

報道機関 各位

2024年12月20日
公益財団法人がん研究会

がん細胞において二本鎖 RNA 認識経路を介して
抗腫瘍免疫応答の誘導に成功
～染色体不分離に伴う二本鎖 RNA の産生機構を解明～

【本研究のポイント】

- がん細胞において紡錘体形成チェックポイント(SAC) (*1) の阻害が、二本鎖 RNA(dsRNA)認識経路(*2)を活性化して抗腫瘍免疫応答を引き起こすことを明らかにしました。今後、がん免疫療法の患者選択や新規治療法の開発等に繋がることが期待されます。
- dsRNA を特異的に認識する抗体を用いた免疫沈降法により dsRNA を濃縮し、シーケンス解析(dsRNA-seq)を実施することで、染色体不分離に伴い産生される dsRNA が由来する非コードゲノム領域を特定しました。
- 染色体不分離の結果として生じる微小核から dsRNA を形成する転写産物が多く生じていることを示しました。
- マウスモデルにおいて、紡錘体形成チェックポイントに対する阻害薬の投与が、dsRNA 認識経路の活性化を介して抗腫瘍免疫を誘導し、治療効果を発揮することを明らかにしました。

【概要説明】

公益財団法人がん研究会がん研究所細胞生物部の佐々木信成特任研究員、北嶋俊輔研究員らによる研究グループは、がん細胞において、紡錘体形成チェックポイント(SAC) (*1) の阻害が、微小核の形成に伴い二本鎖 RNA(dsRNA)の細胞質内への蓄積を誘導し、dsRNA 認識経路 (*2) を介して、抗腫瘍免疫に関わる免疫細胞の遊走や活性化を促進する因子を分泌することを明らかにしました。また、二本鎖 RNA を特異的に認識する抗体を用いて、細胞質内に蓄積する dsRNA を濃縮し、シーケンス解析により内在性 dsRNA の産生源となるゲノム領域を特定しました。さらに動物モデルを用いて、SAC 阻害薬の投与が、dsRNA 認識経路依存的に抗腫瘍免疫経路を活性化し、免疫細胞依存的に腫瘍の増殖を抑制することを明らかにしました。これらの結果により、SAC 阻害薬による dsRNA 認識経路の活性化が、すでに報告されている dsDNA 認識経路の活性化と協調して免疫応答を高めるメカニズムが明らかになりました。今後、ゲノムの不安定性を標的としたがん治療法に対す

る適切な患者選択や新たな併用療法の発展につながることを期待されます。本研究の成果は、米国学術誌「Molecular Cell」（オンライン版）に2024年12月20日AM1:00（日本時間）に公開されました。

【説明】

[背景]

dsRNA認識経路は、細胞内のRNAウイルスを認識し、自然免疫系を活性化することで抗ウイルス応答において重要な役割を担っています。がん細胞において、このdsRNA認識経路を活性化させると、抗腫瘍免疫で中心的な役割を担う1型インターフェロンや、T細胞ケモカイン、MHCクラス1などの発現が誘導されることが報告されていますが、dsRNAの発現制御機構については、内在性レトロウイルス領域など特定のゲノム領域から産生されることが報告されているものの、未だ不明な点が多く残っています。共通する下流の経路を持ち、様々ながん種でその機能が抑制されている二本鎖DNA (dsDNA) 認識経路に対し、がん細胞においてほとんど機能抑制が見られないdsRNA認識経路を薬剤により効率的に活性化することができれば、広範ながん種に対して抗腫瘍免疫を活性化できる可能性があります。

[研究の内容と成果]

