

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	次世代オミックス研究分野の創造： ヒト tRNA 修飾の解析と2型糖尿病発症リスク
研究機関・部局・職名	熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
氏名	富澤 一仁

【研究目的】

現在、蛋白質修飾やDNA・ヒストン修飾などの分子修飾研究は、医学・生物科学研究分野の一大研究分野になっている。このように蛋白質、DNA等の化学修飾とその生理機能が明らかにされている現在において、RNAの化学修飾が最後の分子修飾研究と考えられる。細菌のtRNA修飾は明らかにされつつあるが、ヒトを含む哺乳動物では未だ不明である。本研究は、ヒトtRNA修飾の生理機能を明らかにすること、また、その異常が疾患発症を引き起こす分子機構を明らかにすることにより、エピジェネティクスに続く新たな医学・生物学における研究分野を創造し(ライフ・イノベーション)、また日本人型糖尿病の分子機構を明らかにすることにより、その治療法、予防法の確立(ライフ・イノベーションの推進)に繋げることを目指す。

生物では、DNA→RNA→蛋白質というセントラルドグマの過程において様々な制御システムが存在し、生命機能を制御している。これら制御システムの破綻が様々な疾患を引き起こすことが明らかにされ、この制御システムの網羅的解析、疾患との関連性などの研究について世界中で熾烈な競争が行われている(オミックス研究)。例えば、蛋白質修飾を網羅的に解析するプロテオミクス、一塩基多型(SNPs)と疾患との関連性について大規模母集団から検討する一塩基多型疫学研究、DNAのメチル化などDNA修飾に関するエピジェネティクス研究、さらに、マイクロRNAによる遺伝子発現制御などのトランスクリプトーム研究などである。しかし、これでセントラルドグマの過程を制御するシステムがすべて明らかになったわけではない。ある種の細菌では、tRNAの各塩基が様々な化学修飾を受け蛋白合成の速度を調整したり、翻訳を阻害あるいは促進したりすることにより、蛋白質発現を制御していることが知られている。ごく最近、哺乳動物でも細菌同様tRNA修飾があることが明らかになった。しかし、哺乳動物のtRNA修飾酵素が同定されていないため、哺乳動物においてtRNA修飾に生理的意義があるか明らかではなかった。

2007年以降、世界各国で2型糖尿病患者を対象とした大規模遺伝子多型解析が精力的に行われ、糖尿病の罹患と相関のある遺伝子一塩基多型(SNP)が多く同定されている。中でも、Cdk5-associated protein 1-like 1(Cdkal1)のSNPsは、2型糖尿病の発症と最も高い相関があると、この約9年間に120報以上の論文で報告されている。とくにアジア人種が、Cdkal1のリスクアレルを多く保有することが知られている。Cdkal1は、これまで生理機能が不明な分子であったが、我々は同分子の生理

機能を明らかにした。Cdkal1 は、tRNA の修飾酵素であり、tRNA の 37 番のアデニンをチオメチル化する酵素であることを突き止めた。本研究成果は、哺乳動物の tRNA の修飾酵素を初めて同定しただけでなく、tRNA 修飾の異常が疾患発症の危険因子になる可能性を示唆したものである。また我々は、2 つ目のヒト tRNA 修飾酵素として Cdk5RAP1 を同定した。この修飾酵素は、ミトコンドリア局在シグナルペプチドを有し、ミトコンドリア tRNA 修飾に関与していることが強く示唆された。

ミトコンドリア脳筋症は、ミトコンドリア (mt) 機能異常のためエネルギー多量消費臓器である中枢神経、骨格筋、心筋に異常きたす疾患である。治療法は確立しておらず、難病・特定疾患に指定されている。同疾患患者の mt DNA 上に、特徴的な SNPs が同定されている。同 SNPs を保有する患者では、mt tRNA のアンチコドン 1 字目のウリジンのタウリン修飾が欠損していることが明らかになったが、このタウリン修飾の欠損が同疾患発症の原因であるか不明である。それは、タウリン修飾酵素が同定されていないことに起因する。我々は、そのタウリン修飾酵素の候補遺伝子として、Mto1 を同定した。

