

論 文 要 旨

**Tumour-suppressive *microRNA-144-5p* directly targets
CCNE1/2 as potential prognostic markers in bladder cancer**

膀胱癌において癌抑制型 *microRNA-144-5p* は、
予後マーカーとなる *Cyclin E1/E2* を直接的に制御する

松下 良介

【序論及び目的】

我々は、次世代シーケンサーを用いた膀胱癌・全ゲノム網羅的機能性 RNA 発現プロファイルを作成し、発現抑制が認められた *microRNA* (miRNA) についての機能解析と、制御する分子ネットワークの探索を継続している。この膀胱癌・全ゲノム網羅的解析で、クラスターを形成する *microRNA-451a/144-3p/144-5p* が膀胱癌検体で発現が抑制されていたため、これらの *microRNA* が癌抑制型 *microRNA* であると仮説を立て、その機能解析と標的分子ネットワークの探索を行った。

【材料及び方法】

膀胱癌検体 (n=60)、正常膀胱検体 (n=22) から抽出した RNA を用いて stem-loop PCR 法により *microRNA-451a/144-3p/144-5p* の発現を測定した。膀胱癌細胞株 (BOY, T24) に *microRNA-451a/144-3p/144-5p* を核酸導入し、細胞機能解析を行った。公共データベース (*microRNA.org*, Gene Expression Omnibus) を用いた *in silico* 解析にて、*microRNA-144-5p* の標的遺伝子を探索し、臨床検体における発現と臨床病理学的所見との関係を検討した。ルシフェラーゼアッセイにより *microRNA-144-5p* と標的遺伝子の直接的な結合を解析した。

【結 果】

microRNA-451a/144-3p/144-5p の発現は、正常組織に比べ膀胱癌組織・癌細胞株で有意に抑制されていた ($p<0.0001$)。機能解析で、*microRNA-451a/144-3p/144-5p* は癌細胞の増殖・遊走・浸潤を抑制し、さらに *microRNA-144-5p* は細胞周期において G1-arrest を誘導する事で最も顕著に癌細胞の増殖を抑制した。*microRNA-144-5p* の制御する分子ネットワークを探索した結果、細胞周期関連遺伝子 (*CCNE1*・*CCNE2*・*CDC25A*・*PKMYT1*) が、直接 *microRNA-144-5p* に抑制される事が判明した。また、*CCNE1/2* の高発現症例群は、全生存率の有意な減少を認めた ($p=0.0251$, $p=0.0324$)。

【結論及び考察】

膀胱癌・機能性 RNA 発現解析の結果、新たな癌抑制型 *microRNA-144-5p* が同定された。また *microRNA-144-5p* が制御する膀胱癌分子ネットワーク解析から、細胞周期に関与する癌促進遺伝子 *CCNE1*・*CCNE2*・*CDC25A*・*PKMYT1* が標的分子として同定され、さらに *CCNE1* と *CCNE2* は膀胱癌患者において、予後予測マーカーとなる可能性が考えられた。

(British Journal of Cancer 113(2):282-9 2015 年 掲載)