がん細胞において、紡錘体形成チェックポイント(SAC)に対する阻害薬が、染色対不分離(*3)に伴い、すでに報告のあったdsDNA認識経路だけではなく、細胞質内のdsRNAの蓄積を誘導してdsRNA認識経路も活性化することを明らかにしました。またdsRNA認識経路の活性化は、T細胞の遊走や活性化を促進するT細胞ケモカインや1型インターフェロンといった抗腫瘍免疫に関わる因子の分泌を誘導することを明らかにしました。次に、染色対不分離に伴うdsRNAの産生機構を明らかにするために、dsRNAを特異的に認識する抗体を用いて、SAC阻害薬の処理に伴い産生されるdsRNAを免疫沈降により濃縮し、次世代シーケンサーにより配列を決定してdsRNAの由来となるゲノム領域を特定しました(図1)。その結果、ゲノム上で比較的遺伝子領域に近く、ATAC-seqによりオープンクロマチン領域として検出される非コード領域(*4)の周辺に存在する散在性反復配列(*5)からdsRNAが産生される傾向があることが分かり、クロマチンの立体構造が散在性反復配列の転写活性に影響を与えている可能性があることを見出しました。また、SAC阻害により染色体不分離が誘発される際に、微小核と呼ばれる不完全なゲノムを内包する細胞内小器官が形成されることが知られていますが、核とこの微小核を精製し、含まれるRNAを解析した結果、微小核からdsRNAを形成する多くの転写産物が生じていることが明らかになりました(図2)。最後にマウスモデルにおいて、dsRNA認識経路で中心的な役割を担うMAVSを欠損させた細胞や、免疫不全マウス(*6)を用いて、SAC阻害薬投与後の腫瘍増殖を解析したところ、生体内においてSAC阻害薬が、dsRNA認識経路依存的な抗腫瘍免疫の活性化を介して治療効果を発揮することが明らかになりました。

[展開]

本研究により、紡錘体形成チェックポイント(SAC)の阻害が、dsDNA認識経路だけではなく、dsRNA認識経路も活性化して抗腫瘍免疫応答を引き起こすことが明らかになりました(図3)。これらの結果は、染色体不分離を誘導する紡錘体形成を標的とした抗がん剤/分子標的薬が、dsRNA認識経路の活性化を介して抗腫瘍活性を発揮する可能性を示唆しており、今後、適切な患者選択や新規治療法の開発等に繋がることが期待されます。

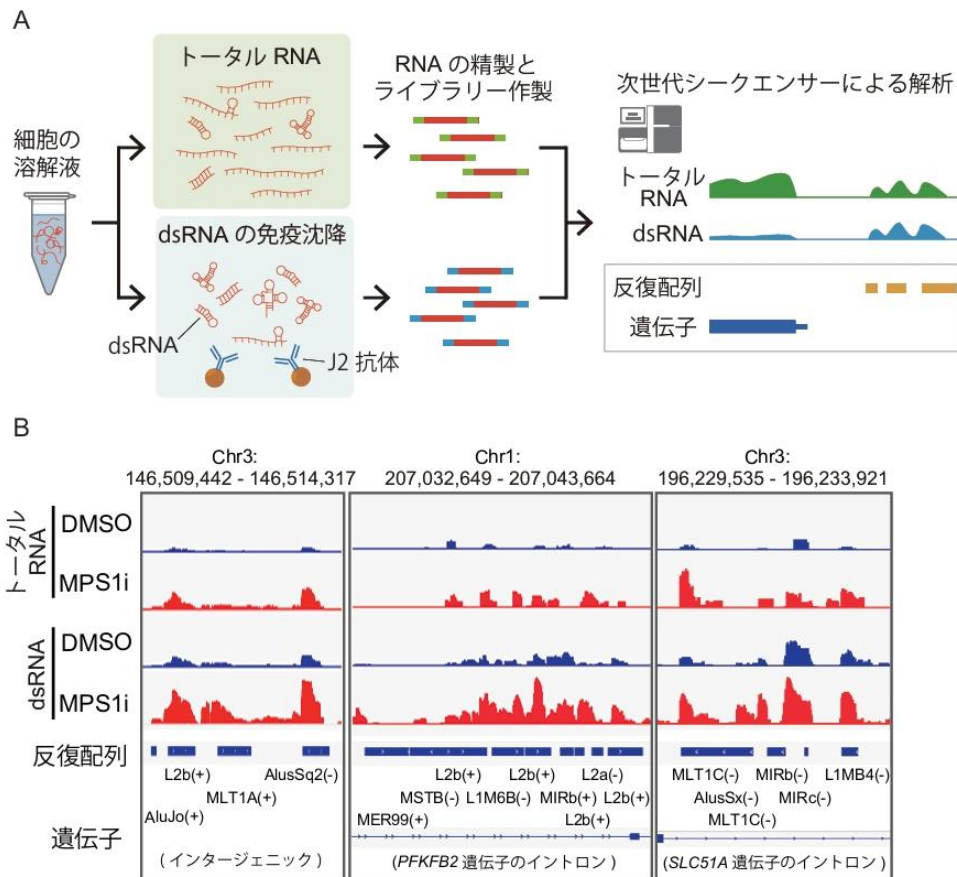


図 1. dsRNA-seqによるdsRNA産生領域の同定

A. dsRNA-seq の概略図。dsRNA を特異的に認識する J2 抗体を用いて、免疫沈降法により二本鎖 RNA を濃縮した後、次世代シーケンサーによりその配列を決定し、ゲノム上のどの領域が dsRNA の由来となっているのかを特定しました。B. dsRNA-seq の結果の一例。染色体不分離を誘発する薬剤(MPS1i)を細胞に処理すると、コントロール(DMSO)と比較して、イントロンやインタージェニックといったゲノム上の非コード領域において dsRNA の産生が増加することが観察されました。

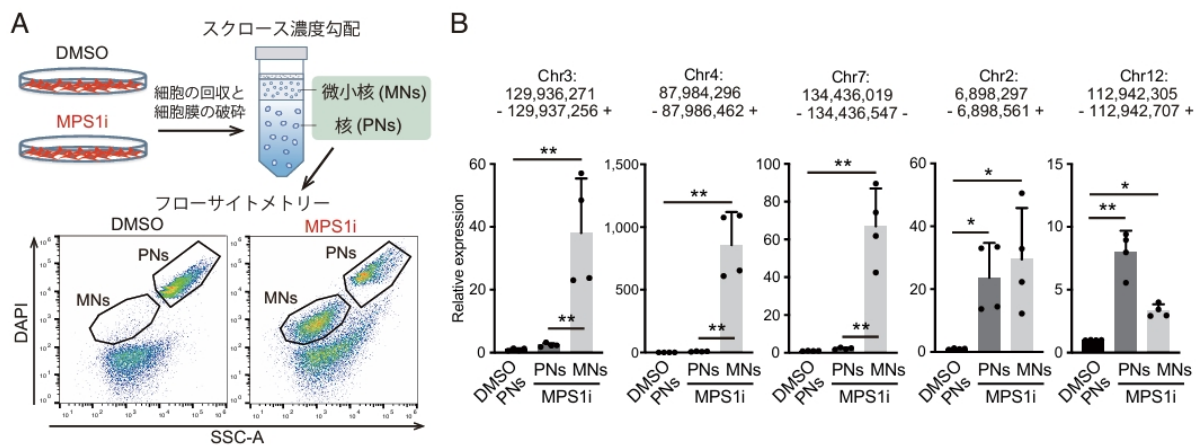


図 2. 微小核における dsRNA の産生

A. 核と微小核の精製法の概略図。コントロール(DMSO)および SAC 阻害薬 (MPS1i)で処理した細胞を回収して細胞膜を破砕後、スクローズ濃度勾配遠心法により、微小核と核画分を回収してフローサイトメトリーによりそれぞれの画分を精製しました。B. 精製した微小核と核より RNA を抽出後、dsRNA の産生を qPCR により解析しました。その結果、微小核が dsRNA を形成する多くの転写産物を含むことを明らかにしました。

