

令和 6 年 10 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19402

研究課題名（和文）RNA品質管理機構によるイントロン-エクソン化RNA生成と癌維持機構への関与

研究課題名（英文）Intron-exonized RNA regulated by RNA surveillance systems and their involvement in cancer maintenance mechanisms.

研究代表者

谷上 賢瑞（Taniue, Kenzui）

東京大学・アイソトープ総合センター・特任准教授

研究者番号：90648627

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：RNA品質管理機構の破綻が様々な疾患の原因になっているが、その分子機構は十分に明らかになっていない。本研究課題では、核内RNA分解機構RNAエキソソーム-MTR4複合体に着目し、lncRNAの分解を介して核内構造体形成を制御すること、膵癌細胞の増殖を制御していることを明らかにした。またロングリードシーケンスや質量分析を実施し、MTR4がhnRNPKと協調し、RNAプロセッシングミスにより生じる異常RNA(3XTと命名)を分解していることを明らかにした。さらに、KCTD13 遺伝子座から発現するKCTD13 3XTの翻訳産物が、異常な高次構造体KeXT bodyを形成していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

3XTは我々が独自に発見した異常RNA群である。また、hnRNPK-MTR4に認識されてRNAエキソソームに分解される3XTが存在することを明らかにしており、独自性が高い。さらに、KCTD13 3XT翻訳産物が形成するKeXT bodyは新規の高次構造体であり、対象とした研究は存在しない。近年、癌などの疾患の発症に相分離異常による構造体形成が関与することが明らかとなっており、KeXT bodyの様々な疾患への関与が期待される。3XT及びKeXT bodyの分子機構の解明は、RNA品質管理の全体像の理解に必須であるだけでなく、様々な疾患の診断/治療法開発の重要な基盤となることが期待される。

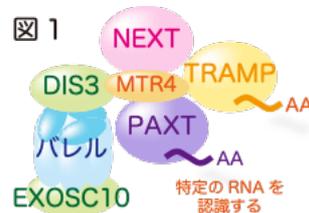
研究成果の概要（英文）：RNA surveillance systems, such as RNA processing, degradation, and modification, are important regulatory mechanisms that appropriately regulate gene expression levels in response to various external stimuli. Dysregulation of RNA surveillance systems is a cause of various diseases; however, their molecular mechanisms are not fully understood. Here we focused on the RNA exosome-MTR4 complex that degrades aberrant nuclear RNA. We revealed that it regulates paraspeckle formation by lncRNA NEAT degradation and that EXOSC4, an RNA exosome component, is required for the survival of pancreatic cancer cells. Moreover, MTR4 interacts with hnRNPK to recognize and degrade aberrant RNAs with defects in RNA processing. We also demonstrate that the protein translated from aberrant RNA derived from the KCTD13 gene forms aberrant condensates, termed KeXT body.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：RNA品質管理機構 RNAエキソソーム複合体 MTR4 異常RNA 3XT KeXT body hnRNPH1 hnRNPK

1. 研究開始当初の背景

RNA プロセッシング、RNA 分解、RNA 修飾などの「RNA 品質管理機構」は、様々な外部刺激に応じて適切に遺伝子発現レベルを調節するために非常に重要な制御機構であり、その中心的な役割を RNA 結合タンパク質 (RBP) が担っている。「RNA 品質管理機構」の破綻が、癌化等の様々な疾患の原因になっているが、「RNA 品質管理機構」の異常が生じる分子機構については十分に明らかになっていない。申請者は、核内 RNA 分解機構である RNA エキソソーム複合体に着目し、癌における「RNA 品質管理機構」の解明を進めてきた。RNA エキソソームは、9つのタンパク質 (EXOSC1 - EXOSC9) から構成される RNA 分解活性を持たないエキソソームバレルと RNA 分解活性を有する DIS3 や EXOSC10 から成る。さらに RNA ヘリカーゼ MTR4 (MTREX) は、様々な複合体と結合して、特定の標的 RNA を識別する (図 1)。また、MTR4 はスプライシング機構にも関与することが知られており、多機能タンパク質として様々な局面で機能する。



