

## 論 文 要 旨

### **Tumor suppressive *microRNA-1285* regulates novel molecular targets: Aberrant expression and functional significance in renal cell carcinoma**

〔 癌抑制型 miR-1285 による新しい標的遺伝子の制御  
：腎細胞癌における発現変化とその機能的重要性 〕

日高 英雄

#### 【序論および目的】

microRNA (miRNA)は非翻訳領域にコードされる 22 塩基ほどの短い RNA で、タンパクをコードする messengerRNA の分解や翻訳阻害により遺伝子の制御を行っている。miRNA の発現異常は、癌の発生や進展さらには転移に関わることが明らかとなってきた。我々は、腎細胞癌臨床検体の miRNA 発現プロファイルを作成し、癌抑制的機能を有する miRNA の探索を行った。さらに癌抑制的 miRNA の標的遺伝子を同定し、腎細胞癌における新しい分子メカニズムの解明を試みた。

#### 【材料および方法】

腎細胞癌臨床検体(正常 5 例、腎細胞癌 10 例)を用いて 667 種類の miRNA について発現解析を施行し、miRNA 発現プロファイルを作成した。発現低下を認めた上位 20 種類の miRNA について、腎癌細胞株に成熟型 miRNA を導入し細胞増殖抑制能の検討を行った。癌抑制的 miRNA の標的遺伝子を探索するため、候補 miRNA のトランスフェクタントを用いてオリゴマイクロアレイ解析を行った。標的遺伝子と候補 miRNA の結合を検証するためルシフェラーゼアッセイを行った。標的遺伝子のノックダウンによる機能解析を行い、増殖、遊走、浸潤能の変化を評価した。さらに、免疫組織学的染色を行い標的遺伝子の臨床検体における発現を評価した。

#### 【結 果】

癌部で発現が低下していた上位 20 種類の miRNA について、細胞増殖抑制能を調べた結果、microRNA-1285(miR-1285)が最も顕著に癌細胞の増殖を抑制した。更に、miR-1285 を導入することにより、遊走能、浸潤能が有意に抑制された。miR-1285 のトランスフェクタントで発現低下を認めた標的遺伝子群から、Transglutaminase 2 (TGM2) を見出した。ルシフェラーゼアッセイから、miR-1285 は直接 TGM2 に結合し、発現を制御していることが判明した。TGM2 をノックダウンした機能解析では細胞の増殖、遊走、浸潤能が有意に低下し、TGM2 は癌遺伝子的機

能を有することが判明した。TGM2 の免疫組織学的染色では正常腎細胞に比べて腎細胞癌でその発現が有意に亢進していることが確認された。

**【結論及び考察】**

腎細胞癌における miRNA 発現プロファイルから、癌抑制的に働く miR-1285 を見いだした。またその標的遺伝子で癌遺伝子的作用を有する TGM2 を同定した。本研究から、癌抑制型 miR-1285 を基点とする腎癌細胞における新規分子ネットワークの一端が明らかとなった。

(Oncotarget 2012 Jan;3(1):44-57 掲載)