

解禁時間(テレビ、ラジオ、WEB):平成27年8月12日(水)午前0時5分(日本時間)  
(新聞) :平成27年8月12日(水)付 朝刊

# プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人  
東京医科歯科大学

報道関係各位

平成27年8月12日  
国立大学法人 東京医科歯科大学

## がんの浸潤・転移にかかわる上皮間葉転換(EMT)を促進するマイクロRNA(*miR-544a*)の発見 —胃がんの浸潤・転移を抑える核酸薬開発への期待—

### 【ポイント】

- 上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition: EMT)にかかわる分子の同定を行うために胃がん細胞株 (MKN1)を用いて間葉系細胞への変化を検出する機能的スクリーニング系を構築しました。
- 上記スクリーニング系と328種類のマイクロRNA (*miRNA*) libraryを用いて網羅的な解析を施行し、EMTを促進する *miR-544a* を同定しました。
- *miR-544a* が、EMTを誘導すると知られている TGF- $\beta$  経路および WNT 経路を活性化し EMT を促進させることを見出しました。
- これら発見はがんの悪性化機序を解明しただけではなく核酸医薬の開発にも資するものと期待されます。

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子細胞遺伝分野の村松智輝助教、稲澤譲治教授らの研究グループは、独自の細胞ベース機能的 EMT スクリーニング系を構築し、がんの悪性化機構の一つである上皮間葉転換 (EMT)を促進する機能性低分子 RNA であるマイクロRNA の同定に成功しました。この研究は、文部科学省科学研究費補助金、文部科学省新学術領域研究「システムの統合理解に基づくがんの先端診断、治療、予防法の開発」および「がんシステムの新たな俯瞰と攻略」、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構「オーダーメイド医療の実現プログラム」の支援のもと遂行され、その研究成果は、国際科学雑誌 *Carcinogenesis* (カルシノジェネシス)に2015年8月12日午前0時5分にオンライン版として発表されます。

### 【研究の背景】

現在、がんは国内において2人に1人が罹患し、3人に1人の死因であり、その本態解明は急務となっています。特に、がんの悪性化の要因の一つであるがん転移は、複雑かつ多段階のステップによって成立する事象であり、これまでも様々な分子機序が報告されてきました。特に、上皮系から間葉系へと形質転換する現象である上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition: EMT)は、がんの浸潤・転移と密接な関与が知られており、その機序の解明はがん治療の発展に重要となります(図1)。