2. 研究の目的

申請者は、RNA エキソソーム-MTR4 複合体について下記の2点を見出した。1) RNA エキソソーム構成因子及び MTR4 は様々な癌で発現が亢進している。2) MTR4 の発現を抑制すると、様々な異常 RNA が生成される。本研究課題では、「RNA エキソソーム-MTR4 複合体は RNA が持つどのようなメッセージを識別して生成及び分解を制御するのか」、また「異常 RNA がどのような機能を有するのか」に焦点を当て、RNA エキソソーム-MTR4 複合体の機能解析を進める。

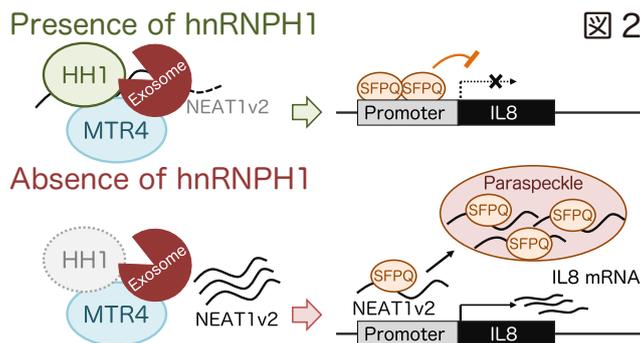
3. 研究の方法

- (1) 質量分析データを用いて、MTR4 の結合たんぱく質を推定し、lncRNA *NEAT1* の分解制御機構における機能を明らかにする。
- (2) TCGA などの大規模癌データセットを用いて、発癌において異常を呈する RNA エキソソーム因子を探索する。さらに、当該因子に対する発現抑制実験を行い、癌細胞の増殖への効果を調べる。RNA-seq データから遺伝子発現プロファイルを取得し、細胞に与える影響を調べる。
- (3) 従来の RNA シークエンスに加え、RNA 全長構造を可視化する direct RNA シークエンスとポリアデニル化部位を検出する 3'末端シークエンスを実施することで、MTR4 によって制御される異常 RNA 群の探索を行い、qPCR 解析で再評価する。続いて、モチーフ解析を行うことで、当該異常 RNA 群の発現制御機構を明らかにする。さらに、異常 RNA 群の中で、その翻訳産物が異常高次構造体の形成に関与するのかを確認する。

4. 研究成果

(1) hnRNPH1-MTR4 複合体による *NEAT1* 安定性制御は、IL8 の発現制御に重要である

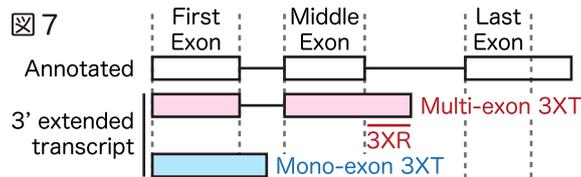
MTR4 は、NEXT complex や PAXT complex など様々な複合体を介して、標的 RNA を識別することが知られている (図 1)。申請者が所属する研究室では、MTR4 が *NEAT1* を認識・分解されることを見出した (Imamura EMBO J 2018) が、既知の複合体ではその認識機構が説明出来ないことが明らかとなっていた。そこで申請者は MTR4 と結合する新規結合たんぱく質の同定を試みた。質量分析データから MTR4 に hnRNPH1 が結合することを見出し、MTR4-hnRNPH1 複合体が *NEAT1* を認識して分解を促進することを明らかにした。また、hnRNPH1 の発現抑制によって安定化した *NEAT1* が核内構造体パラスペックルの形成を促進し、標的遺伝子である免疫応答因子 IL8 の発現を制御することを明らかにした (図 2)。これらの結果より、RNA エキソソーム複合体が、RNA 分解制御機構を介して免疫応答に関与する可能性が示唆された。



