

公益財団法人富山第一銀行奨学財団
理事長 金岡 純二 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 : 500 千円
研究代表者 : 甲斐田大輔	所属 : 大学院医学薬学研究部 (医学) 職位 : 准教授
研究題目 : mRNA スプライシング機構を標的とした新規抗がん剤の開発	

研究概要

mRNA スプライシングは真核生物における正常な遺伝子発現にとって必須のメカニズムである。我々は、非常に強い抗がん活性を持つ天然由来の化合物 FR901464 ならびにその誘導体であるスプライソスタチン A (SSA) の作用機序を解析したところ、これらの化合物は mRNA スプライシングの特異的な阻害剤であることが明らかとなった。さらに、SSA 処理により細胞周期が G1 期ならびに G2/M 期で停止することも明らかとなった。この細胞周期停止作用が抗がん活性の原因であると考えられている。しかしながら、スプライシング阻害による細胞周期停止の詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。そこで、細胞周期停止の詳細なメカニズムを明らかにすることにより、世界初のスプライシング機構を標的とした抗がん剤の開発を目的とし研究を行った。

成果要約

細胞を、様々な濃度のスプライシング阻害剤プラジエノライド B (以下 P1a-B) で処理し、その際の細胞周期進行を観察したところ、低濃度の P1a-B で処理した場合には、細胞周期が M 期で停止し、高濃度の P1a-B で処理した場合には G2 期で停止することが明らかとなった。次に、その際の細胞周期関連因子の発現を観察したところ、高濃度 P1a-B 処理細胞では、細胞周期進行を抑制する CDK インヒビターの一つである p27 のトランケート型 p27*が発現していることが明らかとなった。この p27*はスプライシング阻害により蓄積した p27 の pre-mRNA が翻訳されたものであり、また、p27*の発現は観察されたものの、p27 全長の発現は観察されなかった。

我々は、この p27*の発現が G2 期停止の原因ではないかと考え、p27*を過剰発現させたところ、細胞周期進行が遅延することが明らかとなった。しかしながら、p27*をロックダウンしても P1a-B 処理による細胞周期停止は解除されなかったため、p27*は細胞周期停止に貢献はしているものの、他のメカニズムも同時に働くことにより、細胞周期が G2 期で停止していると考えられる。

次に p27 全長は発現せずに、p27*のみが発現するメカニズムについても解析を行った。p27 の mRNA を観察したところ、p27 全長を作るスプライシングを受けた mRNA と p27*を作る pre-mRNA の両方が存在していることが明らかとなった。したがって、p27 全長と p27*の両方が産生されていると考えられる。p27 全長は G2/M 期ではリン酸化を受け、そのリン酸化がシグナルとなりユビキチン化を受け、プロテアソームにより分解される。一方 p27*は、そのリン酸化サイトがないため、ユビキチン化を受けず、プロテアソームによる分解を免れると考えられる。そこで、プロテアソームの阻害剤である MG132 を同時処理すると、p27 全長の量は増加したものの、p27*の量は変化しなかった。したがって、p27*はプロテアソームによる分解を免れているために、発現が上昇していると考えられる。

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</p> <p>学会発表</p> <p>1) 甲斐田大輔 スプライシング阻害剤はその濃度により異なるメカニズムでG2/M期停止を引き起こし抗がん活性を発揮する 第 77 回 日本癌学会学術総会 (2018 年 9 月 大阪)</p> <p>2) 甲斐田大輔 スプライシング阻害はトランケート型 p27 の産生を介して細胞周期を停止させる 第 41 回 日本分子生物学会年会 (2018 年 11 月 横浜)</p> <p>3) 甲斐田大輔 スプライシング異常が細胞周期停止を引き起こすメカニズムの解明 第 5 回 北陸エピジェネティクス研究会 (2018 年 12 月 富山)</p> <p>4) 甲斐田大輔 スプライシング異常が細胞周期進行に与える影響の解析 HOKURIKU RNA CLUB 2019&第 7 回富山 RNA 倶楽部合同シンポジウム (2019 年 3 月 富山)</p>		
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p> <p>【物品費】 消耗品費(試薬、プラスチック器具等)</p> <p>【旅費】</p> <p>【謝金】</p> <p>【その他】</p> <p style="text-align: center;">合計</p>	<p style="text-align: center;">執行額 (円)</p> <p style="text-align: center;">500,000 円</p> <p style="text-align: center;">500,000 円</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>