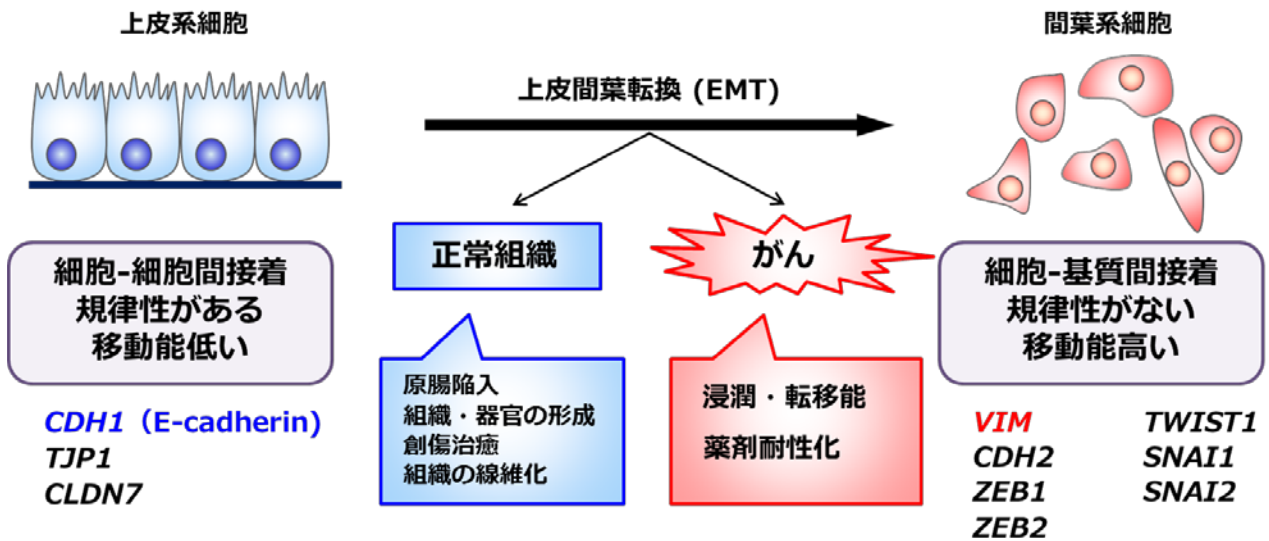


図1 上皮間葉転換の働きとそのマーカー遺伝子

EMTは、1980年代にElizabeth Hayらによって提唱された現象で、正常組織では胚発生における原腸陥入や組織・器官の形成および創傷治癒や組織の線維化に関わり、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしています。一方、がん細胞では、EMTは浸潤・転移や薬剤抵抗性の獲得に寄与していると考えられています。このEMTという現象を分子レベルで解明するべく様々な研究が行われてきました。その結果、EMT誘導シグナル経路としてTGF- $\beta$ 経路およびWNT経路が同定されてきました(図2)。