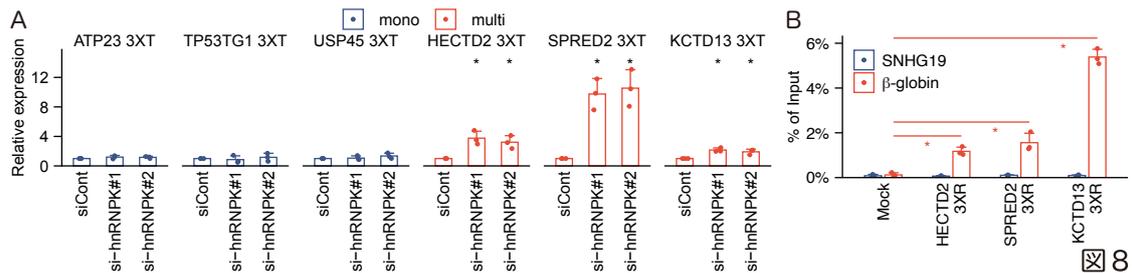


### (3) MTR4 は、異常 RNA の分解を制御している

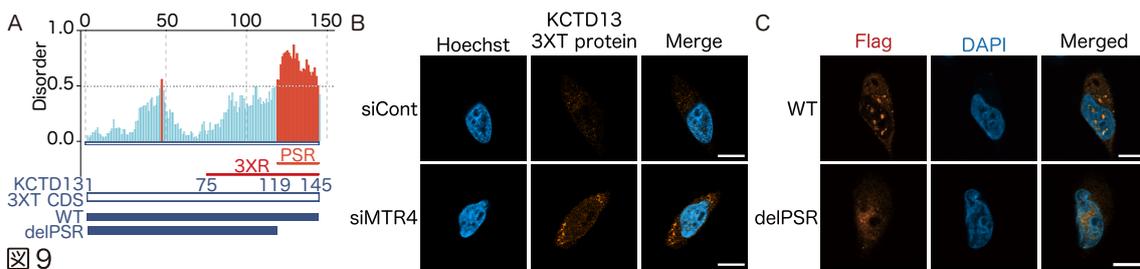
申請者は、RNA プロセッシングの破綻によって生じる異常 RNA の分解機構に着目し、従来の RNA シークエンスに加え、RNA 全長構造を可視化する direct RNA シークエンスとポリアデニル化部位を検出する 3'末端シークエンスを実施した。結果、ポリアデニル化の脱制御により転写が途中で終結し、最終エクソンが 3'側のイントロンまで伸長した異常 RNA (3XT: 3' eXtended Transcript) を MTR4 が分解していることを見出した。そこで申請者は、1 つ目のエクソンが伸長した 3XT を mono-exon 3XT、2 つ目以降のエクソンが伸長した 3XT を multi-exon 3XT、伸長した領域を 3XR (3' eXtended Region) と命名した(図 7)。続いて、MTR4 の発現抑制により安定化する 3XTs を MTR4 依存的 3XTs と定義し、DIS3 などの RNA エキソソーム構成因子や、MTR4 と結合して polyA RNA 認識を担当する PAXT 複合体が MTR4 依存的 mono-及び multi-exon 3XT の発現を制御していることを見出した。一方、NEXT 複合体や TRAMP 複合体は、MTR4 依存的 3XT の発現制御に関与していなかった。



ptRNA (prematurely terminated RNA) など RNA エキソソームによる転写直後のシングルエクソン転写産物 (mono-exon 3XT に相当) の分解機構は、研究が進んでいる (Meola *Mol Cell* 2016, Ogami *Dev Cell* 2017)。そこで本課題では multi-exon 3XT の分解機構に着目した。MTR4 依存的 multi-exon 3XTs の 3XRs に対して MEME 及び Tomtom を用いたモチーフ解析を行ったところ、hnRNPK が当該 3XRs に結合している可能性を見出した。そこで hnRNPK の発現を抑制すると、multi-exon 3XTs の発現のみが増加した(図 8A)。さらに、hnRNPK が MTR4 に結合すること、hnRNPK が 3XRs を介して multi-exon 3XTs に結合していることを見出した (図 8B)。



