

論文の内容の要旨

論文題目: 大腸癌細胞の造腫瘍性における
長鎖非コード RNA *UPAT* の役割
(The role of long non-coding RNA *UPAT*
in tumorigenicity of colon cancer cells)

氏名 杉政 宏信

【背景と目的】

近年、大規模なトランスクリプトーム（転写産物の総体）解析が行われた結果、ゲノムのほぼ全体から膨大な種類のタンパク質をコードしない RNA (non-coding RNA, ncRNA) が転写されていることが明らかになった。中でも200塩基以上の長さを持つ long non-coding RNA (lncRNA) は遺伝子発現制御や転写後調節、タンパク質安定性制御といった多彩な機能を持つことが次第に明らかになりつつあり、研究が盛んに行われている。これまでに lncRNA は増殖・分化・胚発生・神経発生・幹細胞性の維持といった生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たしていることが報告されている。さらに、lncRNA と癌化及び癌転移との関わりも報告され始めている。

日本において大腸癌は罹患率・死亡率ともに上昇傾向にあり、2012-2013 年の部位別癌死亡率では男性では肺癌・胃癌に続いて3位、女性では1位となっている。本

研究では、大腸癌の造腫瘍性に重要な lncRNA を同定し、その機能解析を行うことで新規治療法確立の足掛かりを得ることを目標とした。

【結果】

1. 大腸癌の造腫瘍性に関わる lncRNA の探索

我々は、癌細胞内における不均一性に着目し、その中に大腸癌の造腫瘍性を解読する糸口が存在すると考えた。まず我々は、大腸癌組織由来細胞株である CCSC#P 細胞を限界希釈し、得られた単一細胞由来の細胞株の造腫瘍性を検討した。得られた 34 クローン調べた結果、CCSC#11 細胞が CCSC#P 細胞と比較して免疫不全マウスにおける造腫瘍性が著しく減少していることが明らかとなった。この造腫瘍性の差異が生み出される分子機構を明らかにするために、CCSC#P 細胞及び CCSC#11 細胞を用いた RNA-seq 解析を行い、両細胞株の遺伝子発現プロファイルの比較を行った (図1)。

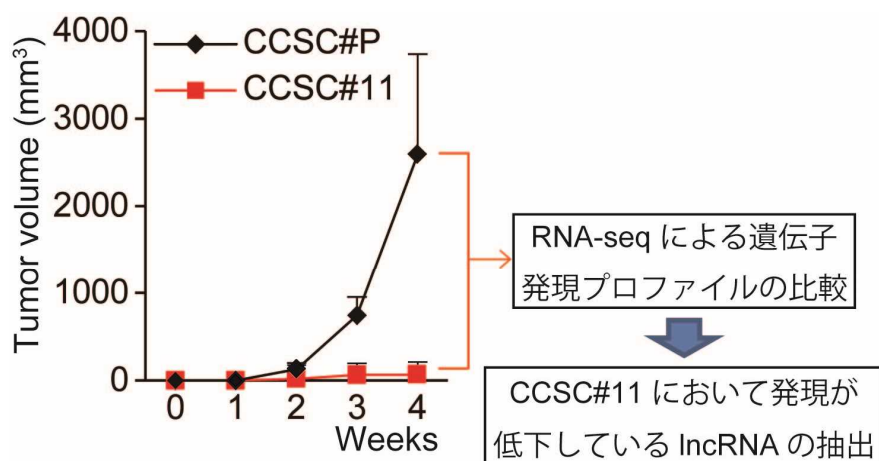


図 1：造腫瘍性に差のある大腸癌細胞株の発現プロファイル比較

続いて、RNAi screening を行った結果、AOC3 の psuedogene である IncRNA *UPAT* (UHRF1 Protein Associated Transcript) が大腸癌の増殖及び造腫瘍性に関与していることを明らかにした (図2)。

