

研究助成 2019 –がん領域–

研究成果報告書（最終）＜概要＞

所 属	神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター血液・腫瘍研究部
氏 名	井上 大地
研 究 テーマ	スプライシング異常による発癌機構の解明

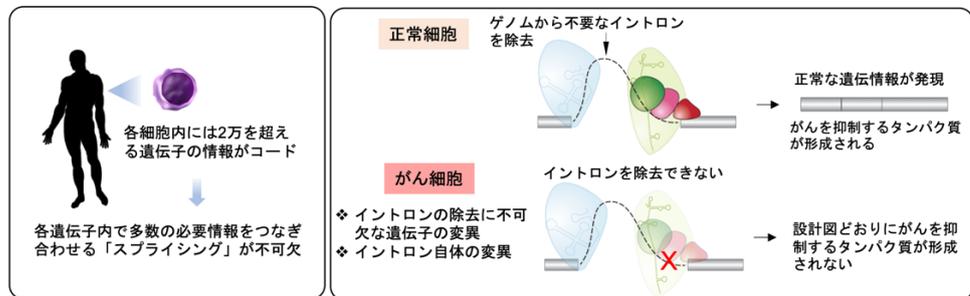
- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
（図表、写真などの貼付を含む）

遺伝情報をコードするエキソン間に介在するイントロン配列は、全ゲノム内に 20 万個以上存在しスプライシングの過程で pre-mRNA から適切に除去される。そのわずか 0.3% を占める「マイナーイントロン」は重要な遺伝子にのみ含まれ通常とは異なる機序でスプライシングされることが知られている。非コード領域であるイントロン配列は通常のイントロンでは進化的に保存されていないが、マイナーイントロンは高度に保存されており生物学的な意義がうかがえる。マイナーイントロンの制御異常は遺伝子発現や発がんに深く寄与すると考えられるが、その詳細な機構は全く解明されていない。

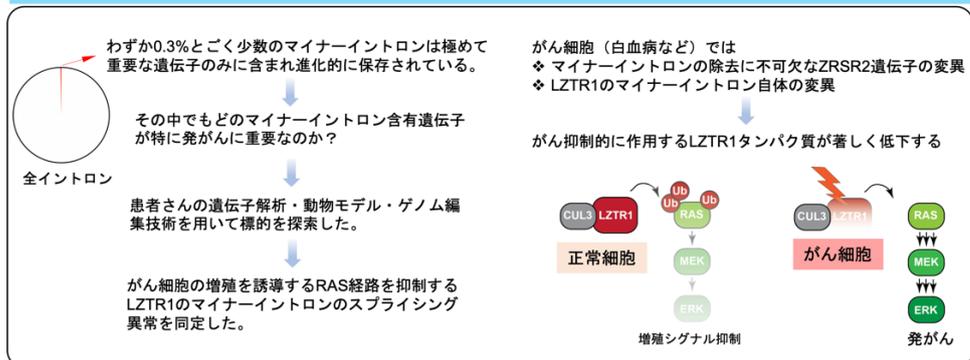
本研究では、まず、マイナーイントロンのスプライシングを制御する ZRSR2 遺伝子の機能喪失型変異が血液がん検出されることに注目し、ZRSR2 変異を有する患者 RNA データの解析や Zrsr2 ノックアウトマウスの作成を行った。それにより、ZRSR2 変異細胞ではマイナーイントロ含有遺伝子においてそれらが除去されずに残存し、mRNA ごと分解され標的遺伝子の著しい発現低下に至る現象を分子レベルで捉えることに成功した。さらに、ゲノム編集技術を応用した CRISPR スクリーニング法により、発がん重要なスプライシング異常をきたす標的遺伝子の探索を行い、RAS 関連分子を負に制御する LZTR1 のスプライシング異常を同定した。すなわち、ZRSR2 変異は LZTR1 の喪失を介して、造血細胞の形質転換やクローン拡大に寄与していることを生体モデルや細胞株を用いて明らかとした。さらに興味深いことに、様々ながん LZTR1 のマイナーイントロン上の変異を検出し、このような非コード領域の変異が上記と同様のスプライシング異常を惹起することを証明し、マイナーイントロンを介した LZTR1 mRNA の制御に基づいた新規発がん経路の存在の発見に至った。

これらの成果により、マイナーイントロンの脱制御による発がん機構を世界で初めて明らかにしただけでなく、がん促進的に機能するイントロン変異の同定においても、CRISPR 技術を応用した新しい手法を開発することができた。

近年、コーディング領域の変異を中心に注目を浴びている LZTR1 遺伝子のスプライシング異常は血液腫瘍にとどまらず、がん横断的に認められる現象であることも本研究で明らかとなった。スプライシング異常による発がん機構はこれまでの我々の研究を含めて注目を集めており、病態理解やメカニズムに基づく治療応用につながる事が期待される。



本研究でごく少数の特殊な「マイナーイントロン」のスプライシング異常によるがん発症機構を解明した



## 研究助成 2019 – がん領域 –

## 研究成果報告書（最終） &lt;発表実績/予定一覧&gt;

所	属	神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター血液・腫瘍研究部
氏	名	井上大地

## 1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。  
なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のabstractは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

