2025 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	**MYC 過剰発現誘発アポトーシス制御因子の探索**
キーワード	①MYC、②CRISPR スクリーニング、③アポトーシス

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏　名	タツミ　アキヤ 辰巳　暁哉
配付時の所属先・職位等 （令和 7 年 4 月 1 日現在）	国際医療福祉大学 成田保健医療学部 医学検査学科・講師
現在の所属先・職位等	国際医療福祉大学 成田保健医療学部 医学検査学科・講師
プロフィール	金沢大学を卒業後、臨床検査技師および細胞検査士免許を取得。主に癌診断を支援する検査業務に従事し、2021 年度から国際医療福祉大学に着任。博士号は 2023 年 3 月に東京医科歯科大学大学院（現、東京科学大学）にて取得。主に CRISPR スクリーニングを用いて、癌の新たな治療標的を見つけるための基礎研究に取り組んでいる。

1. 研究の概要

MYC は細胞増殖の促進を担う転写因子の一つである。正常細胞では MYC 発現量は厳密に制御されているが、癌細胞ではしばしばその発現制御が破綻し、ヒト癌の最大 70%程度で過剰発現を認める。過剰発現した MYC は細胞の無秩序な増殖を駆動することで、多種多様な組織の癌化あるいは癌の進展に寄与するとともに、治療抵抗性や再発リスクの上昇など予後不良と関連する。したがって、過剰発現した MYC に対する治療法の確立は喫緊な課題であるが、MYC は正常細胞にも必須であることから、その直接的な阻害には副作用の懸念があり、臨床応用には依然として課題が残されているのが現状である。

一方、パラドックス的ではあるが、MYC 過剰発現はアポトーシスによる細胞死を誘導することが報告されている（SecombeJ, et al.*Cell.* 2004）。これは過剰な癌遺伝子による発癌を防ぐための、細胞が元来有する自己防御プログラムの一種と考えられている。しかし多様な癌において MYC 過剰発現が高頻度に認められるという事実から、癌細胞には“MYC 過剰発現誘発アポトーシス”を回避し、MYC 過剰発現下で生存を可能にする制御機構の存在が示唆されるが、その全貌は未だ明らかになっていない。

2. 研究の動機、目的

MYC 過剰発現誘発アポトーシス制御機構を解明し、同機構を薬理学的に制御できれば、「MYC が本来内包するアポトーシスプログラム」の再活性化を介して、MYC 過剰発現癌細胞を選択的に死滅させる新規治療戦略の創出につながると期待できる。そこで本研究は、ゲノムワイド CRISPR screening を用いて、MYC 過剰発現誘発アポトーシス制御因子を同定し、癌細胞が過剰な MYC 下で生存するための分子機構の解明を目指した。

本申請課題のスクリーニングを実施する前に、癌細胞への MYC 過剰発現がアポトーシスを誘導するかどうか予備的検証を実施したところ、胃癌細胞株 AGS において顕著な MYC 過剰発現誘発アポトーシスの誘導が確認された。そのため、本研究ではこの「MYC 過剰発現誘発アポトー

シスを惹起しやすいAGS細胞」をスクリーニングに適用した。CRISPR knockout gRNA libraryによるランダム遺伝子ノックアウトを誘導後、「MYC過剰発現下で死滅」から「MYC過剰発現下で生存」の表現型変化を示した細胞を回収し、その変化を誘発した責任遺伝子を解析することで、MYC過剰発現誘発アポトーシス制御因子の同定を試みた。

3. 研究の結果

1. CRISPRノックアウトスクリーニングによるMYC過剰発現誘発アポトーシス制御候補因子の同定

顕著なMYC過剰発現誘発アポトーシスを示したAGS細胞に対し、ゲノムワイドCRISPR knockout gRNA library（各遺伝子を標的とするgRNA群：以下、library）を導入し、ランダム遺伝子ノックアウトを誘導した。library導入後、Doxycyline（Dox）添加により蛍光タンパク融合MYC過剰発現を誘導し2週間培養したところ、library未導入群と比べて、library導入群で有意な蛍光陽性率の増加、すなわちMYC過剰発現細胞の生存率の増加が認められた。この「MYC過剰発現下で生存した蛍光陽性細胞」をセルソーターにより回収し、次世代シーケンスによるgRNAリード数解析を行ったところ、337種類の候補gRNAが抽出された。さらに、平均gRNAリード数上位20種について、個別にノックアウト細胞を作製し、MYC過剰発現下で培養後の蛍光陽性率を評価した。その結果、MYC過剰発現下で培養2日時点では、コントロール細胞と有意差は認められなかったが、6日後および10日後ではRBM5ノックアウト細胞において有意な蛍光陽性率の増加が認められた。

2.RBM5の機能検証

RBM5バルク（クローン化前）ノックアウト細胞では、MYC過剰発現下での生存能亢進、アポトーシスマーカーであるAnnexin V陽性率低下、およびCleaved PARP発現低下が認められた。さらに、RBM5ノックアウトクローンにおいても同様の結果が再現され、Cleaved caspase-3発現低下も確認された。これらの変化は、RBM5の再発現（レスキュー）により部分的に回復したことから、RBM5がMYC過剰発現誘発アポトーシスに関与することが示唆された。

さらに、RBM5-KOクローンを用いたRNAシーケンス解析においても、アポトーシス関連遺伝子群の発現低下が認められた。現在、RBM5によるアポトーシス制御を媒介する下流因子の同定および機能解析を進めている。

4. 研究者としてのこれからの展望

本研究では、新規のMYC過剰発現誘発アポトーシス制御因子としてRBM5を同定した。現在、追加実験を進めており、その成果については近日中に論文投稿を予定している。また、2026年度日本癌学会学術総会において発表を予定している。今後は、本研究で得られた知見を基盤として、さらなる制御因子の探索を進めるとともに、癌細胞がMYC過剰発現下で生存するための分子機構を包括的に解明したい。また、これらの知見を基に、「MYC過剰発現癌細胞において特有の脆弱性」を標的とした治療法の開発につなげ、MYC過剰発現腫瘍に対する新たな治療戦略の創出を目指したい。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は、本研究に対し温かいご支援を賜り、心より御礼申し上げます。私は30歳を過ぎてから本格的に基礎研究に取り組み始めたため、研究者としての経験や実績は決して十分とは言えませんでした。そのような中で、本助成によるご支援は研究を推進する上で大きな励みとなり、研究活動を継続する自信にもつながりました。本研究では、MYC過剰発現癌細胞の生存機構に関する新たな知見を得ることができ、現在、その成果の論文化に向けて投稿準備を進めております。また、本研究で得られた成果や経験は、その後の研究計画の発展につながり、新たな研究助成の採択にも結び付きました。ご支援いただいた皆様のお力添えに深く感謝するとと

もに、今後も癌研究の発展と新たな治療法の創出に貢献できるよう、研究に邁進してまいります。誠にありがとうございました。

