

Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/32432

【総説】

第10回 高安賞優秀論文賞受賞

論文 「Inflammation-induced repression of tumor suppressor miR-7 in gastric tumor cells」

Oncogene

2011 Dec5. [Epub ahead of print]

2012年掲載予定

Dan Kong, Ying-Shi Piao, Satoshi Yamashita, Hiroko Oshima, Keisuke Oguma, Sachio Fushida, Takashi Fujimura, Toshinari Minamoto, Hiroshi Seno, Yoichi Yamada, Kenji Satou, Toshikazu Ushijima, Tomo-o Ishikawa, Masanobu Oshima

胃がん細胞における炎症反応依存的ながん抑制性miR-7発現の抑制

孔 丹 (こう たん)

背 景

慢性炎症反応は発がん促進に関与していると考えられている。プロスタグランジン合成酵素であるCOX-2は、炎症反応に重要な役割を果たしているが、COX-2の下流で合成されるPGE₂は胃がんや大腸がんの発生の促進にも作用していることがマウスモデルを用いた解析により示されている (Oshimaら¹⁾, Sonoshitaら²⁾)。しかし、COX-2/PGE₂経路が関与する炎症反応が、発がんを促進する分子機序については未だ不明な点が多い。

microRNA (miRNA) は約20塩基からなる小さなRNA分子であり、標的となるmRNAと結合して蛋白翻訳を阻害する。がん遺伝子やがん抑制遺伝子を標的とするmiRNAは、それぞれがん抑制性またはがん促進性に作用すると考えられる。しかし、炎症による発がん促進におけるmiRNAの関与についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、炎症反応依存的に発現変化するmiRNAを明らかにし、それらによる発がんへの影響について解析を行なった。

結 果

私が所属した研究室では、COX-2/PGE₂経路依存的に胃炎を発生するK19-C2mEマウス、およびCOX-2/PGE₂およびWntシグナル経路の活性化により胃炎をともなう胃がんを発生するGanマウスモデルを開発した (Oshimaら³⁾)。そこで、K19-C2mEマウスの胃炎組織、Ganマウス胃がん組織それぞれにおけるmiRNA発現をマイクロアレイにより解析した結果、20個程度のmiRNAが炎症反応依存的に胃がん組織で発現誘導または発現低下していることが明らかとなった (図1a)。その中でも、がん促進に作用するmiR-21やmiR-155は炎症依存的に発現上昇し、がん抑制性に作用するmiR-7やmiR-145は炎症依存的に発現低下することをRT-PCRにより確認した (図1b)。

そこで、脳腫瘍細胞などでがん抑制作用が示唆されているmiR-7 (Kefaら⁴⁾)に着目して研究を進めた。マウス胃粘膜から上皮細胞を単離して発現解析を行ない、上皮細胞でmiR-7が発現していることを確認した (図2a)。胃

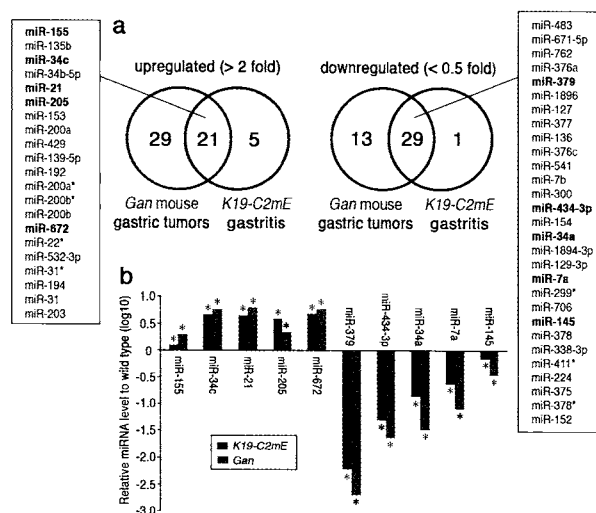


図1. Ganマウス胃がんおよびK19-C2mEマウス胃炎組織におけるmicroRNA発現解析結果。(a) 胃炎および胃がん組織で発現上昇 (左) および発現低下 (右) のmiRNA群。(b) それぞれのリストから抽出したmiRNAについてRT-PCR解析結果。(Kong et al, *Oncogene* 2012 in press)

