

研究報告書
研究課題：A（一般）
（平成26年度）

平成28年4月28日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 高山昭三 殿

研究施設 札幌医科大学医学部
附属フロンティア医学研究所ゲノム医科学部門

住 所 札幌市中央区南1条西17丁目

研究者氏名 井戸川 雅史 印

（研究課題）

癌関連転写因子の標的ncRNA解析による癌病態解明

平成27年3月25日付助成金交付のあった標記指定課題について研究が終了致しました
のでご報告いたします。

様々な転写因子が、癌をはじめとして、炎症、代謝、免疫など種々の疾患における病態形成に重要な働きをしていることが良く知られている。転写因子は、ゲノム DNA 上の各転写因子固有の応答配列に結合し、その下流に存在する標的遺伝子の転写を制御することで機能する。このことから、疾患における転写因子の機能、役割を明らかにする上で、その標的遺伝子の同定と機能解析が必須である。これまで mRNA として転写され蛋白に翻訳される遺伝子のみが、標的遺伝子として重要であると考えられてきた。しかし近年、蛋白に翻訳されない非コード RNA (non-coding RNA, ncRNA) の役割が注目されつつある。中でも、non-coding RNA の一つである長鎖非コード RNA (long non-coding RNA, lncRNA) が、発生、分化、幹細胞性などの様々な生物学的現象や、癌をはじめとして、心筋梗塞などの冠動脈疾患、アルツハイマー病、自己免疫性疾患などにおいて重要な働きを持つことが明らかになりつつある。また、エキソソームと呼ばれる小胞により非コード RNA が血中に放出されていることも明らかとなっている。そこで、癌関連転写因子の標的となる non-coding RNA、特に lncRNA を網羅的に同定しようと試みた。

癌関連転写因子の中で、すべての癌の約半数に異常が認められる p53 について、まず解析を行った。p53 正常型である骨肉腫細胞 U2OS を、p53 を分解する MDM2 を阻害する薬剤である Nutlin-3a で処理し、内因性の p53 を活性化させた系、および p53 欠失の肺癌細胞 H1299 にアデノウイルスを用いて p53 を過剰発現させた系において、mRNA 発現量を次世代シーケンサーによる mRNA 発現解析 (RNA-seq) により定量した。その結果、U2OS と H1299 細胞でそれぞれ、373、486 の長鎖非コード RNA (long non-coding RNA, lncRNA) が2倍以上の発現上昇を認めた。更に、p53 のゲノム上の結合部位を網羅的に同定可能である、p53 クロマチン免疫沈降産物の次世代シーケンサー解析 (ChIP-seq) のデータと比較したところ、U2OS で2倍以上発現上昇を認めた 373 の lncRNA うち 122 (32.7%)、H1299 では 486 のうち 66 (13.6%) において、lncRNA 遺伝子近傍に p53 の結合が認められた。それらのうち、両者に共通のものが 18 あり、これらの lncRNA は特に p53 の直接標的である可能性が高いと考えられた。現在、これらの機能について解析を進めているところである。

更に、これらの lncRNA について米国の癌ゲノムデータベースである Cancer Genome Atlas (TCGA) の RNA-seq データについて、スーパーコンピューターを用いて解析することで、臨床検体での発現状態を明らかにし、lncRNA 発現と、予後・病期・治療反応性などの臨床情報との相関解析を行う予定である。