## ① &lt;論文 PDF 添付あり&gt;

1	Inoue D, Polaski JT, Taylor J, Castel P, Chen S, Kobayashi S, Hogg SJ, Hayashi Y, Bello Pineda JM, Ettaib EM, Erickson C, Knorr K, Fukumoto M, Yamazaki H, Tanaka A, Fukui C, Lu XL, Durham BH, Liu B, Wang E, Mehta S, Zakheim D, Grippa R, Penson A, Chew GL, McCormick F, Bradley RK, Abdel-Wahab O. Minor intron retention drives clonal hematopoietic disorders and diverse cancer predisposition. <i>Nat Genetics</i> , 2021 Apr 12. doi: 10.1038/s41588-021-00828-9. Online ahead of print. 査読有
2	Fujino T, Goyama S, Sugiura Y, Inoue D, Asada S, Yamasaki S, Matsumoto A, Yamaguchi K, Isobe Y, Tsuchiya A, Shikata S, Sato N, Morinaga H, Fukuyama T, Tanaka Y, Fukushima T, Takeda R, Yamamoto K, Honda H, Nishimura E, Furukawa Y, Shibata T, Abdel-Wahab O, Suematsu M, Kitamura T. Mutant ASXL1 induces age-related expansion of phenotypic hematopoietic stem cells through activation of Akt/mTOR pathway. <i>Nat Commun</i> , 2021 Mar 23;12(1):1826. doi: 10.1038/s41467-021-22053-y. 査読有
3	Takeda R, Asada S, Park SJ, Yokoyama A, Becker HJ, Kanai A, Visconte V, Hershberger CE, Hayashi Y, Yonezawa T, Tamura M, Fukushima T, Tanaka Y, Fukuyama T, Matsumoto A, Yamasaki S, Nakai K, Yamazaki S, Inaba T, Shibata T, Inoue D, Honda H, Goyama S, Maciejewski JP, Kitamura T. HHEX promotes myeloid transformation in cooperation with mutant ASXL1. <i>Blood</i> , 2020 Oct 1;136(14):1670-1684. 査読有
4	Inoue D, Chew GL, Liu B, Michel BC, Pangallo J, D'Avino AR, Hitchman T, North K, Lee SC, Bitner L, Arielle B, Moore AR, Yoshimi A, Hoyos LE, Cho H, Penson A, Lu SX, Taylor J, Chen Y, Kadoch C, Abdel-Wahab O, Bradley RK. Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer. <i>Nature</i> , 2019 Oct;574(7778):432-436. 査読有
5	Yoshimi A, Lin KT, Wiseman DH, Rahman MA, Pastorel A, Intlekofer AM, Wang B, Lee SCW, Micol JB, Zhang XJ, Inoue D, Thompson CB, Levine RL, Bradley RK, Abdel-Wahab O. Coordinated Alterations in RNA Splicing and Epigenetic Regulation Drive Leukemogenesis. <i>Nature</i> , 2019 Oct;574(7777):273-277. 査読有
6	Taylor J, Sendino M, Gorelick AN, Pastore A, Chang MT, Penson AV, Gavrila EI, Stewart C, Melnik EM, Herrejon Chavez F, Bitner L, Yoshimi A, Lee SC, Inoue D, Liu B, Zhang XJ, Mato AR, Dogan A, Kharas MG, Chen Y, Wang D, Soni RK, Hendrickson RC, Prieto G, Rodriguez JA, Taylor BS, Abdel-Wahab O. Altered nuclear export signal recognition as a driver of oncogenesis. <i>Cancer Discov</i> , 2019 Oct;9(10):1452-1467. 査読有
7	Trivedi G, Inoue D, Chen C, Bitner L, Chung YR, Justin T, Gönen M, Wess J, Abdel-Wahab O, and Zhang L. Muscarinic acetylcholine receptor regulates self-renewal of early erythroid progenitors. <i>Sci Transl Med</i> . 2019 Sep 25;11(511). 査読有

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年12月	第62回米国血液学会（口演）、井上大地、ZRSR2 Mutation Induced Minor Intron Retention Drives MDS and Diverse Cancer Predisposition Via Aberrant Splicing of LZTR1
2	2019年12月	第61回米国血液学会（口演）、井上大地、Aberrant RNA Splicing Contributes to the Pathogenesis of EVI-Rearranged Myeloid Leukemias
3	2019年12月	第61回米国血液学会（口演）、井上大地、Spliceosomal Disruption of the Non-Canonical SWI/SNF Chromatin Remodeling Complex in SF3B1 Mutant Leukemias
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿（リバイス）	<i>Cell Stem Cell</i> Re-induction of osteolineage differentiation in impaired MSCs restore normal hematopoiesis in MDS
2	投稿（リバイス）	<i>Trends in Molecular Medicine</i> Targeting myelodysplastic syndrome with novel therapeutic strategies
3	投稿 2021年9月	第83回日本血液学会学術集会
4	招待講演 2021年10月	第80回日本癌学会学術総会
5	招待講演 2022年2月	12 <sup>th</sup> AACR-JCA Joint Conference