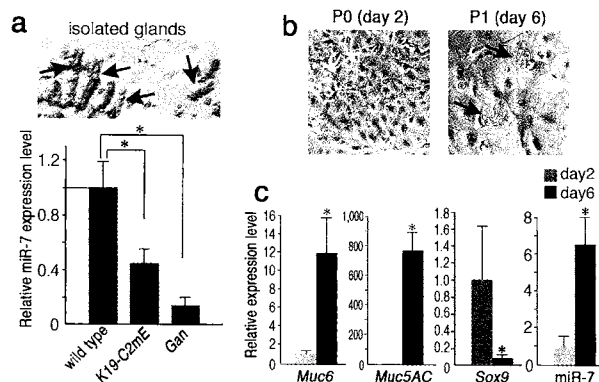


図2. 胃上皮におけるmiR-7発現。(a) 単離胃上皮細胞におけるmiR-7発現結果。(b) 初代培養における細胞分化実験 (day 2: 未分化, day 6: 分化上皮)。(c) 分化上皮におけるmiR-7発現の誘導。(Kong et al, *Oncogene* 2012 in press)

上皮細胞初代培養により, *in vitro*で分化させる実験系を用いて発現解析した結果, 上皮細胞の分化にともなってmiR-7発現が誘導されることが明らかとなった(図2b, c). また, マウス生体内においても, 胎仔や新生仔の未分化な胃粘膜に比較して成熟マウス胃粘膜でmiR-7発現が上昇した. 以上の結果から, miR-7発現は分化の誘導に関与している可能性が考えられた.

次に, 28例のヒト胃がん組織由来RNAを用いて, miR-7の発現解析を行なった結果, 64%の症例で胃がん組織でのmiR-7発現低下が認められた(図3a). 重要なことに, ヒト胃がん組織におけるmiR-7発現低下は, 炎症性サイトカインのTNF- α やIL-1 β の発現誘導と逆相関しており, 炎症反応が強いほどmiR-7発現が低下していると考えられた(図3b). さらにmiR-7を胃がん細胞株に導入す

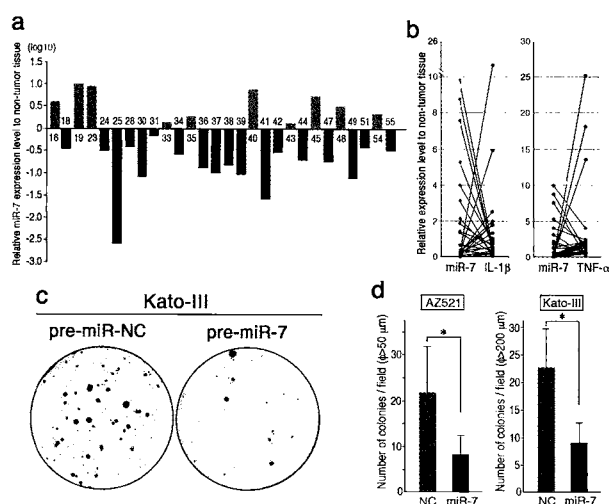


図3. ヒト胃がん組織におけるmiR-7発現変化 (a), および炎症性サイトカインとmiR-7の発現量比較 (b). (c, d) miR-7を導入したヒト胃がん細胞の軟寒天コロニー形成の変化. (Kong et al, *Oncogene* 2012 in press)