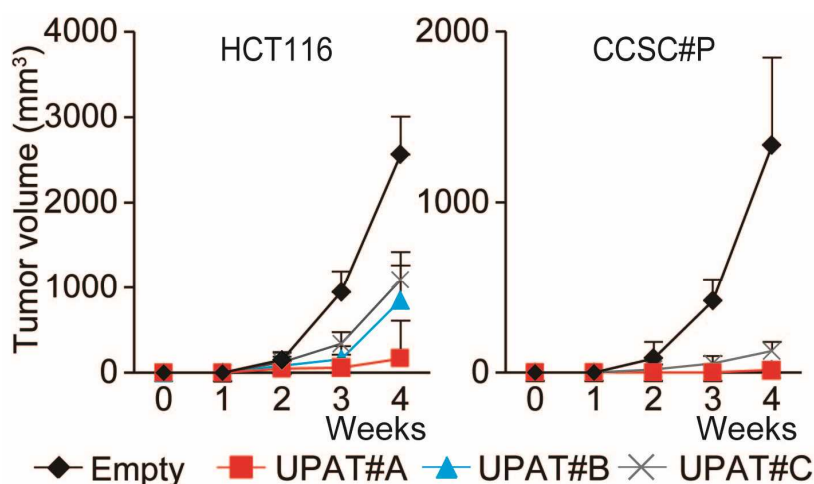


図2: *UPAT* 発現抑制による大腸癌細胞の造腫瘍性低下

2. IncRNA *UPAT* 結合タンパク質の同定

多くの IncRNA はタンパク質と複合体を形成して機能することが知られている。そこで我々は、*UPAT* の機能を明らかにするために、RNA pull-down アッセイ及びMS解析による *UPAT* 結合タンパク質の同定を試みた。その結果、大腸癌細胞において *UPAT* がエピゲノム制御因子である UHRF1 に結合することを明らか

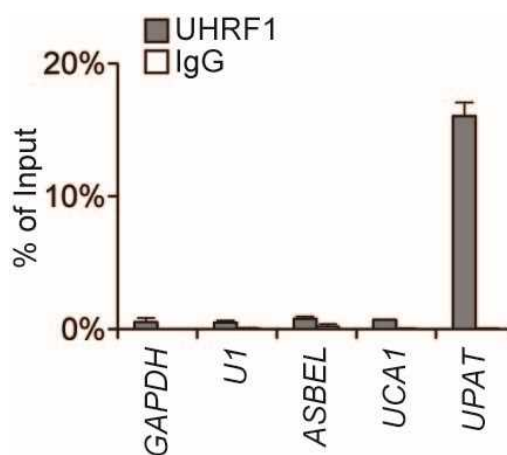


図3: *UPAT* と UHRF1 との結合検証

かにした (図3)。これまでに、UHRF1はDNAメチル化やヒストン修飾を介して転写を制御し、癌の増殖や生存に関与していることが明らかとなっている。

3. UPATによるUHRF1タンパク質安定化機構の解明

続いて、大腸癌細胞においてUPATがUHRF1に与える影響を調べた結果、UPATがユビキチン化酵素であるβ-TrCPを介したUHRF1のユビキチン化を阻害してUHRF1を安定化し、造腫瘍性を維持していることを明らかにした。さらに、UPAT及びUHRF1がRAS経路に参与するSCD1やSPRY4などの発現を活性化することによって、大腸癌の生存に寄与していることを明らかにした(図4)。

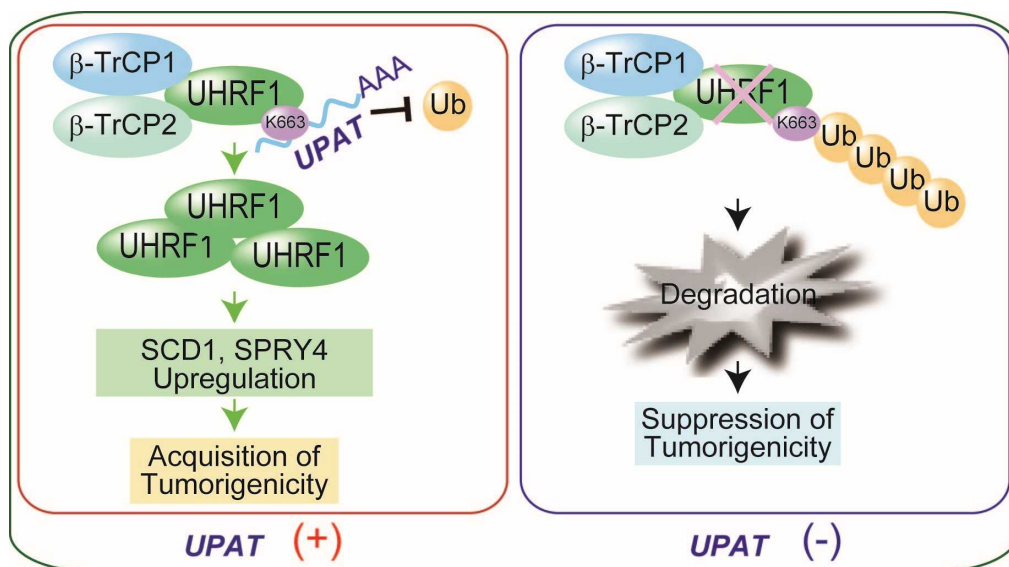


図4: 大腸癌の造腫瘍性におけるUPATの機能(モデル図)

【結論】

以上のことから、新規 lncRNA が転写関連因子のユビキチン化を阻害して安定化することにより大腸癌の造腫瘍性を維持していることが明らかになった。さらに、UPAT 及び UHRF1 は大腸癌の新規治療分子標的として有効である可能性が示唆された。