

【目的】 近年、急性骨髄性白血病（AML）や骨髄異形成症候群（MDS）などの骨髄性造血器腫瘍において、RNA ヘリケースをコードする遺伝子の変異を伴う例があることが明らかにされた。特に興味深いのは DEAD-box 型 RNA ヘリケースの *DDX41* に変異を有する例で、他の AML/MDS と異なり骨髄不全を示す傾向が多いなど、典型的な AML や MDS とは異なる疾患表現型を示す傾向がある。しかしながら、RNA ヘリケースの遺伝子変異が、造血幹・前駆細胞におけるどのような生命現象に障害をもたらす腫瘍化させるのか、これまで明らかにされていない。RNA ヘリケースは、転写・翻訳・リボソーム RNA 合成など、RNA 代謝を伴うほぼすべての局面において重要な役割を担うが、そうであるが故に、特定の RNA ヘリケースの障害が実際に細胞内で何をもたらすか解析することを困難にしている。そこで本研究では、特に *DDX41* に焦点を絞り、1) RNA ヘリケース異常が DNA 複製障害とゲノム不安定性をもたらす機序、2) RNA スプライシングにおける *DDX41* の役割、3) RNA スプライシング異常が転写伸長を障害するメカニズム、を中心に詳細な解釈を加えることとした。

【方法】 CLIP シーケンス法により、*DDX41* が RNA に結合する配列や部位の解析を行った。また、*DDX41* の発現を抑制させた場合の RNA スプライシングパターンの変化や、*DDX41* が相互作用する分子の解析を通じて、*DDX41* の RNA スプライシングへの関与を検討した。さらに、細胞周期を同調したうえで *DDX41* の発現や機能を阻害することで、*DDX41* が DNA 複製においてどのような役割を担うか検討した。

【結果】 *DDX41* が、主にコーディング RNA の 5'スプライスサイト（SS）に結合することを見出し、また実際、本分子が多く RNA スプライシング関連分子と相互作用することが確認された。一方で、*DDX41* の発現抑制は特定の RNA スプライシング変化を呈さず、この点は、MDS ですでによく知られている RNA スプライシング関連遺伝子の変異の場合と異なるが、これは、*DDX41* が RNA スプライシングの後半である C 複合体において機能するという解析結果と整合性がとれるものであった。細胞周期の S 期のみにおいて *DDX41* を阻害すると、S 期の進行は軽度障害され、これには R-loop の増加を伴うが、この際の DNA 損傷応答シグナルの活性化は限定的であった。しかしながら、この細胞は分裂期に時間を要し、分裂後の細胞において顕著な DNA 不安定性を示した。加えて、ChIP シーケンスなどの結果から、*DDX41* が転写伸長複合体とスプライシング複合体の双方と相互作用し、両者をコーディネートする役割を担うことを明らかにした。以上の結果から、*DDX41* は RNA スプライシングの効率的な遂行を介して、転写伸長を制御することがわかった。*DDX41* 変異・発現低下による RNA スプライシング異常や DNA 複製障害はあくまで軽微であるが、軽微であるがゆえにチェックポイント機構がこれを見逃し、そのまま細胞分裂を迎え、分裂後に顕著な DNA 複製障害が生じるという機序が明らかになった。

DDX41 障害がゲノム不安定を伴う造血障害をもたらす機序

