

Title	Cancer-associated SNRPD3 mutation confers resistance to hypoxia, which is attenuated by DRP1 inhibition
Author(s)	佐藤, 真吾
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/96283
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	佐藤 真吾
論文題名 Title	Cancer-associated <i>SNRPD3</i> mutation confers resistance to hypoxia, which is attenuated by DRP1 inhibition (がんに関連する <i>SNRPD3</i> 遺伝子の変異は、低酸素への耐性をもたらし、その影響はDRP1の阻害によって軽減される)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>RNAスプライシングは5つのRNAと約150個のタンパク質から構成されるspliceosomesによって制御・実行される。近年、骨髄異形成症候群などの血液悪性腫瘍において、spliceosomesの変異と疾患の関係性が多く報告されているが、固形癌との関係性については報告が少ない。そこで我々はspliceosomesの変異と固形癌との関係について調べることを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>まず、GEPIA2のデータセットを用いて、正常組織に比べがん組織において発現の高いspliceosomal proteinsを20種同定した。この20種のproteinsには、spliceosomeの主な構成因子である核内低分子リボ核タンパク質の大部分が共通構造として持つ、7つのSm proteins全てが含まれていた。Prognoscanのdatasetを解析したところ、固形癌患者においてSm proteinsの発現の高い群では低い群よりも予後が不良であった。これらのことから、Sm proteinsが固形癌において、がん促進的な役割を持っている可能性が示唆された。次に、がんと関係のあるspliceosomeの遺伝子変異を同定するため、既報によってmutational hotspotを有すると報告された275遺伝子の中から6種のspliceosomal genesを同定した。この6種のgenesには、Sm genesの一つであるSNRPD3 geneが含まれており、そのG96部位にmutational hotspotが存在していた。ICGCのデータベース上、複数の固形癌でSNRPD3 G96に変異を有することから、SNRPD3 G96変異はがん促進的な役割を持つことが示唆された。そこで、SNRPD3 G96変異の意義を調べるため、G96変異の中で最も頻度の高いSNRPD3 G96V変異をHEK293Tへ導入し変異株を作製した。変異株は野生株に比べ、低酸素条件下でより長い期間増殖可能で、低酸素培養7日目の細胞数は変異株の方が野生株よりも有意に多かった。増殖能を比較するためにcell cycle解析を行った結果、低酸素下において変異株は野生株よりも有意に増殖能が高かった。以上のことから、SNRPD3 G96V変異は細胞に低酸素耐性を供与することが示唆された。次に、野生株と変異株でのRNAスプライシングの違いを調べるため、常酸素及び低酸素培養した野生株及び変異株に対して、RNA-seq解析及びrMATSを用いたスプライシング解析を行った結果、低酸素培養した野生株と変異株とでは約1800種の遺伝子でRNAスプライシングの違いを認めた。その遺伝子の中から、より強くRNAスプライシングに影響を受けているDNM1L geneに我々は着目した。rMATS及びRT-PCRによる解析を行ったところ、DNM1L geneはそのexon 15/16周辺のスプライシングが変化していた。DNM1L geneがコードするDRP1はミトコンドリアの分裂を司るGTPaseであり、exon15/16はB-insertと呼ばれる、GTPase活性へ影響を与え得る可変ドメインであることが知られていることから、このスプライシングの変化によってDRP1の活性が変化しミトコンドリアの形態へも違いが生じている可能性を考えた。そこで低酸素培養した野生株と変異株におけるミトコンドリアの形態について共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて評価した結果、変異株の方が野生株よりもミトコンドリアが有意に分裂していた。また、DRP1阻害剤であるMdivi-1を投与し、ミトコンドリアの分裂を阻害したところ、低酸素条件下での増殖に関する変異株の優越性がキャンセルされた。これらのことから、SNRPD3 G96V変異によってDNM1L geneのスプライシングが変化し、ミトコンドリアの形態が変化することで低酸素環境への耐性を獲得する可能性が示唆された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>SNRPD3 G96V変異は、DNM1L geneのスプライシングに変化をもたらし、ミトコンドリアの分裂を促進することで低酸素耐性を供与可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		佐藤 真吾	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	熊 御 淳
	副査	大阪大学教授	藤 平 孝
	副査	大阪大学特任教授	橋 崎 雅 司

論文審査の結果の要旨

近年、骨髄異形成症候群などの血液悪性腫瘍において、RNAスプライシングを制御・実行するspliceosomesの変異と疾患の関係性が多く報告されているが、固形癌との関係性については報告が少ない。本研究では固形癌で高発現であるspliceosomal genesの一つであるSNRPD3遺伝子のG96変異が細胞へ与える影響及びそのメカニズムを究明した。変異を持った細胞では、ミトコンドリア分裂制御タンパクDRP1をコードするDNM1L遺伝子のスプライシングに変化が生じ、結果としてミトコンドリアの形態が変化することで、低酸素環境への耐性を獲得することが分かった。DRP1阻害剤を投与するとこの耐性がキャンセルされたことから、今後DRP1阻害剤がSNRPD3 G96変異陽性がんへの新たな治療オプションとなる可能性が示唆された。今後の臨床応用も期待される結果であり、本論文は学位に値するものと認める。