以上の研究成果ならびに学術的背景を踏まえて本研究は、プロテオミクス、トランスクリプトーム、エピジェネティックに次ぐセントラルドクマを制御する次世代オミックス研究、すなわちヒト tRNA 修飾の網羅的解析とその生理機能、ならびにその異常が原因で疾患を引き起こす分子機構を明らかにすることを目的とする。とくに tRNA 修飾異常がもたらす疾患として、日本人型 2 型糖尿病の発症機序、ならびにミトコンドリア脳筋症の分子機構を明らかにすることを目的とする。具体的には、以下の研究を実施する。

1. ヒト tRNA 化学修飾をハイスループットに同定することができる技術の開発。
2. Cdkal1 の SNPs が 2 型糖尿病発症の危険因子になる分子メカニズムを明らかにする。
3. Cdk5RAP1 の生理機能を同定する。
4. Mto1 の機能解析ならびにミトコンドリア脳筋症の分子機構を明らかにする。

【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="radio"/>	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

ヒト tRNA 修飾の網羅的解析とその生理機能及び tRNA 修飾の異常によって生じる疾患の分子機構を解明するプロジェクトであり、tRNA 化学修飾をハイスループットに同定する技術を開発し、2 型糖尿病、ミトコンドリア脳筋症や洞不全症候群の発症

や危険因子の分子メカニズムを解明する新規のアプローチを展開しており、新しい疾患発症の概念を示したとして国際的に注目されている。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

2型糖尿病疾患感受性遺伝子 *Cdkal1* の SNP が糖尿病を発症させる機序の解明を行い、これを契機として、ヒト tRNA 修飾の網羅的解析により tRNA 修飾の異常によって疾患を惹起する分子機構の解明に取り組み先進的な成果をあげている。まず、(1)ヒト tRNA 修飾をハイスループットに解析する技術を開発し、(2)*Cdkal1* 遺伝子改変マウスを作製して、*Cdkal1* 遺伝子の異常が糖尿病を発症する機序を解明し、(3)ミトコンドリア tRNA 修飾酵素である *Cdk5RAP1* がミトコンドリア tRNA の 37 番目のウリジンをチオメチル化すること、またこの遺伝子欠損マウスが洞不全症候群を発症することを明らかにした。さらに、(4)ミトコンドリア tRNA 修飾酵素の 1 つである *Mto1* 欠損マウスが心血管形成不全により胎生致死であるため、コンディショナル欠損マウスを作成し、機能解析を行った。本研究は、計画どおり順調に進捗しており、初期の目標は達成している。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

本研究で、ヒト tRNA 化学修飾を迅速に同定できる技術開発に成功し、*Cdkal1* 遺伝子改変マウスの解析から、この遺伝子変異が 2 型糖尿病を発症する分子機序を解明した。また *Cdk5RAP1* の遺伝子欠損マウスが洞不全症候群を発症することを明らかにした。本研究は、tRNA の修飾酵素の異常により様々な疾患が発症・増悪することを明らかにしており、全く新しい疾患概念の創出であり、世界的にみても先進性・優位性が高い。

ミトコンドリア tRNA の修飾異常が様々な疾患の発症と関連し、*Cdk5RAP1* の遺伝子欠損が洞不全症候群を発症するのみならず、*Cdk5RAP1* と癌の増殖・転移との関連も明らかにしており、ブレークスルー成果と考えられる。当初の目的以外の成果として、tRNA 修飾酵素 *Ftsj1* と *Mtu1* の同定があげられる。さらに、*Ftsj1* が X 染色体関連性精神遅滞の原因遺伝子の 1 つであることを明らかにしている。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

tRNA 修飾異常が種々の疾患の原因になることが示され、エピジェネティック疾患概念が確立されれば、診断や治療薬の開発にもつながる。Cdkal1 欠損マウスは 2 型糖尿病の新薬開発のスクリーニングリード化合物探索、化合物の最適化などに応用可能であり、医療産業界への波及効果も高いと期待される。また、2 型糖尿病のみならず癌や不整脈など他の疾患の解明ともつながる可能性があり、その波及効果は広いと考えられる。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

研究は順調に進捗しており、研究開発マネジメントは適切に行われていると考えられる。また、成果は一流学術誌へ着実に発表され、特許申請も積極的に行われている。情報発信も独自の Web ページを開設するとともに一般向けの講演会やマスメディアを通じて積極的に取り組んでいる。