

MicroRNA-142 の機能獲得型変異による白血病発症メカニズムの解析

熊本大学大学院薬学教育部 創薬・生命薬科学専攻

ライフサイエンスコース ゲノム機能分野 河野 慎吾

microRNA とは、タンパク質には翻訳しない 20~25 塩基からなる小さい非翻訳 RNA である。miRNA は、細胞内で生合成過程を経て成熟した一本鎖 RNA となった後に seed 配列となる約 7 塩基が標的 mRNA に結合することで、mRNA の分解やタンパク質への翻訳を抑制する。一つの miRNA は、seed 配列の並びにより 100 以上の遺伝子発現制御に関わっていると推測されている。これまでに様々ながん細胞において miRNA の一塩基変異やメチル化が起こっていることが報告されているが、それらでは miRNA の発現変動のみを解析しており、現在までにがん化を誘導する miRNA の遺伝子変異については報告がない。

近年、白血病患者のがん細胞の遺伝子解析を行なった結果、主に血球細胞に多く発現している miRNA-142 (miR-142) -3p に一塩基変異が多く存在することが報告された。ヒトとマウスでその配列は 100%一致しており、miR-142 を KO したマウスについての表現型は既に報告されているが、miR142-KO のホモ接合体 (-/-) の報告のみでヘテロ接合体 (+/-) については触れられていなかった。しかし、実際に患者で見つかった一塩基変異は全てヘテロ接合体であることから、miR142 に一塩基に変異が入ることが白血病発症の原因となると仮説を立てた。本研究では、白血病における miR-142 変異の役割を理解するために、CRISPR-Cas9 システムを用いたゲノム編集を行うことで、白血病の患者で発見された一塩基変異の中で最も頻繁にみられた変異である miR142-55A>G 変異 (miR-142-Ki) をマウスに導入した。同時期に作製した miR-142-KO と表現型を比較したところ、miR-142-KO ホモ接合体 (KO) およびヘテロ接合体と比べて miR-142-Ki ホモ接合体 (Ki/Ki) およびヘテロ接合体 (Ki/+) は生存率が低く、リンパ球系の CD4⁺T 細胞が減少し、CD8⁺T 細胞が上昇傾向にあることが明らかになった。miR-142-55A>G 変異がヘテロ接合体においても影響を及ぼしうることから、miR-142-KO、Ki/+, Ki/Ki マウスの骨髄をレ

シピエントマウスに移植を行い、一ヶ月ごとに末梢血での血球成分を比較した。その結果、骨髄移植後5ヶ月以降にマウスの末梢血液で白血球が異常に増加し、miR-142-Ki/+の骨髄細胞移植マウスは未成熟なCD8⁺T細胞に血球分化が偏ることが明らかになった。異常増殖した細胞の二次移植実験、TCRレパトア解析を行うことで、miR-142-55A>G変異によりヘテロ接合体でもCD8⁺T細胞性白血病を発症し、白血球増加がみられたマウスから次々と死亡していくことが判明した。

miR-142-55A>G変異によってどのようにして白血病化を誘導するのかを明らかにするため、造血幹前駆細胞(HSPC)及びCD8⁺T細胞(T-cell)のRNA-sequenceにより発現の網羅的解析を行った。白血病化したT細胞では自己増殖や代謝に関わる遺伝子発現が上昇し、正常なT細胞としての機能を失っていることが明らかになった。miR-142の一塩基変異により標的遺伝子への機能を評価するため、野生型のmiR-142-3pの標的として予測された*Rheb*や*Rras*などの、mTORC1の活性化と関与する遺伝子群の発現が上昇することがわかった。また、興味深いことにmiR-142-3p 55A>G変異した際には標的となる遺伝子発現が大きく変動していた。その中でも*Camk1d*や*Parp1*, *Zfp36l2*等のアポトーシスや血球細胞の分化、Akt-mTOR経路を阻害する遺伝子の発現が低下し、miR-142に変異が入ることで標的となった遺伝子群が抑制されることが示された。以上の結果から、miR-142-Ki/+マウスでは、miR-142-55A>G変異により野生型miR-142-3pが減少し、その標的遺伝子の抑制が緩和される機能損失と、変異型miR-142-3pによって変動した標的遺伝子を新たに抑制する機能獲得の両方が起こることで、血球の分化異常をきたし白血病を発症することが明らかになった。

本研究は、miR-142に一塩基変異を導入したマウスの表現型解析の結果から、miRNAにはseed配列の一塩基変異のみでがんが誘導される機能獲得型変異が存在することを証明する世界初の報告である。