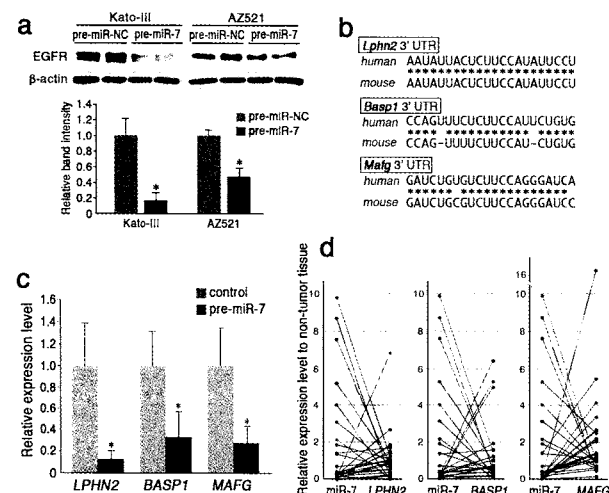


図4. miR-7の標的遺伝子探索. (a) miR-7発現によるEGFR遺伝子発現低下 (Western blotting). (b) データベース検索により抽出された新規miR-7標的遺伝子に含まれるmiR-7標的配列. (c) miR-7発現による標的遺伝子発現低下. (d) ヒト胃がん組織におけるmiR-7と標的遺伝子発現の逆相関 (RT-PCR). (Kong et al, *Oncogene* 2012 in press)

ると軟寒天培地中でのコロニー形成率が顕著に低下したので(図3c, d), miR-7発現低下は胃がん細胞の腫瘍原性維持に重要と考えられた.

さらに, 発がんに関与するmiR-7の標的遺伝子の探索を行なった. すでに報告があるように, miR-7は上皮増殖因子受容体 (EGFR) を標的としており (Kefar⁴⁾), miR-7を強制発現させた胃がん細胞ではEGFR発現が有意に低下した(図4a). さらに, *K19-C2mE*および*Gan*マウスを用いた網羅的遺伝子発現結果のデータベース検索により新規miR-7標的遺伝子を探索した結果, miR-7標的配列を有する遺伝子群の中から, 炎症反応依存的に発現誘導された3つの遺伝子, *Lphn2*, *Basp1*, *Mafg*を抽出した(図4b). ヒト胃がん細胞にmiR-7を導入した結果, これらの3つの遺伝子発現レベルは有意に低下し, これらの発現がmiR-7に制御されてことが確認された. また, ヒト胃がん組織における*Lphn2*, *Basp1*, *Mafg*の3遺伝子の発現をRT-PCRで解析した結果, すべてmiR-7の発現量と逆相関しており, miR-7発現低下に依存して胃がん組織で発現誘導されていると考えられた(図4c, d).

結 論

本研究により, がん促進性miRNAやがん抑制性miRNAの発現が, 炎症反応依存的に発現誘導および発現抑制されることが明らかとなった. その中でも, 炎症反応依存的に発現抑制されるmiR-7は, 正常上皮細胞の分化誘導に関与している可能性があり, その発現低下はがん細胞の未分化性維持に必要と考えられた. miR-7発現による発がん促進機序として, EGFR発現誘導についての報告がすでにあるが, 本研究ではあらたに*Lphn2*, *Basp1*, *Mafg*などの新規miR-7標的遺伝子が, miR-7発現低下にともなって発現誘導されることを示した. 今後, これらの標的遺伝子による発がん促進機序について研究をすすめて行きたい.

文 献

- 1) Oshima H, Oshima M, Inaba K, Taketo MM. (2004) Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice. *EMBO J* 23: 1669-1678.
- 2) Sonoshita M, Takaku K, Sasaki N, Sugimoto Y, Ushikubi F, Narumiya S *et al.* (2001) Acceleration of intestinal polyposis through prostaglandin receptor EP2 in *Apc*^{Δ716} knockout mice. *Nat Med* 7: 1048-1051.
- 3) Oshima H, Matsunaga A, Fujimura T, Tsukamoto T, Taketo MM, Oshima M. (2006) Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E₂ pathway. *Gastroenterology* 131: 1086-1095.
- 4) Kefas B, Godlewski J, Comeau L, Li Y, Abounader R, Hawkinson M *et al.* (2008) microRNA-7 inhibits the epidermal growth factor receptor and the Akt pathway and is down-regulated in glioblastoma. *Cancer Res* 68: 3566-3572.



Profile

2007年：中国ハルビン医科大学卒業

2011年：金沢大学大学院医学研究科博士課程修了 (金沢大学がん進展制御研究所腫瘍遺伝学)

現 在：中国ハルビン医科大学腫瘍病院勤務