

RNA メチル化酵素の遺伝子変異が がん細胞の増殖を制御するメカニズムを解明

—がん治療の新たな標的として期待—

キーワード： RNA、RNA メチル化、転写後修飾、METTL14、がん

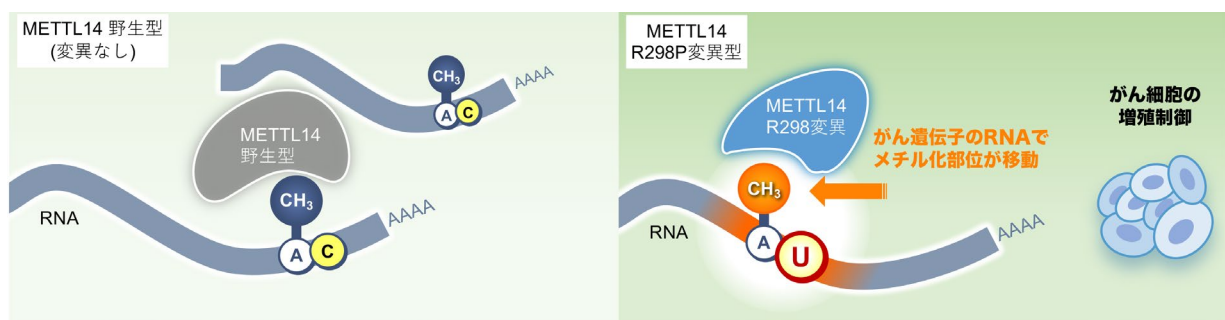
【研究成果のポイント】

- ◆ RNA メチル化酵素の構成因子 METTL14 には、様々ながんで体細胞変異が同定されている。
- ◆ METTL14 のがん関連変異が、RNA のメチル化標的を変えることを発見。
- ◆ RNA のメチル化標的の変容が、がん細胞の増殖スピードに大きく影響することを発見。
- ◆ RNA メチル化を標的とした、新たながんの治療法の確立に役立つことが期待される。

❖ 概要

RNA 中のアデノシンのメチル化 (m6A 修飾)^{※2} は、全遺伝子の 1/3 に及ぶ非常に広範な遺伝子の発現を制御しており、METTL3/METTL14 複合体が触媒しています。METTL14 遺伝子には、子宮頸がん、膵がん、食道がん、胃がんなど様々ながんで体細胞変異が同定されており、特に 298 番目のアルギニン (R298) がホットスポットとして知られています。しかし、この変異がどのようにがんの進展と関連しているのかは不明でした。

大阪大学大学院医学系研究科の三宅浩太郎助教（呼吸器・免疫内科学）、河原行郎教授（神経遺伝子学）、熊ノ郷淳教授（呼吸器・免疫内科学／IFReC 感染病態）らの研究グループは、様々ながんで同定されている RNA メチル化酵素の構成因子である METTL14 の遺伝子変異^{※1} が、メチル化標的や効率を変容させることによって、がん細胞の増殖スピードを制御していることを、世界ではじめて明らかにしました。



今回、研究グループでは、ゲノム編集技術^{※3} を使ってがん細胞の METTL14 遺伝子にがん関連変異である R298P 変異（アルギニンをプロリンに置換）を挿入しました。その結果、ヘテロ接合体ではがん細胞の増殖スピードが加速し、一方、ホモ接合体ではスピードが大きく減速することを見いだしました。また、R298P 変異が、メチル化の効率を低下させるだけでなく、標的を変えてしまうことを発見し、この標的と効率の変容ががん細胞の増殖スピードを制御していることを明らかにしました。