最後に、MTR4 依存的 3XTs から生成される異常な翻訳産物が異常構造体を形成するのかを調べた。まず、相分離領域予測ソフト dSCOPE (Yu Brief *Bioinform* 2023) を用いて構造体形成予測を行ったところ、KCTD13 遺伝子座から発現する KCTD13 3XT 由来タンパク質が、相分離を起こす可能性を有するペプチド配列 (PSR: Phase Separation Region) を有しており、高次構造体を形成する可能性を見出した(図 9A)。そこで、KCTD13 3XT タンパク質に対する抗体を作成し、MTR4 を発現抑制した HeLa 細胞における局在を確認したところ、異常な高次構造体 (KeXT body: KCTD13 3eXtended Transcript-derived protein body, 図 9B) を形成することを見出した。さらに、PSR が KCTD13 3XT タンパク質による KeXT body の形成に重要であることを見出した(図 9C)。また、相分離阻害剤 1,6Hexandiol を添加すると、KeXT body が崩壊することを明らかにした。



以上の結果より、ヒト細胞において、ポリアデニル化異常を有する RNA から翻訳されたタンパク質の異常構造体形成を、RNA 品質管理機構が阻害する機構が存在していることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kawabata Hidemasa, Ono Yusuke, Tamamura Nobue, Oyama Kyohei, Ueda Jun, Sato Hiroki, Takahashi Kenji, Taniue Kenzui, Okada Tetsuhiro, Fujibayashi Syugo, Hayashi Akihiro, Goto Takuma, Enomoto Katsuro, Konishi Hiroaki, Fujiya Mikihiro, Miyakawa Keita, Tanino Mishie, Nishikawa Yuji, Koga Daisuke, Watanabe Tsuyoshi, et al.	4. 巻 57
2. 論文標題 Mutant GNAS limits tumor aggressiveness in established pancreatic cancer via antagonizing the KRAS-pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 208 ~ 220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-021-01846-4	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 該当する
1. 著者名 Maeda Chiho, Ono Yusuke, Hayashi Akihiro, Takahashi Kenji, Taniue Kenzui, Kakisaka Rika, Mori Miyuki, Ishii Takahiro, Sato Hiroki, Okada Tetsuhiro, Kawabata Hidemasa, Goto Takuma, Tamamura Nobue, Omori Yuko, Takahashi Kuniyuki, Katanuma Akio, Karasaki Hidenori, Liss Andrew Scott, Mizukami Yusuke	4. 巻 Online ahead of print
2. 論文標題 Multiplex Digital PCR Assay to Detect Multiple KRAS and GNAS Mutations Associated with Pancreatic Carcinogenesis from Minimal Specimen Amounts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Molecular Diagnostics	6. 最初と最後の頁 1525-1578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmoldx.2023.02.007	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 該当する
1. 著者名 Tanu Tanzina, Taniue Kenzui, Imamura Katsutoshi, Onoguchi-Mizutani Rena, Han Han, Jensen Torben Heick, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 18
2. 論文標題 hnRNPH1-MTR4 complex-mediated regulation of <i>NEAT1v2</i> stability is critical for <i>IL8</i> expression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RNA Biology	6. 最初と最後の頁 537 ~ 547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476286.2021.1971439	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 Shimizu Dai, Taniue Kenzui, Matsui Yusuke, Haeno Hiroshi, Araki Hiromitsu, Miura Fumihito, Fukunaga Mitsuko, Shiraishi Kenji, Miyamoto Yuji, Tsukamoto Seiichi, Komine Aya, Kobayashi Yuta, Kitagawa Akihiro, Yoshikawa Yukihiro, Sato Kuniaki, Saito Tomoko, Ito Shuhei, Masuda Takaaki, Niida Atsushi, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Pan-cancer methylome analysis for cancer diagnosis and classification of cancer cell of origin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Gene Therapy	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) 10.1038/s41417-021-00401-w	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 Taniue Kenzui, Tanu Tanzina, Shimoura Yuki, Mitsutomi Shuhei, Han Han, Kakisaka Rika, Ono Yusuke, Tamamura Nobue, Takahashi Kenji, Wada Youichiro, Mizukami Yusuke, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 23