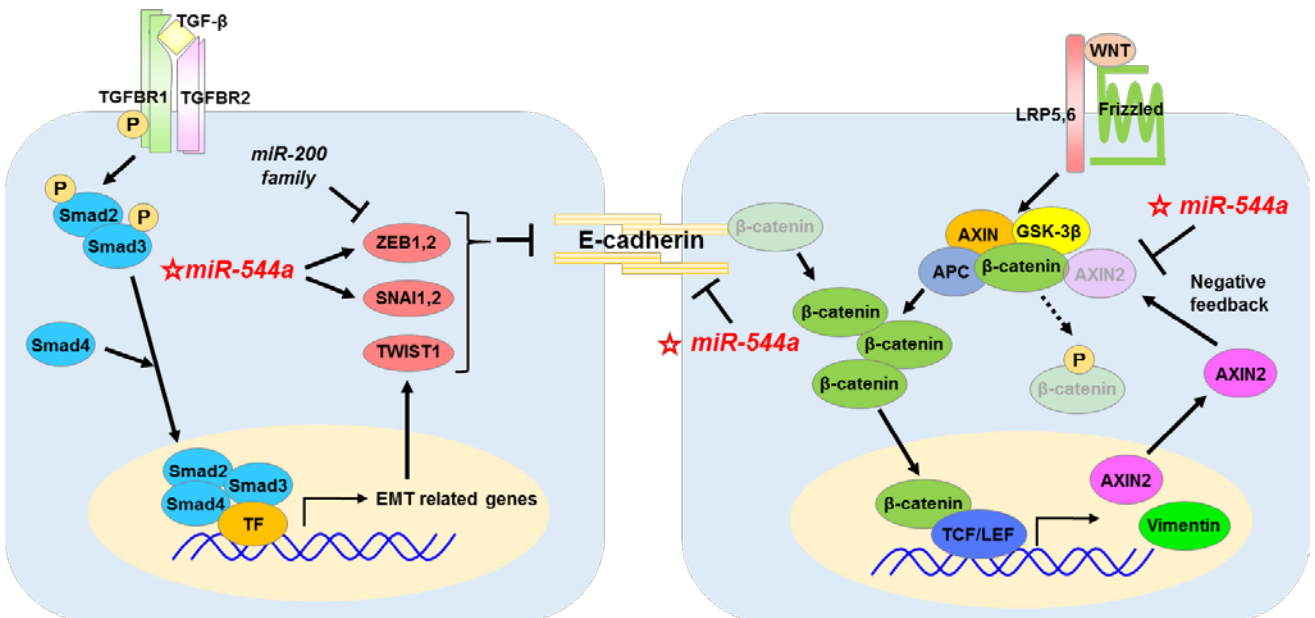


図2 TGF- $\beta$ 経路とWNT経路によるEMT誘導シグナル

また、このシグナル経路にはマイクロ RNA (*miRNA*)という機能性小分子 RNA の関与も明らかとなってきています。*miRNA*は、20~25 塩基で構成される RNA であり、遺伝子の 3' UTR という非コード領域に結合することにより、タンパク質の翻訳を抑制することが知られています。特に EMT 抑制性 *miRNA*として *miR-200*ファミリーが知られており、*miR-200*ファミリーは ZEB を直接の標的とすることでその翻訳を抑制し EMT への移行を防いでいます。当研究グループは、EMT 誘導転写因子 *SIX1* (*SIX homeobox 1*)の同定(Ono H et al., *Oncogene* 2012) や EMT 制御分子 *WNT7A* の DNA メチル化による遺伝子発現制御の解明(Kurasawa Y. et al., *Oncogene* 2012)、さらに、TGF- $\beta$  経路の鍵分子 TGFBR2、ZEB1 を直接の標的として E-カドヘリンの発現を抑制する *miR-655* の同定(Harazono Y. et al., *PLoS ONE* 2013)などの成果を上げてきました。今回、これら実績に加え新たに WNT シグナル経路に働き EMT を促進する新たな *miRNA* として *miR-544a* を明らかにしました。

### 【研究成果の概要】

本研究では、間葉系細胞への変化を検出する機能的 EMT スクリーニング系を構築し、EMT 促進性 *miRNA* (*miR-544a*)の同定に成功しました。本スクリーニング系では胃がん細胞株 (MKN1)を用い、EMT の可視化には、間葉系マーカー遺伝子ビメンチンのプロモーター活性を指標として赤色蛍光分子 RFP を発現するベクターを使用しました (PVimRFP)。この PVimRFP を導入した MKN1 (PVimRFP-MKN1)に、328 種類の *miRNA* を搭載した Pre-miR<sup>TM</sup> *miRNA* Precursor Library-Human V2 を作用させ、RFP 蛍光強度を指標にスクリーニングを行い、EMT 誘導性 *miRNA* 候補として *miR-544a* を選出しました。*miR-544a* の過剰発現により、間葉系誘導マーカーの ZEB1、Snail の発現が上昇し、一方、上皮マーカーの E-カドヘリンの減少が認められ、TGF- $\beta$  経路に影響を与えることが確認されました。また、E-カドヘリンが *miR-544a* の直接の標的遺伝子であること、さらに、*miR-544a* は WNT 経路にも作用して  $\beta$  カテニン分解系に関わる AXIN2 や APC2 の発現を抑制することで  $\beta$  カテニンを安定化し、その結果、TCF/LEF を活性化することで間葉系維持に関わる遺伝子の転写を促進することが明らかになりました。以上より、*miR-544a* が TGF- $\beta$  ならびに WNT の両経路に作用することにより、EMT を誘導することを明らかにしました。

### 【研究成果の意義】

従来、EMT 抑制性 *miRNA* は数多く同定されていますが、EMT を促進させる *miRNA* の報告は少なく、今回の研究成果は EMT の本態解明に資する発見といえます。さらに、今回のスクリーニングに用いた胃がん細胞株 MKN1 は、高転移性のスキルス胃がん由来することから、EMT 促進性の分子として見出された *miR-544a* はスキルス胃がんの悪性度判定のバイオマーカー、また、近年着目されてきている核酸薬の治療標的分子の候補としても期待されます。

**【問い合わせ先】**

**<研究に関すること>**

東京医科歯科大学大学難治疾患研究所

分子細胞遺伝分野 稲澤 譲治(イナザワ ジョウジ)

TEL:03-5803-5820 FAX:03-5803- 0244

E-mail:johinaz.cgen@mri.tmd.ac.jp

**<報道に関すること>**

東京医科歯科大学 広報部広報課

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp