



| | |
|--------------|---|
| Title | 癌抑制遺伝子型 microRNA の機能的スクリーニングと核酸医薬への応用 |
| Author(s) | 小崎, 健一 |
| Citation | 癌と人. 2014, 41, p. 47-48 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/36338 |
| rights | |
| Note | |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

癌抑制遺伝子型 microRNA の 機能的スクリーニングと核酸医薬への応用

小崎 健一*

近年、ゲノムの非コード (non-coding) 領域から転写される non-coding RNA による新たな発現制御機構が明らかにされ、従来の DNA から RNA、そして蛋白質へという一方向の直線的な遺伝情報の流れに加えて、蛋白質へは翻訳されない機能性 RNA によって制御される高次のゲノム情報発現ネットワークが存在すると考えられるようになった。miRNA は約 22 塩基の小さな内在性 non-coding RNA であり、英国 Sanger 研究所の miRBase Sequence Database (Release 20: June 2013) の最新情報では 1,872 種類のヒト miRNA 配列が登録されている。その分子メカニズムは、標的メッセンジャー RNA (mRNA) の 3' 末端非翻訳領域 (3' UTR) に対する配列特異的な翻訳阻害、あるいは small interfering RNA (siRNA) 様の RNA 干渉 (RNAi, RNA interference) といった RNA サイレンシングであり、細胞の増殖や分化などの多様な生命現象で重要な機能を担うとともに、癌などの疾患の発症機序に関与することが明らかにされてきた。

癌に関連する miRNA は、その機能によって癌遺伝子型 miRNA (oncomiR) と癌抑制遺伝子型 miRNA (tumor-suppressive miRNA, TS-miRNA)

の 2 つに分類できる。癌遺伝子型 miRNA は正常細胞 (組織) で発現が低下し、一方、癌細胞 (組織) で発現が亢進し、癌抑制的に働く遺伝子を標的とする。また、癌抑制遺伝子型 miRNA は正常細胞 (組織) で発現が認められ、癌細胞 (組織) では消失または低下し、その多くは癌遺伝子様の機能を有する遺伝子を標的とする。癌遺伝子型あるいは癌抑制遺伝子型 miRNA は既に様々な癌種で数十種類が報告されており、それらの標的となる遺伝子も急速に明らかにされつつある。さらに、人工核酸の生体内での安定性の向上とドラッグデリバリーシステムの技術的な進歩などによって、既に欧米では miRNA によるアンチセンス核酸医薬の開発、あるいは細胞内の miRNA を量的に補充・回復させる miRNA 補充療法 (miRNA replacement therapy) の臨床試験も開始され、miRNA 研究は癌個別化医療の実現に大きく寄与するものと考えられている。

これまでに私達は、核酸医薬への応用を目指した癌関連 miRNA の統合的スクリーニングを試み、発現解析、DNA メチル化解析、機能的解析を基盤とする異なる三つの網羅的解析アプローチによって、10 種類の癌抑制遺伝

子型 miRNA と各 miRNA が直接的に標的とする 13 遺伝子を新規に同定し、報告した。さらに、2 種類の癌抑制遺伝子型 miRNA については、合成二本鎖 RNA による miRNA 補充療法での有効性を実験的に明らかにしている。一方、近年、癌などの疾患への関与が注目されている上皮-間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) に着目し、本研究助成などの支援を受けて、癌 EMT 抑制性 miRNA の探索を試みた。同研究では、蛍光蛋白質 ZsGreen1 遺伝子上流に E-カドヘリンのプロモーター配列を挿入したレポーター・コンストラクトを EMT/MET 可塑性を保持する膵癌細胞株 Panc1 へ遺伝子導入後、安定株クローンを得て、細胞ベースの *in vitro* 機能的探索モデル系を確立した。そして、同モデル系を用いた 470 種類の合成二本鎖 miRNA の機能的スクリーニングを施行し、新規 EMT 抑制性 miRNA として *miR-655* を同定した。*miR-655* の強制発現系では、E-カドヘリンの発現上昇や典型的な EMT 誘導遺伝子の発現低下のみならず、間葉系細胞の上皮系細胞への形態変化を伴った運動能と浸潤能

の抑制を認めた。加えて、食道扁平上皮癌検体においては、*miR-655* 発現と予後に有意な相関を認めること、さらに TGF- β シグナル経路において重要な遺伝子である *ZEB1* と *TGFBR2* が *miR-655* の直接的な標的遺伝子であることを明らかにした。これらの結果から、癌細胞における *miR-655* の発現低下が TGF- β -ZEB1 経路を活性化し、さらに E-カドヘリン発現を抑制することによって EMT を誘導し、癌細胞の悪性形質獲得を促進することが示唆された (Harazono Y, *et al. PLOS ONE*, 2013)。これらの知見は今後、miRNA の核酸医薬への応用などと相まって、癌個別化医療の実現へ寄与することが期待される。

最後に、本研究の遂行にあたり、大阪癌研究会より研究助成を賜りましたことを深く感謝致します。貴財団の益々のご発展を祈念申し上げます。

*東京医科歯科大学 難治疾患研究所
ゲノム応用医学研究部門 分子細胞遺伝分野
平成 24 年度一般学術研究助成金交付者