今後、RNA メチル化の標的や効率を人為的に調整することによって、がん細胞の進展を制御する新たな治療法の開発が期待されます。

❖ 研究の背景

DNA→RNA→タンパク質という順番に遺伝情報が流れ、最終的にタンパク質が細胞の内外で機能を発揮するというのは分子生物学の基礎です。RNA やタンパク質の量の多寡は精密にコントロールされており、適切なタイミングで適切な量のタンパク質が発現することが細胞の増殖・分裂・移動・分泌・老化・細胞死などあらゆる生命現象の基盤となります。これまで DNA やタンパク質の段階でどのように遺伝情報の発現がコントロールされているのかという点については広く研究が行われてきたものの、RNA を対象とした研究は世界的に見てもまだ始まったばかりという状況であり、今後多くの成果が期待される研究分野の一つです。

RNA はアデノシン (A)、グアノシン (G)、シチジン (C)、ウリジン (U) という 4 種類の塩基が直鎖状に並んだ構造をしており、その配列によって遺伝情報を伝えることを基本的な機能としています。そして近年、RNA に含まれる A に「メチル化」という小さな目印がつく現象 (m6A メチル化修飾) が注目されています。「メチル化された A」と「A」は遺伝情報としては全く同じ意味なのですが、メチル化された RNA は分解されやすく、「メチル化された A」の部位や量によってタンパク質の量が調整されることが明らかになっていました。この RNA のメチル化を担う酵素が METTL3/METTL14 複合体です。興味深いことに、この RNA のメチル化はランダムに起きるわけではなく、決まった配列 (たとえば GGACU、モチーフと言います) の中の A に限ってメチル化されていることが知られていました。しかしどのようなメカニズムでこの決まった配列の中の A だけがメチル化されるのか、決まった配列にはどのような意味があるのか明らかになっていませんでした。

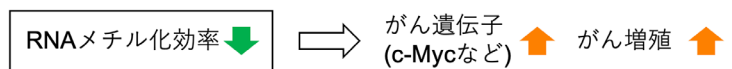
一方で、METTL14 遺伝子には、子宮がん、膵がん、食道がん、胃がんなど様々ながんで、がん細胞特異的な体細胞変異が同定されてきました。特に、METTL14 の 298 番目のアルギニンには変異が集中していますが (ホットスポット変異)、その意義の詳細は知られていませんでした。

❖ 研究の内容

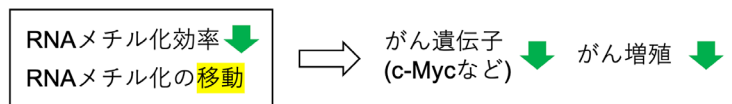
今回、三宅浩太郎助教らのグループでは、ゲノム編集技術を用いて、がん関連変異の 1 つである METTL14 R298P 変異を、子宮内膜がん由来の HEC108 細胞株に挿入しました。興味深いことに、野生型と変異型を発現するヘテロ接合体では、がん細胞の増殖スピードが加速したのに対し、変異型のみを発現するホモ接合体では、増殖スピードが大きく減速しました。この変異型の細胞株の RNA について質量分析法を用いて調べたところ、メチル化の効率が低下していることが判明しました。しかし、それだけでは、ヘテロ接合体とホモ接合体の増殖スピードの違いは説明できません。そこで、更に次世代シーケンサーを用いて詳細に調べたところ、変異を持った METTL14 が GGAUU のような異常なモチーフを標的として認識しメチル化していることが明らかとなりました。この GGAUU の中のアデノシンのメチル化は、RNA の分解を担う RNA 結合タンパク質が結合できませ

ませんでした。これらの解析から、ヘテロ接合体では、メチル化の効率低下によって RNA の分解速度が低下し、がん促進因子である c-Myc の発現が上昇することで、がん細胞の増殖スピードが上昇することが分かりました。一方、ホモ接合体では、本来標的とはならない部位に異常メチル化が生じ、その結果 c-Myc の発現が低下することで、がん細胞の増殖スピードが低下することが分かりました。これらの結果から、METTL14 のがん関連変異が、メチル化の効率だけでなく、標的認識にも影響することで、がん細胞の増殖スピードを制御していることを明らかにしました。