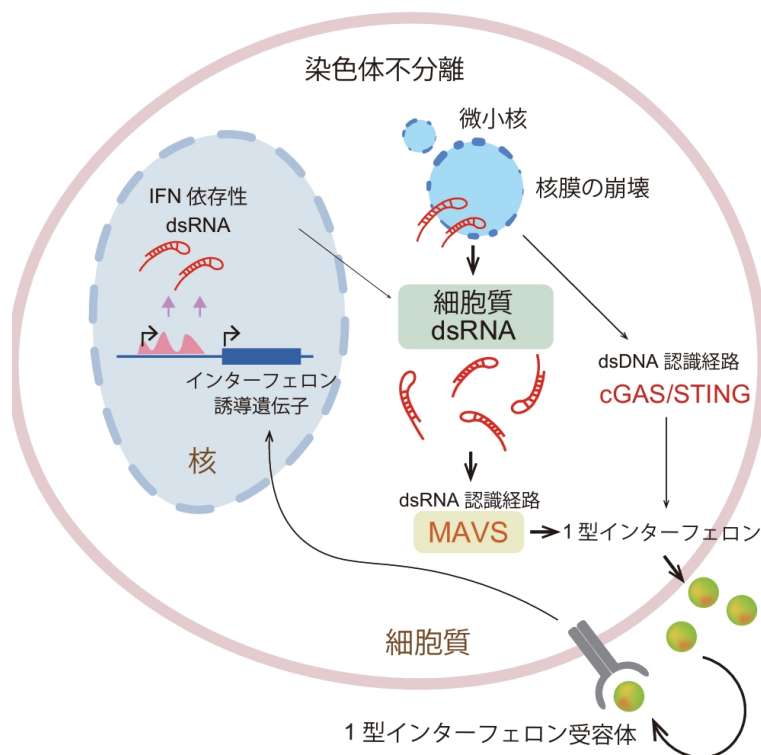


図 3. 染色体不分離による dsRNA 認識経路活性化機構

染色体不分離に伴い発生する微小核は、その核膜の崩壊により細胞質に dsRNA を放出すると考えられます。細胞質に蓄積された dsRNA は dsRNA 認

識経路(MAVS)を活性化し、1型インターフェロンの発現を誘導します。インターフェロンによって誘導される遺伝子近傍領域からも dsRNA の発現が誘導され、染色体不分離における dsRNA 産生に寄与している可能性があります。

【本研究への支援】

本研究は日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業 基盤研究(B) (20H03521, 23H02753)、挑戦的研究(萌芽) (22K19467, 24K22076)、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)創発的研究支援事業(JPMJFR215Y)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED) 次世代がん医療加速化研究事業(JP24ama221335)、日本学術振興会(JSPS)卓越研究員事業、高松宮妃癌研究基金、武田科学振興財団、がん研究振興財団、車両競技公益資金記念財団、加藤記念バイオサイエンス振興財団、小林がん学術振興会、アステラス病態代謝研究会、内藤記念科学振興財団、第一三共生命科学振興財団、MSD生命科学財団、ノバルティス科学振興財団の支援を受けて行われました。

【用語解説】

(*1) 紡錘体形成チェックポイント(SAC)

細胞分裂の際に染色体と紡錘体が正しく結合しているかを監視する制御機構。

(*2) dsRNA 認識経路

細胞質内の異常な dsRNA を感知して抗ウイルス/抗腫瘍免疫を誘導するシグナル経路。

(*3) 染色体不分離

細胞分裂時に適切に染色体が分配されず、分裂後の細胞で染色体数の異常が起きる現象。

(*4) 非コード領域

ゲノム上の遺伝子をコードしていない領域。

(*5) 散在性反復配列

真核生物のゲノム上全域に渡って存在する繰り返し配列。

(*6) 免疫不全マウス

免疫機能を欠失しており、抗腫瘍免疫の研究などに用いられるマウス。

【論文情報】

論文名 : RNA sensing induced by chromosome missegregation augments anti-tumor immunity

著者 : Nobunari Sasaki, Mizuki Homme, Takahiko Murayama, Tatsuya Osaki, Toshiyuki Tenma, Tadaichi An, Yujiro Takegami, Tetsuo Tani, Patrick C. Gedeon, Yoshihisa Kobayashi, Israel Cañadas, David A. Barbie, Ryoji Yao, and Shunsuke Kitajima* (*責任著者)

掲載誌 : *Molecular Cell*, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2024.11.025>

■がん研究会について

がん研究会は 1908 年に日本初のがん専門機関として発足して以来、100 年以上にわたり日本のがん研究・がん医療において主導的な役割を果たしてきました。基礎的ながん研究を推進する「がん研究所」や、新薬開発やがんゲノム医療研究を推進する「がん化学療法センター」「がんプレシジョン医療研究センター」、さらに新しい医療の創造をする「がん研有明病院」を擁し、一体となってがんの克服を目指しています。

ウェブサイト：<https://www.jfcr.or.jp/>

【お問い合わせ先】

■ 研究に関すること

公益財団法人がん研究会 がん研究所

担当：北嶋俊輔（細胞生物部 研究員）

Tel：03-3570-0462 e-mail:shunsuke.kitajima@jfcr.or.jp

■ 報道に関すること

公益財団法人がん研究会 社会連携部 広報課

Tel：03-3570-0775 e-mail:ganken-pr@jfcr.or.jp