

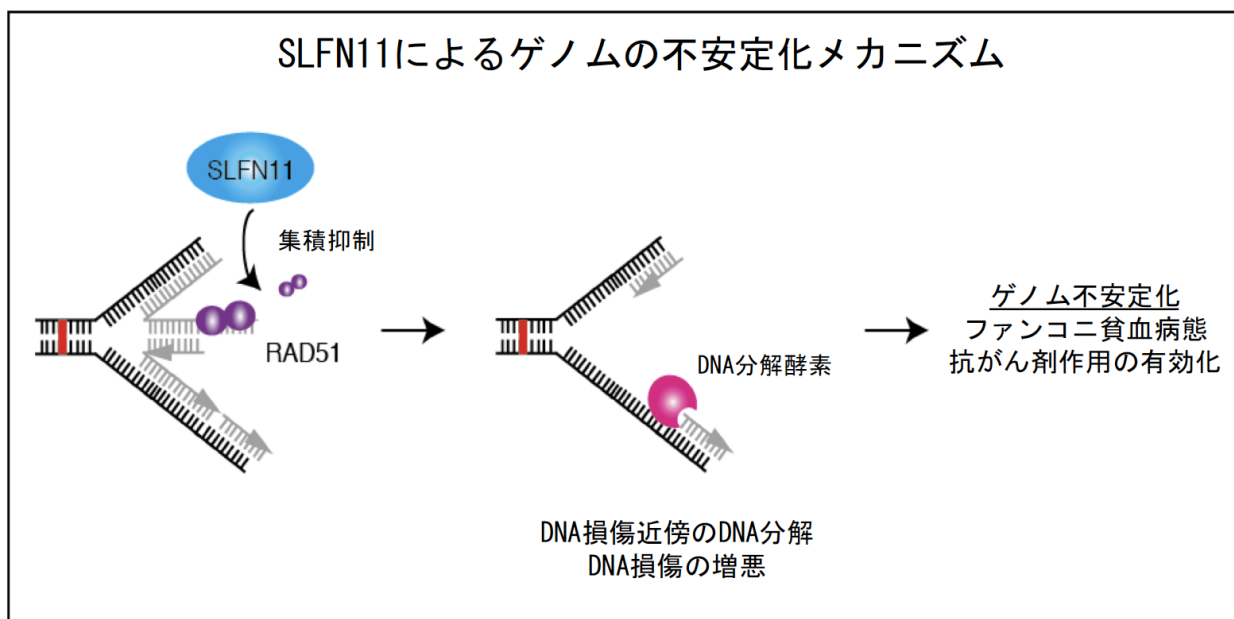
# SLFN11 遺伝子はゲノム分解を促進しゲノムを不安定化させることを解明

—抗がん剤の有効性と小児血液遺伝病の病態理解へ—

## 概要

最近、がん細胞が SLFN11 タンパク質を保持していれば、抗がん化学療法による DNA 損傷後細胞死となり、持っていなければ生き残って治療抵抗性であることがわかり、がん治療法の選択上重要であるとして注目を集めています。一方、小児の遺伝病で白血病などの原因となる「ファンconi貧血」の細胞は、DNA 損傷に非常に弱く、その造血幹細胞は体内で自然発生する DNA 損傷によって細胞死に陥ります。京都大学大学院生命科学研究所 岡本祐介 研究員（医学部血液内科所属、現在トロント大学留学中）、高田穰 同教授らの研究グループは、造血幹細胞に SLFN11 タンパク質が高いレベルで存在することに気づき、SLFN11 と DNA 損傷感受性の関係を解析しました。ヒト細胞をゲノム編集し、SLFN11 を持たないファンconi貧血細胞を作り出したところ、細胞の生存率が上昇しました。さらに、DNA 損傷後のゲノムの状態を一分子レベルで観察したところ、この細胞ではゲノム分解が起こらないことがわかりました。つまり、SLFN11 は DNA 損傷部位でゲノム分解を促進し、DNA 損傷を悪化させていることがわかりました。本研究は、SLFN11 タンパク質の「がん」と「ファンconi貧血」への臨床応用を考える上で重要な発見です。今後は SLFN11 が制御する因子との関連について研究を進める予定です。

本研究成果は、2020 年 8 月 1 日に米国の国際学術誌「Blood」First edition にオンライン掲載されました。



図：SLFN11 は、赤線で示す DNA 損傷近傍で、ゲノムを保護する RAD51 分子の集積を抑制します。それにより、DNA 分解酵素が DNA 損傷周辺の DNA を分解し、DNA 損傷自体を増悪させます。その結果、ゲノムは不安定化し、ファンconi貧血においては病態を悪化させますが、がん化学療法においては、がん細胞がより効率よく細胞死に陥り、臨床効果はよりよいものになると考えられます。

