

審査の結果の要旨

氏名 水谷 玲 菜

【背景・目的】RNA 結合タンパク質は、プロセッシングや細胞内局在、翻訳制御といった遺伝子発現制御の様々なステップにおいて、特定の標的 mRNA と結合することで標的 mRNA の運命を制御している。RNA 結合タンパク質の異常な高発現や欠損は疾患と関連することもわかってきており、RNA 結合タンパク質の機能を理解することは、生命現象を分子レベルで理解するに止まらず医学・薬学の発展にとっても非常に重要である。RNA 結合タンパク質 IGF2 mRNA binding protein 3 (IMP3) はがん胎児性のタンパク質であり、先行する臨床研究から癌の悪性度のマーカータンパク質候補として注目されている。癌細胞における IMP3 の機能を理解する上で標的 RNA 群を知ることは非常に重要であるが、標的 mRNA の全貌は未だ不明であり、癌細胞における IMP3 の機能については謎に包まれたままである。本研究では、IMP3 の標的 mRNA の網羅的同定を通じて、癌細胞における IMP3 の機能を解明することを目的とした。

【方法・結果】IMP3 は RNA の安定化 (=RNA 分解の阻害) に関与することが予想されていることから、RNA の安定性が変化すれば発現量も変化するはずであるという考えに基づき、IMP3 により発現制御を受ける RNA 群の同定を試みた。発現制御を受ける RNA ならば IMP3 と物理的に相互作用するはずであると考え、次世代シーケンサーを利用して、IMP3 結合 mRNA 群を網羅的に探索した。IMP3 ノックダウン細胞における mRNA の発現プロファイリングも次世代シーケンサーで解析し、これらのデータを統合的に解析することで、IMP3 に結合しかつ IMP3 ノックダウン細胞で発現上昇した 110 種を IMP3 標的 mRNA として同定した。IMP3 による標的 mRNA の発現制御メカニズムを知るために mRNA の安定性を調べた結果、EIF4E-BP2 mRNA (本研究で IMP3 標的 mRNA として同定した mRNA) の RNA 分解が IMP3 により制御されていることが分かった。本研究で見出された IMP3 による標的 RNA の発現抑制がヒトの臨床癌でも成立しているか否かを検証するために、ヒト肺腺癌組織において仮説に合致して、IMP3 と EIF4E-BP2 との間に発現量の逆相関が見られた。癌細胞における IMP3 の機能を解明するために IMP3 の分解標的 mRNA である EIF4E-BP2 mRNA の機能に着目した。EIF4E-BP2 mRNA からコードされるタンパク質は癌原遺伝子である eIF4E の翻訳活性を抑制して細胞増殖を抑制することが報告されている。本研究で得られた結果と先行研究の知見から、「IMP3 は EIF4E-BP2 の発現抑制を介して癌原遺伝子 eIF4E の翻訳活性の促進および細胞増殖を亢進させているのではないか」という仮説を立ててノックダウン実験により検証を行った。eIF4E によって翻訳を制御されている mRNA の翻訳効率を測定したところ、IMP3 ノックダウン細胞では eIF4E 制御下 mRNA の翻訳効率の低下が見られ、IMP3+EIF4E-BP2 をダブルノックダウンにより翻訳効率の回復が見られた。また、eIF4E 制御下遺伝子のひとつである ODC1 についてウェスタンブロットによりタンパク質レベルでの発現量を評価した結果、IMP3 ノックダウンで見られた ODC1 の発現抑制が IMP3+EIF4E-BP2 ダブルノックダウンで回復していた。細胞増殖への影響を評価した結果、IMP3 単独ノックダウン細胞では生細胞数が減少していたが、IMP3+EIF4E-BP2 ダブルノックダウン細胞では生細胞数の減少の有意な回復が見られた。

【考察】IMP3 は EIF4E-BP2 mRNA の分解促進因子であることが示唆された。また、IMP3 が EIF4E-BP2 の発現抑制を介して、EIF4E の翻訳活性を活性化していること、細胞増殖の亢進を担っていることが示唆された。本研究で IMP3 の RNA 分解因子としての機能を初めて見出すことができ、標的 mRNA の解析により IMP3 と EIF4E という 2 つの癌関連因子を結びつけ

ることで癌細胞における新たな遺伝子発現制御の経路を明らかにすることに成功した。

以上のように、本研究では新しい癌増殖経路を発見することに成功した。よって本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。