2. 論文標題 RNA Exosome Component EXOSC4 Amplified in Multiple Cancer Types Is Required for the Cancer Cell Survival	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 496 ~ 496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23010496	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 Takahashi Kenji, Taniue Kenzui, Ono Yusuke, Fujiya Mikihiro, Mizukami Yusuke, Okumura Toshikatsu	4. 巻 8
2. 論文標題 Long Non-Coding RNAs in Epithelial-Mesenchymal Transition of Pancreatic Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Biosciences	6. 最初と最後の頁 717890
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmolb.2021.717890	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 Taniue Kenzui, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 The Hidden Layer of RNA Variants	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 RNA Technologies -RNA Structure and Function-	6. 最初と最後の頁 343 ~ 369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-3-031-36390-0_17	査読の有無 無
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 Taniue Kenzui, Sugawara Anzu, Zeng Chao, Han Han, Gao Xinyue, Shimoura Yuki, Ozeki Atsuko, Nakanishi, Onoguchi-Mizutani Rena, Seki Masahide, Suzuki Yutaka, Hamada Michiaki, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 The MTR4/hnRNP complex surveils aberrant polyadenylated RNAs with multiple exons	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 8684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-024-51981-8	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21件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 岡崎 遼, 中村 透, 小野 裕介, 土川 貴裕, 桑原 尚太, 前田 知歩, 古川 徹, 谷上 賢瑞, 水上 裕輔, 平野 聡
2. 発表標題 TP53, SMAD4 と CA19-9 を併用した膵癌長期予後予測因子の新たな可能性
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（口頭発表）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 河端 秀賢, 小野 裕介, 高橋 賢治, 谷上 賢瑞, 唐崎 秀則, 水上裕輔
2. 発表標題 GNAS 変異は KRAS 経路に拮抗することにより、膵癌の悪性度を抑える
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（口頭発表）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷上 賢瑞
2. 発表標題 UHRF1-KAT7-mediated regulation of histone methylation/acetylation is critical for the proliferation of colon cancer cells
3. 学会等名 第95回日本生化学大会（口頭発表）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷上 賢瑞
2. 発表標題 The mechanisms of colorectal cancer cell progression by UHRF1-KAT7-mediated regulation of histone methylation/acetylation
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会（口頭発表）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷上 賢瑞
2. 発表標題 RNA品質管理機構の脱制御による異常RNA産生
3. 学会等名 2022年度「先進ゲノム支援」拡大班会議 (口頭発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hidemasa Kawabata, Yusuke Ono, Nobue Tamamura, Hiroki Sato, Kenji Takahashi, Kenzui Taniue, Tetsuhiro Okada, Syugo Fujibayashi, Akihiro Hayashi, Takuma Goto, Hiroaki Konishi, Mikihiro Fujiya, Hidenori Karasaki, Andrew S. Liss, Yusuke Mizukami, Toshikatsu Okumura
2. 発表標題 Tumor-suppressive effect of mutant GNAS through the restriction of tumor aggressiveness in established pancreatic cancer
3. 学会等名 DDW2022/AGA2022 (Poster) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shuheii Mitsutomi, Kenzui Taniue, Nobuyoshi Akimitsu
2. 発表標題 A role for a methyltransferase in regulating lipid droplets
3. 学会等名 第21回東京大学生命科学シンポジウム (ポスター発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryo Okazaki, Toru Nakamura, Yusuke Ono, Takahiro Tsuchikawa, Shota Kuwabara, Chiho Maeda, Toru Hুরুkawa, Kenzui Taniue, Yusuke Mizukami, Satoshi Hirano
2. 発表標題 TP53, SMAD4 と CA19-9 を併用した膵癌長期予後予測因子の新たな可能性
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 (ポスター発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hidemasa Kawabata, Yusuke Ono, Kenji Takahashi, Kenzui Taniue, Hidenori Karasaki, Yusuke Mizukami
