

# 論文内容要旨

新規老化関連 microRNA である  
miR-3140-3p は悪性胸膜中皮腫を抑制する

主指導教員：田原 栄俊教授  
(医系科学研究科 細胞分子生物学)

副指導教員：高野 幹久教授  
(医系科学研究科 医療薬剤学)

副指導教員：高橋 陵宇准教授  
(医系科学研究科 細胞分子生物学)

山本 佑樹

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【序論】

正常細胞は、一定回数細胞分裂を繰り返すと不可逆的に増殖を停止し、テロメアの短縮を伴う細胞老化を引き起こす。また、がん遺伝子の活性化に代表される過剰なストレスも、細胞に不可逆的な増殖停止を引き起こすことが分かっている。このため、細胞老化は正常細胞が持つがん化に対する防御機構の一つとして考えられている。我々は細胞老化の誘導因子として、microRNA (miRNA) に注目し研究を行っている。miRNA は、ゲノムから転写される small non-coding RNA で、ヒトでは約 3000 種類同定されている。1 種類の miRNA は 100 種類以上の遺伝子を標的とし、標的 mRNA の分解や翻訳抑制を介してタンパク質の発現を負に制御する。そのため、miRNA の発現変動は様々な生命現象に関わる。一部の miRNA は細胞老化に伴い発現量が増加することが知られており、このような miRNA を老化関連 miRNA (Senescence-Associated miRNA; SA-miRNA) と呼ぶ。また、一部の SA-miRNA の発現量はがん細胞で減少していることが知られており、本研究では SA-miRNA の発現量を補充することでがん細胞の老化プログラムを再起動させ、腫瘍を抑制しようと考えている。実際に当研究室では、ヒト線維芽細胞で発現が増加している SA-miRNA として miR-22 を同定しており、標的遺伝子である CDK6 や SIRT1 を介して乳がん・子宮頸がん細胞に抗腫瘍効果を示すことを報告している。

## 【研究目的】

本研究は、細胞老化を評価する機能的スクリーニング法を開発し、がん幹細胞や抗がん剤耐性がん細胞を含む多様ながん細胞に抗腫瘍効果を示す SA-miRNA を同定することを目的とする。さらに、そこで同定された SA-miRNA の抗腫瘍メカニズムについて解析を行う。最終的に、SA-miRNA を抗腫瘍核酸医薬としてがん治療へと臨床応用することを目指す。

## 【結果】

SA-miRNA を網羅的に同定するため、細胞老化の表現型を評価する新規スクリーニング法を構築し、349 種類の SA-miRNA を同定した。次に、同定した SA-miRNA の抗腫瘍効果を検討するため、7 種のがん細胞株を用いて細胞生存率を評価した。その結果、いずれのがん細胞にも強い抗腫瘍効果を持つ SA-miRNA として miR-3140-3p を同定した。この miR-3140-3p を抗腫瘍核酸医薬として開発していく上で、数あるがん種から悪性胸膜中皮腫に着目した。悪性胸膜中皮腫は、胸腔内に発生する腫瘍であり、外科的手術による切除が困難かつ有効な薬剤も乏しいことから、非常に難治の腫瘍である。さらに、悪性胸膜中皮腫は発症までの期間が非常に長く、今後の患者数増加も懸念されている。これらのことから、悪性胸膜中皮腫に対する薬剤を開発することは臨床的意義が非常に高い。そこでまず、miR-3140-3p が悪性胸膜中皮腫でどの程度発現しているかを組織検体を用いて検討した。その結果、正常組織と比較して悪性胸膜中皮腫組織では miR-3140-3p の発現量が低下していることが明らかとなった。次に、マウスゼノグラフトモデルを用いて miR-3140-3p が腫瘍抑制効果を示すかどうかを検討したところ、*in vivo* においても強く腫瘍増殖を抑制することを見出した。最後に、miR-3140-3p の標的遺伝子を明らかにするため、マイクロアレイ解析および *in silico* 解析を行い、標的遺伝子候補を 20 遺伝子に絞り込んだ。これらに対する siRNA を用いて、細胞老化誘導能および増殖抑制効果を持つかどうかをハイコンテンツスクリーニングにより評価し、結果として ASF1B

を標的遺伝子として同定した。

#### 【総括】

本研究では、細胞老化の表現型を評価する新規スクリーニング法によって、349 種類の SA-miRNA を同定した。さらに、349 種類の miRNA の抗腫瘍効果について 7 種のがん細胞株を用いて評価し、強い抗腫瘍効果を持つ SA-miRNA として miR-3140-3p を同定した。この miR-3140-3p は悪性胸膜中皮腫において発現が低下しており、悪性胸膜中皮腫における miR-3140-3p 発現量の補充は *in vitro* および *in vivo* において強い腫瘍抑制効果を示した。また、miR-3140-3p の標的遺伝子の 1 つとして ASF1B が同定され、miR-3140-3p は ASF1B の発現抑制を介して細胞老化誘導および悪性胸膜中皮腫抑制に寄与することが明らかとなった。本結果により、miR-3140-3p が悪性胸膜中皮腫に対する抗腫瘍核酸医薬として応用されることが期待される。