R298P変異ヘテロ接合体



R298P変異ホモ接合体



RNAメチル化の標的が移動することで
がんの増殖を制御された

❖ 本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

本研究を通して、がんの増殖スピードが RNA のメチル化の効率や標的を操作することによって制御できることが明らかになりました。今後、METTL14 の 298 番目のアルギニンに変異を持つがんだけでなく、幅広いがんにおいて RNA メチル化を操作することで、新たな治療法の開発につながることを期待されます。

❖ 特記事項

本研究成果は、2023 年 6 月 23 日に米国科学誌 Cell Reports（オンライン）に掲載されました。

タイトル：A cancer-associated METTL14 mutation induces aberrant m6A modification, affecting tumor growth

著者名：Kotaro Miyake^{1,*}, Pedro Henrique Costa Cruz², Izumi Nagatomo¹, Yuki Kato², Daisuke Motooka³, Shingo Satoh¹, Yuichi Adachi¹, Yoshito Takeda¹, Yukio Kawahara^{2,*}, Atsushi Kumanogoh^{1,*}（* 責任著者）

所属：

1. 大阪大学 大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科学講座
2. 大阪大学 大学院医学系研究科 神経遺伝子学講座
3. 大阪大学 微生物病研究所

[DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112688.](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112688)

本研究は、革新的イノベーション創出プログラム（COISTREAM）、MEXT (Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology)、AMED、科学研究費助成事業の一環として行われました。また創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）の支援を受けています。

❖ 用語説明

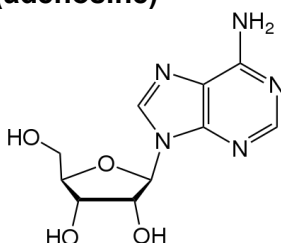
※1 METTL14 の遺伝子変異

METTL14 の 298 番目のアルギニンに相当する部位に多数のがんで変異が同定されている（ホットスポット変異）。システイン (C)へ置換された R298C（膀胱がん、膵がん）、ヒスチジンへ置換された R298H（膀胱がん、膵がん、食道がん、胃がん）、プロリンへ置換された R298P（子宮がん）などが知られている。

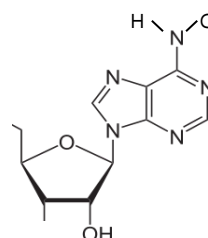
※2 m6A 修飾

アデノシン (A) の 6 位の位置にメチル基が挿入された修飾塩基を m6A と呼ぶ。触媒酵素はいくつか知られているが、RNA 中でのタンパク質をコードした mRNA（伝令 RNA）のメチル化を触媒しているのが、METTL3 (methyltransferase-like 3) と METTL14 の複合体である。これらの酵素複合体は、GGACU のような決まった配列を認識してメチル化するが、多くは、mRNA の終止コドン近傍に生じる。メチル化された mRNA は、これを読み取るタンパク質によって感知され分解されやすくなる。

A (adenosine)



m6A (N⁶-methyadenosine)



※3 ゲノム編集技術

2020年にノーベル賞を受賞した技術で、細胞の設計図であるゲノムの配列を書き換える（＝編集する）ものを指す。CRISPR-Cas9というシステムを用いることにより、特定の遺伝子の機能を失わせたり、遺伝子の配列を書き換えたりできる。本研究においてはこの技術を用いてがん細胞のゲノムを書き換え、興味がある遺伝子変異（今回はMETTL14の298番目の変異）を再現した。

【三宅浩太郎助教のコメント】

RNAは単なるA,U,G,Cの配列だけが重要と思われがちですが、小さなメチル化にも大きな役割があります。本研究は、メチル化の異常ががんの増殖にどのように影響するのかを明らかにした画期的な成果と言えます。今回のプロジェクトではゲノム編集や次世代シーケンサーの解析など幅広い最先端の技術を取り入れることで、これまで技術的に困難とされてきたメチル化機構の詳細に迫ることができました。