨髄性白血病シグナル経路で観察された高い活性 ($-\log(p\text{-value}) = 8.31$, $z\text{-score} = 3.11$) は、この特定の白血病の進展に深く関与することを示唆している。さらに、腫瘍細胞の増殖を促進し、細胞死を抑制する機能が検出されており、治療標的としての有望性を示している。具体的な解析結果は以下の通りである。

Canonical Pathways 解析

Canonical Pathways 解析結果では、LINC01591 が細胞周期制御や癌の進展に関連することが示された。とくに有糸分裂中期・後期 ($-\log(p\text{-value}) = 9.98$, $z\text{-score} = 5.98$) や細胞周期チェックポイント ($-\log(p\text{-value}) = 8.65$, $z\text{-score} = 5.86$) は細胞分裂の重要な段階であり、LINC01591 がこれらの経路に関与することで、細胞増殖や腫瘍形成に影響を与える可能性が示唆される。

Diseases and Biofunctions 解析

Diseases and Biofunctions 解析結果では、LINC01591 が今回の探索目的である白血病やリンパ腫と強く関連することが確認された。とりわけ、B 細胞腫瘍 ($p\text{-value} = 5.61E-12$, $z\text{-score} = 1.96$) や急性白血病 ($p\text{-value} = 2.39E-10$, $z\text{-score} = 1.77$) 造血器腫瘍 ($p\text{-value} = 5.05E-28$, $z\text{-score} = 1.76$) など血液系腫瘍において高い活性を示しており、これらの発症や進行に寄与する可能性がある。また、腫瘍細胞の増殖や死に関わる機能も示されており、LINC01591 が腫瘍の動態に与える影響についてさらに研究が必要である。

(2) 今回の研究から、LINC00635、LINC00636、LINC01591 の3つの lncRNA が造血器腫瘍と強い関連性を示すことが判明した。これらの lncRNA は、細胞周期・DNA 損傷修復・細胞移動・免疫応答に関与し、造血器腫瘍の発生進展に大きな役割を果たす可能性がある。興味深いことに、これら lncRNA は造血器腫瘍の病態進展において、それぞれが異なるプロセスで役割を果たしており、ことに細胞分裂、細胞周期チェックポイント、アポトーシスなどに関わると推測される。これらのプロセスは、白血病やリンパ腫などの血液腫瘍で本質的な役割を果たすとされており、将来的な診断標的・治療標的としても潜在的な重要性を秘めている。以上の研究成果は、lncRNA の機能解析技術および造血器腫瘍の病態理解に新たな視点を提供するものであり、将来の医学研究に顕著な貢献をすることが期待される。今後はこれら lncRNA の機能を更に詳細に追求し、治療標的としての可能性を探る wet 実験を進めていきたい。

(3) 現在までの lncRNA 研究は、その非コーディング性と、病態における役割の不明確さに加えて、活性化機構や調節機序の詳細が知られていないため、機能解析は殆ど進んで来なかった。とりわけ、統一の実験技術の欠如が深刻な障壁であった。だが、*ab initio* GO 法を適用することによってこれらの課題を克服し、lncRNA の機能的な重要性を解明する道が開かれた。今後は得られた知見に基づいてさらに詳細な実験的検証を進め、固形腫瘍・心血管疾患・炎症性疾患・神経変性疾患など、幅広い疾患における新たな治療法の開発に繋げていくことが期待される。

(4) 今回の研究成果により、造血器腫瘍において lncRNA が果たす役割の一端を解明することができた。今後は具体的な治療標的としての有効性の検証や、他の疾患における lncRNA の役割の解明にも力を入れていく方針である。また、解析技術の精度向上や新たな解析手法の開拓にも注力し、より多くの未知の lncRNA の機能を解明するための基盤を築きたい。

参考文献

Mori T et al, Influential force: from Higgs to the novel immune checkpoint *KYNU*. *Jxiv* (2022).
Yamamoto K et al, A histone modifier, ASXL1, interacts with NONO and is involved in paraspeckle formation in hematopoietic cells. *Cell Reports* (2021).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1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 Tsutomu Mori, Susumu Goyama, et.al	4. 巻 -
2. 論文標題 Influential Force: from Higgs to the novel immune checkpoint KYNU	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Jxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.51094/jxiv.156	査読の有無 無
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 Yamamoto Keita, Goyama Susumu, Asada Shuhei, Fujino Takeshi, Yonezawa Taishi, Sato Naru, Takeda Reina, Tsuchiya Akiho, Fukuyama Tomofusa, Tanaka Yosuke, Yokoyama Akihiko, Toya Hikaru, Kon Ayana, Nannya Yasuhito, Onoguchi-Mizutani Rena, Nakagawa Shinichi, Hirose Tetsuro, Ogawa Seishi, Akimitsu Nobuyoshi, Kitamura Toshio	4. 巻 36
2. 論文標題 A histone modifier, ASXL1, interacts with NONO and is involved in paraspeckle formation in hematopoietic cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109576 ~ 109576
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2021.109576	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 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 森 努
2. 発表標題 Ab initio遺伝子軌道法による新規免疫チェックポイントKYNU / kynureninaseの発見
3. 学会等名 福島医学会 学術研究集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森 努, 河村隆, 合山進
2. 発表標題 Identification of a Novel Immune Checkpoint KYNU by the Ab Initio Genetic Orbital Method
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森 努, 河村隆, 合山進
2. 発表標題 Discovery of a Novel Immune Checkpoint KYNU by the Ab Initio Genetic Orbital Method
3. 学会等名 2023年日本バイオインフォマティクス学会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森 努, 合山進
2. 発表標題 Ab initio遺伝子軌道法による 新規免疫チェックポイントKYNUの同定
3. 学会等名 第42 回日本トリプトファン研究会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 相互情報量の推定方法	発明者 森 努, 河村隆	権利者 公立大学法人 福島県立医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、509013703	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
研究分担者	合山 進 (Goyama Susumu) (80431849)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授 (12601)	

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
---------	---------