

## 論 文 要 旨

**Gene regulation by antitumor miR-130b-5p in pancreatic ductal adenocarcinoma**

〔 癌抑制型マイクロ RNA (miR-130b-5p) が制御する  
膵臓癌・機能性ネットワークの探索 〕

福久 はるひ

**【序論及び目的】**

膵臓癌は、診断時に既に切除不能進行癌である場合が多く、また、明確な治療標的分子が見つからない。そのため、最新の分子標的治療薬の効果も乏しく、膵臓癌患者の生命予後は極めて不良である。膵臓癌は、日本人の死因別死亡率の第一位である。

マイクロ RNA (miRNA) は、19~22 塩基の低分子 RNA であり、機能性 RNA (蛋白コード遺伝子・蛋白非コード遺伝子) の発現を制御している。miRNA の特徴として、1 種類の miRNA が、数十~数千種類の機能性 RNA の発現を制御しているため、miRNA の発現異常は、細胞内の機能性 RNA ネットワークの破綻を引き起こし、ヒト癌を含む様々な疾患に関与していることが報告されている。申請者らは、膵臓癌臨床検体から RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて、「膵臓癌・miRNA 発現プロファイル」を作成した。このプロファイルに基づき、膵臓癌において発現が抑制されている miR-130b-5p (passenger strand) に着目した。本研究では、miR-130b-5p の癌抑制機能と、miR-130b-5p が制御する膵臓癌の機能性 RNA ネットワークの探索を行った。

**【材料及び方法】**

当教室の根治手術で得られた膵臓癌組織 31 例および非膵臓癌組織 15 例から RNA を抽出し、定量 PCR 法により miRNA の発現を確認した。機能解析として、膵臓癌由来細胞株 (PANC-1、SW1990) に miRNA および siRNA を核酸導入し、細胞の増殖能、遊走能、浸潤能を評価した。miRNA の標的分子探索は、遺伝子発現解析と miRNA データベース、The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用いて行った。

**【結 果】**

- ① miR-130b-5p の発現は、膵臓癌臨床検体で有意に発現が抑制されていた。膵臓癌由来細胞株 (PANC-1、SW1990) に、miR-130b-5p を核酸導入することにより、癌細胞の遊走能・浸潤能の顕著な抑制を認めた。
- ② miR-130b-5p が制御する癌促進型遺伝子として、103 個の遺伝子を探索した。この中で、9 個の遺伝子 ((EPS8, ZWINT, SMC4, LDHA, GJB2, ZCCHC24, TOP2A, ANLN, ADCY3) の発現は、膵臓癌患者の予後に影響を与えていることが明らかとなった。
- ③ この中で、Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8 (EPS8) の発現が、膵臓癌患者の予後に最も影響を与えていた (5 年生存率、 $p < 0.0001$ )。膵臓癌臨床検体において、EPS8 の高発現を確認した。
- ④ siRNA を用いて EPS8 をノックダウンすることで、膵臓癌細胞株の増殖能、遊走能、浸潤能の顕

著な抑制を認めた。

- ⑤ ルシフェラーゼ・レポーターアッセイにて、miR-130b-5p が EPS8 の 3'UTR に直接結合することを明らかにした。
- ⑥ EPS8 が制御する下流遺伝子について探索を行い、MET, HMGA2, FERMT1, RARRES3, PTK2, MAD2L1, FLI1 が、膵臓癌の悪性化に関与していることを明らかにした。

#### 【結論及び考察】

膵臓癌・miRNA 発現プロファイルから、miR-130b-5p (passenger strand) に着目し、その機能解析から、miR-130b-5p が癌抑制型 miRNA であることを明らかにした。さらに、miR-130b-5p が直接制御する癌促進型遺伝子として、EPS8 を見出した。これまでの概念では、miRNA の生合成において、miRNA 前駆体から派生する passenger strand は、機能を有しないとされている。本研究において、miR-130b-5p は、miR-130b-3p (guide strand) と共に、膵臓癌細胞で癌抑制機能を有することを初めて明らかにした。癌抑制型 miRNA を起点とした機能性 RNA ネットワークの探索から、膵臓癌の病態に関与する様々な分子の探索が可能であった。本研究戦略は、膵臓癌の分子病態の理解と共に、予後予測マーカーや治療標的分子の探索に有効であると考えられる。

(Journal of Human Genetics 2019 Mar 11. doi: 10.1038/s10038-019-0584-6.)