

【目的】 ヒトゲノムの大部分の領域からタンパク質をコードしないノンコーディング RNA (ncRNA) が転写されていることが知られている。かつてはその大半がジャンクだと考えられてきたが、増殖・発生・分化・幹細胞性の維持といった様々な生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。中でも 200 塩基以上の長鎖 ncRNA は種類も極めて多様であり、それぞれ多様な特性を持っていると考えられている。また長鎖 ncRNA (lncRNA) は DNA や RNA、タンパク質などと相互作用することで、転写やスプライシング、翻訳など、多くの機能を有していることが報告されており、その機能破綻ががん化を引き起こすことが明らかになってきた。我々は、*UPAT* や *ASBEL* といった新規 lncRNA が大腸癌や卵巣癌の腫瘍形成能を制御することを見出し、その機能解析を行ってきた。研究内容をさらに発展させ、lncRNA *ZNNT1* が RNA 認識モチーフ (RNA recognition motif : RRM) を 2 つ有する核内 RNA 制御因子である *SART3* と結合し、p53 依存的に大腸癌の腫瘍形成能を維持していることを見出した。本研究課題では、*ZNNT1*-*SART3* 複合体によるユビキチン-プロテアソーム機構を介した p53 制御機構を明らかにすることより、*ZNNT1*-*SART3* 複合体が有する p53 依存的な腫瘍形成能維持機構の分子メカニズムを解明する。

【方法及び結果】 まず、HCT116 細胞において *ZNNT1* が p53 にどのような影響を及ぼすのかを調べた。qPCR 解析およびウェスタンブロット解析の結果、*ZNNT1* の発現抑制によって、p53 mRNA には影響がなく、p53 タンパク質量が増加することを見出した。また、*ZNNT1* の発現を抑制すると、p53 のユビキチン化が抑えられることが明らかとなった。続いて、*SART3* が *ZNNT1* による大腸腫瘍形成能にどのような影響を与えるのかを確認した。*SART3* の発現を抑制すると *ZNNT1* の発現抑制による HCT116 細胞株の増殖抑制及び腫瘍形成能の減少が緩和された。また、*ZNNT1* の発現抑制による p53 タンパク質の増加が、*SART3* の発現抑制によって緩和されることを見出した。さらに、*ZNNT1* の発現を抑制すると、*SART3* と p53 の結合が増加することを見出した。次に、*SART3* による p53 タンパク質の安定化機構を明らかにするために、*SART3* 結合タンパク質の同定を進めた結果、脱ユビキチン化酵素 USP15 が *SART3* に結合することが明らかとなった。そこで我々は、*ZNNT1* ノックダウン細胞において、*SART3* が USP15 を p53 にリクルートするのではないかと仮説を立て、USP15 の発現を抑制すると、*ZNNT1* ノックダウンによる p53 タンパク質の増加が抑えられることを明らかにした。また USP15 の発現抑制によって、*ZNNT1* ノックダウンによる HCT116 細胞の増殖抑制が緩和されることが明らかとなった。以上の結果から、*ZNNT1* が *SART3*-USP15 複合体と p53 タンパク質の結合を阻害することによって、p53 タンパク質の分解を促進していると考えられる (図)。

ZNNT1 は *SART3*-USP15 複合体を介して p53 を不安定化し、大腸癌の腫瘍形成能を制御する