2. 発表標題 GNAS変異はKRAS経路に拮抗することにより、膵癌の悪性度を抑える
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会 (ポスター発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenzui Taniue, Yusuke Mizukami, Nobuyoshi Akimitsu
2. 発表標題 RNA exosome component EXOSC4 amplified in multiple cancer types is required for the pancreatic cancer cell survival via the regulation of BIK and SESN2 mRNA
3. 学会等名 American Association for Cancer Research Special Conference on Pancreatic Cancer 2022 (Poster) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenzui Taniue, Tetsu Akiyama
2. 発表標題 UHRF1-KAT7-mediated regulation of histone methylation/acetylation is critical for the proliferation of colon cancer cells
3. 学会等名 第95回日本生化学大会 (ポスター発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenzui Taniue, Tetsu Akiyama
2. 発表標題 The mechanisms of colorectal cancer cell progression by UHRF1-KAT7-mediated regulation of histone methylation/acetylation
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会 (ポスター発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kenzui Taniue
2. 発表標題 RNA品質管理機構の脱制御による異常RNA産生
3. 学会等名 「先進ゲノム支援」2022年度拡大班会議 (ポスター発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tanzina Tanu, Kenzui Taniue, Katsutoshi Imamura, Rena Onoguchi-Mizutani, Han Han, Torben Heick Jensen and Akimitsu Nobuyoshi
2. 発表標題 hnRNPH1-MTR4 complex-mediated regulation of NEAT1_2 stability is critical for the expression of IL8.
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (ポスター発表)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenzui Taniue
2. 発表標題 RNA品質管理機構の脱制御による異常RNA産生
3. 学会等名 「先進ゲノム支援」2022年度拡大班会議 (口頭発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷上 賢瑞
2. 発表標題 非コード領域と癌
3. 学会等名 2023年度ISCリサーチミーティング (口頭発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷上 賢瑞
2. 発表標題 RNA品質管理機構の脱制御による異常RNA産生
3. 学会等名 2023年度「先進ゲノム支援」拡大班会議 (口頭発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shuheii Mitsutomi, Kenzui Taniue, Anzu Sugawara, Nobuyoshi Akimitsu.
2. 発表標題 Identification of m3C modification sites using nanopore direct RNA-sequencing
3. 学会等名 2023年日本バイオインフォマティクス学会年会・第12回生命医薬情報学連合大会 (ポスター発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shuheii Mitsutomi, Kenzui Taniue, Anzu Sugawara, Nobuyoshi Akimitsu
2. 発表標題 非tRNAにおける m3C修飾
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会 (ポスター発表)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shuheii Mitsutomi, Anzu Sugawara, Kenji Takahashi, Yusuke Mizukami, Nobuyoshi Akimitsu, Kenzui Taniue.
2. 発表標題 Identification of m3C modification sites within mRNAs of pancreatic cancer cells by long-read direct RNA sequencing
3. 学会等名 AACR special conference in cancer research: translating cancer evolution and data science: the next frontier (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shuhei Mitsutomi, Kenzui Taniue, Anzu Sugawara, Nobuyoshi Akimitsu
2. 発表標題 Direct RNA sequencing によるm3C修飾部位の探索
3. 学会等名 「先進ゲノム支援」2023年度拡大班会議（口頭発表）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Onoguchi-Mizutani R, Taniue K, Kawata K, Yamada T, Akimitsu N	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 918
3. 書名 Handbook of Epigenetics 3rd edition (Chapter 10. Techniques for genome-wide expression analysis of non-coding RNA)	

〔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
研究分担者	曾 超 (Zeng Chao)  (80822460)	早稲田大学・理工学術院総合研究所（理工学研究所）・次席 研究員（研究院講師）  (32689)	

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