## 1. 背景

SLFN11 は大規模ながんデータベースの解析により、その発現量が、DNA 障害型抗がん剤の感受性と強く相関することが報告されている遺伝子です。例えば、がん細胞が SLFN11 発現を失うと抗がん剤で死なくなる（抵抗性となる）など、がん治療法選択における重要性から注目を集めています。一方、再生不良性貧血、骨髓異形成症候群、急性骨髄性白血病の原因となる「ファンconi貧血」は有名な小児の遺伝性疾患で、体内で自然に発生する DNA 損傷を十分に修復できず、そのため造血幹細胞が細胞死に陥って徐々に減少し、DNA 変異が蓄積してがんや白血病を発症します。アンジェリーナ・ジョリー氏で有名な「遺伝性乳がん卵巣がん」(HBOC) の原因遺伝子 BRCA1・BRCA2 もこの病気の原因となります。「ファンconi貧血」は、DNA 損傷のうち、特に DNA 鎖間のクロスリンク(架橋)というタイプの DNA 損傷が修復できません。そのため、クロスリンク損傷を来す代表的な抗がん剤であるシスプラチンやマイトマイシンによって、高度の細胞死が引き起こされることが知られています。本研究グループは、SLFN11 遺伝子が造血幹細胞において発現が高いことにきづき、SLFN11 がファンconi貧血の発症にどう影響するかを調べたいと考えました。つまり、シスプラチンなどの抗がん剤に高感受性を示す「ファンconi貧血」細胞において SLFN11 の発現をなくしてやると、ファンconi貧血細胞が抗がん剤に対して抵抗性になるのではないかという仮説から研究を開始しました。

## 2. 研究手法・成果

まず、「ファンconi貧血」の原因遺伝子で重要な FANCD2 遺伝子を欠損した患者由来細胞である PD20 細胞を用意しました。この細胞で、遺伝子特異的にタンパク質の量を抑制できる siRNA (small interfering RNA : 低分子干渉 RNA) という手法を用いて SLFN11 の発現量を低下させたところ (ノックダウン)、がん化学療法剤シスプラチンの投与後における PD20 の細胞死が低下 (生存率が上昇) することを観察しました。これは、SLFN11 の存在が、がん以外に、「ファンconi貧血」患者細胞においても DNA 損傷への感受性を上昇させていることを意味します。

次に研究室で保有している細胞のうち、HAP1 というヒト細胞株が SLFN11 を高発現していることを確認しました。そこで、CRISPR-Cas9 によるゲノム編集技術を用いて、HAP1 細胞株において「ファンconi貧血」遺伝子である FANCD2 と、SLFN11 遺伝子をそれぞれ破壊したところ (ノックアウト)、PD20 と同様の結果が得られることがわかりました。

ここで、驚くべきことに SLFN11 をノックアウトした細胞では、抗がん剤への感受性が低下しただけでなく、「ファンconi貧血」細胞に特徴的に見られる染色体断裂や、細胞周期停止も改善していることがわかりました。これらの現象は、SLFN11 を無くすとファンconi貧血の所見が改善すること、SLFN11 が DNA 損傷自体を悪化させていることを強く示唆しています。

そこで、我々は、DNA 損傷周辺の DNA の状態を DNA ファイバー法という手法で調べることにしました。DNA ファイバー法は、核内のゲノムを引き伸ばして顕微鏡下で線状の DNA を一分子レベルで観察できる手法です。ファンconi貧血細胞では、DNA 損傷近傍のゲノムが分解されることがわかっています。ところが、SLFN11 遺伝子をノックアウトしたファンconi貧血細胞では、このゲノム分解が起こらなくなっていることがわかりました。つまり、SLFN11 はゲノム分解を促進する機能があることがわかったわけです。さらに、このゲノム DNA の分解は核内の DNA2 や Mre11 と呼ばれる DNA 分解酵素によること、SLFN11 は、ゲノム分解を抑制する RAD51 分子の DNA 損傷部位への集積を低下させることも解明しました。

### 3. 波及効果、今後の予定

本研究によって、SLFN11 が DNA 損傷部位への RAD51 集積を阻害することにより、ファンconi貧血の発症を促進・悪化させるメカニズムが明らかになり、SLFN11 がファンconi貧血に対する治療標的になる可能性が示唆されました。この可能性は、さらにヒト iPS 細胞などの実験系、マウスモデルなどを用いて、検証する必要があります。また SLFN11 は、DNA 損傷を主な作用機序とするシスプラチンなどの既存の抗がん剤に対する薬剤耐性に関わっていることから、SLFN11 の機能を解明することで、がん細胞における抗がん剤治療抵抗性のメカニズム解明に寄与するのではないかと期待しています。基礎生命科学的には、SLFN11 が RAD51 を制御するメカニズムの解明が重要です。さらに、これらの研究の延長線上には、SLFN11 と関連因子の人為的制御法の開発とその応用という可能性があるのかもしれない。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会(JSPS)・文部科学省 科学研究費補助金の資金的支援を受けて実施されました。関連研究機関としては、京都大学大学院生命科学研究科、大学院医学研究科血液・腫瘍内科学、国立遺伝学研究所、総合研究大学院大学、ミネソタ大学などです。

#### <研究者のコメント>

SLFN11 が損傷 DNA 上に集積する RAD51 の阻害を介して、「ファンconi貧血」の発症を促進していることを見出すことができました。今後の研究によって「ファンconi貧血」の病態解明だけでなく、がん細胞における抗がん剤治療抵抗性のメカニズム解明へと繋げていければと思います。

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：SLFN11 promotes stalled fork degradation that underlies the phenotype in Fanconi anemia cells  
(SLFN11 は DNA 複製フォークを不安定化させることでファンconi貧血の発症を促進する)

著者：Yusuke Okamoto, Masako Abe, Anfeng Mu, Yasuko Tempaku, Colette B Rogers, Ayako L Mochizuki, Yoko Katsuki, Masato T Kanemaki, Akifumi Takaori-Kondo, Alexandra Sobek, Anja-Katrin Bielinsky and Minoru Takata

掲載誌：Blood DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2019003782>