

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	ヒト RDRC/RITS 複合体の同定とその機能解析
研究機関・部局・職名	独立行政法人国立がん研究センター・がん幹細胞研究分野・分野長
氏名	増富 健吉

【研究目的】

RNA interference (RNAi) が発見されて以来、siRNA や miRNA など RNA サイレンシングに関与する種々の RNA が報告され、それぞれの生体内での制御機構に関する研究が精力的に進められている。RNAi に関与する小さな RNA の代表的な合成経路には、長鎖 2 本鎖 RNA やヘアピン型 RNA として転写された前駆体からの切断による合成があり、ヒトでも Dicer が miRNA の前駆体であるヘアピン型の pre-miRNA を切断することが知られている。もう一つの小さな RNA の代表的な合成経路として、植物や分裂酵母、アカパンカビ、線虫などのモデル生物では 1 本鎖 RNA を鋳型に 2 本鎖 RNA を合成する酵素である RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRP) の存在が知られており、RdRP により合成された 2 本鎖 RNA の切断による内在性 siRNA の合成経路が存在する。しかしながら、ヒトをはじめとする哺乳類の RdRP はこれまでその存在が立証されていなかった。研究代表者らは、ヒトにおける RdRP の存在を証明し、RdRP による内在性 siRNA の合成経路の一部を明らかにしてきた (Nature 2009, Maida *et al.*)。このように、ヒト RdRP とヒト内在性 siRNA が同定されたことから、モデル動物である分裂酵母、線虫などで見られるように、生体内で合成されたヒト内在性 siRNA がヒストン修飾の調節やヘテロクロマチン形成・維持メカニズムに関与するか否かは次の重要な生物学的な命題であるといえる。内在性 siRNA によるヘテロクロマチン形成・維持メカニズムの研究は分裂酵母で進んでおり、RdRP を含む RDRC 複合体 (RNA-directed RNA polymerase complex) と RITS 複合体 (RNA-induced transcriptional gene silencing complex) の 2 つの複合体が必須であることが知られている。これまでは、ヒト RdRP の存在およびヒト内在性 siRNA の存在の真偽は生物学上の重要な謎であったが、研究代表者らの報告により RdRP を内在するヒト RDRC/RITS 複合体による染色体構造維持機構の解明は次の生物学的な大命題である。本研究計画ではヒト RDRC/RITS 複合体の存在を立証すると同時に RDRC/RITS 複合体によるヒトヘテロクロマチン構造維持機構の解明を明らかにすることを研究目的とした。

研究計画立案当初の計画として以下を掲げた。

実験仮説: ヒト RDRC/RITS 複合体はヒト内因性 siRNA を介してヘテロクロマチン構造維持に関わる。

Specific Aim #1: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子として hTERT-Brg1-NS/GNL3L-HP1-Ago が存在する。

Specific Aim #1-A: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子の物理的相互作用を生化学的に検討する。

Specific Aim #1-B: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子の共局在を細胞生物学的に検討する。

Specific Aim #1-C: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子の共通機能を遺伝子レベルで検討する。

Specific Aim #1-D: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子の共通機能を細胞レベルで検討する。

Specific Aim #2: ヒト RDRC/RITS 複合体はヒトヘテロクロマチン構造維持に関与する。

Specific Aim #2-A: ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子を発現抑制することでヘテロクロマチン構造が維持できなくなることを検討する。

Specific Aim #2-B: ヒト RDRC/RITS 複合体が制御する領域を同定する。

Specific Aim #2-C: ヒト RDRC/RITS 複合体阻害剤あるいは活性剤を同定する。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題ではヒト RDRC/RITS 複合体の存在を立証すると同時に RDRC/RITS 複合体によるヒトヘテロクロマチン構造維持機構の解明を明らかにすることを目的として、研究を行った。そのための具体的な目標として 1) ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子として hTERT-Brg1-NS/ GNL3L-HP1-Ago が存在すること、2) ヒト RDRC/RITS 複合体がヒトヘテロクロマチン構造維持に関わることを明らかにすることを設定している。1) に関しては、新規複合体 TERT-BRG1/NS (TBN 複合体) がテロメア構造維持とは独立にがん幹細胞の機能維持に関わることを明らかにした。また 1) と 2) に関連して、TBN 複合体が M 期特異的に形成されて、RdRP として機能しテロメアだけでなく M 期特異的にセントロメアやレトロトランスポゾン領域において siRNA 合成を介してヘテロクロマチン構造維持に関わることを見出している。さらに、RdRP 活性を介したヘテロクロマチン構造の維持に Ago タンパク質や小分子 RNA が介在する可能性を見出した。研究成果は、初期の設定した課題を明確に達成しており、十分な成果を挙げたと評価したい。また、自ら同定した酵素 RdRP を標的とする阻害剤の同定を試み、約 450 種類の天然化合物、抗がん物質などのライブラリーを探索し、2 種類の特異的阻害剤を見出している。初期の計画を達成し、本プログラムとしての課題を十分に達成できたと判断される。

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)

ヒト内在性 siRNA によるヒストン修飾の調節やヘテロクロマチン形成・維持メカニズムに関わる研究課題である。酵母や線虫で知られる、RDRC/RITS 複合体が、ヒトに存在するのか、存在するとすればクロマチン構造維持との関わりを明らかにすることを目的とする研究である。1) ヒト RDRC/RITS 複合体構成因子として hTERT-Brg1-NS/GNL3L-HP1-Ago が存在すること、2) ヒト RDRC/RITS 複合体がヒトヘテロクロマチン構造維持に関わることを明らかにすることを目的として設定した。結果として、相同な複合体として hTERT-Brg1-NS/GNL3L-HP1-Ago がヒトに存在すること、さらにこの複合体がヒトヘテロクロマチン構造維持に働くことを明らかにした。また、RdRP 活性を介したヘテロクロマチン構造の維持に Ago タンパク質や小分子 RNA が介在する可能性を見出した。さらに酵素 RdRP を標的とする阻害剤の同定を試み、約 450 種類の天然化合物、抗がん物質などのライブラリーを探索し、2 種類の特異的阻害剤を見出している。本研究課題の成果は、初期の設定した課題を明確に達成しており、十分な成果を挙げたと評価したい。

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)

酵母や線虫で知られる、RDRC/RITS 複合体がヒトにも存在し、ヒトのヘテロクロマチンの構造維持に寄与していることを明らかにした点は明確な先進性を示している。

酵母や線虫に存在する RDRC/RITS 複合体がヒトにも相当する複合体として存在することを明らかにしたことは、一見、平行移動的な研究と理解されがちであるが、高度な多細胞系動物としてのヒトにおけるクロマチン構造維持と制御に関わる基盤的な発見であり、加えてがん幹細胞の機能維持に関わること、細胞周期の調節に関わっていることを合わせて見出しており、ブレークスルーと評価して良い内容である。

ヒト RdRP 特異的な阻害剤の有力な候補化合物を 2 種類見出した。適応拡大に向けて前臨床試験が推進されていることを当初の目的の他に得られた成果として評価したい。

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)

ヒト遺伝子の存在様式であるクロマチン構造の維持と調節は、基礎と応用両面において研究の進展に寄与することが明確に見込まれる。

特に、ヒト RdRP 特異的な阻害剤の検索が進み、候補薬剤が見出されつつある点は、がん幹細胞標的薬剤への展開の基盤を提供する内容であり、社会的、経済的な課題解決への貢献が見込まれる。適応拡大に向けて前臨床試験が推進されていることを評価したい。

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)

本研究課題は研究目的を順調に達成しつつあると判断できる。研究計画は幾つかの具体的目標を定めて研究目的の達成に向けて作られており、適切であった。指摘事項「新規製剤の癌特異性の検討に関する改善」への対応は、国立がん研究センター中央病院の臨床家との連携が記述されており適切である。適応拡大に向けて前臨床試験が推進されていることを評価するとともに、がんの新たな治療薬の開発に発展していくことを期待したい。

研究代表者は、インパクトのあるジャーナルに発表することを最優先し、PNAS、PLoS ONE、MCB などに論文を発表した。特許出願も 3 件あり、全体として適切と判断する。

高校生向けの講演会を 4 回実施した。高校生の記憶に残る講演会を工夫しており、効果があると推測できる。科学一般誌「ニュートン」での解説記事としての紹介があるなど、多忙な研究生活の中では、可能な社会への発信が行われていると判断する。