

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：32641

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23300357

研究課題名(和文) 網羅的解析手法を用いた腫瘍及び細胞分化関連miRNAの生命情報学的同定技術の開発

研究課題名(英文) Development of extensive analyses methods of tumor and cell differentiation related miRNA using

研究代表者

田口 善弘 (Taguchi, Y-h.)

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：30206932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 17,000,000円

研究成果の概要(和文)：標的mRNAの発現プロファイルからmiRNAによる標的mRNAの発現抑止を推定するプログラムMiRaGE (MiRNA Ranking by Gene Expression)を提案した。これを用いて、mRNA発現プロファイルからのmiRNA発現抑止が推定できることを確認した。また、mRNA発現プロファイルの代わりにプロモーターのメチル化、および、ヒストン修飾を解析することでmiRNA標的的特異的なプロモーターメチル化およびヒストン修飾が生じていることを世界で初めて明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We proposed MiRaGE (MiRNA Ranking by Gene Expression) that infer miRNA inhibition of target mRNAs using mRNA expression profiles and demonstrated its abilities. Replacing gene expression with promoter methylation or histone modification, we found the miRNA-target-specific promoter methylation and histone modifications.

研究分野：Gene expression/epigenetic profile analyses

キーワード：microRNA promoter methylation histone modification gene expression

1. 研究開始当初の背景

microRNA (miRNA)は標的 mRNA の発現制御(抑止)を行う機能性 non-coding RNA (ncRNA)であることが知られていたが、各 miRNA の標的 mRNA は非常に数が多く(数十から数百)、miRNA の数自体も多い(数千)ために、mRNA-miRNA のペアの数は数十万から数百万に上り、それらすべてのペアを実験的に確定することには無理があった。このため miRNA の標的 mRNA の特定は主に計算機を用いた、バイオインフォマティクな方法に頼っていたが、その精度は必ずしも高くなく、新しいアプローチが望まれていた。当時、このようなアルゴリズムはあまり多数知られておらず、研究に大きな壁が生じている状態であった。

2. 研究の目的

mRNA の網羅的な発現データから miRNA による標的 mRNA 発現抑止を推定するアルゴリズムを提案することになる。

3. 研究の方法

上記研究目的を実現するアルゴリズム、MiRaGE (MiRNA Ranking by Gene Expression)を考案し、これを mRNA 及び miRNA 発現データと比較することで、提案手法の有効性を確認する。

MiRaGE においては、コントロール群と操作群の各遺伝子の mRNA / プロモーターメチル化 / ヒストン修飾を入力として与える。これらは二群間の差分発現に変換される。各 miRNA の発現抑止能(入力が mRNA である場合)は mRNA を miRNA 標的群と当該 miRNA の標的ではないが、他のいずれかの miRNA の標的ではある群の二群にわけ、この二群間の差の有意性を表す P 値を統計的な検定手法(具体的には t 検定、ウィルコクソンの符号差検定、コルモゴロフ・スミルノフ検定のいずれか)を用いて、計算することで得られる。

4. 研究成果

技術的な成果

- (1) MiRaGE 法をWEBサーバー、および、Bioconductor のパッケージとして公開し、広く使用できるようにした
- (2) MiRaGE 法の実際について解説論文(英文)を執筆し、オープンアクセスで出版して自由に購読できるようにした。

学術的な成果

- (1) ヒト肺がんセルラインに3種類の miRNA を transfection した実験の mRNA 発現プロファイルを MiRaGE 法を用いて解析し、transfection した

microRNA を正しく予想することに成功した。具体的には transfection した miRNA の標的 mRNA が特異的に発現が低下していた。

- (2) E S 細胞の神経細胞への分化過程を記録した mRNA 発現プロファイルに、MiRaGE を適用し、標的が特異的に発現変化している mRNA を同定した結果、分化と共に標的が上昇している mRNA が、E S 細胞特異的に発現している miRNA であることを見出した。これは miRNA の標的が発現抑止されているという予想によく一致していた
- (3) 細胞老化の mRNA 発現プロファイルに MiRaGE 法を適用し、標的 mRNA が特異的に発現変化している miRNA を多数個同定した。また、同定された miRNA の多くが老化に関連した miRNA であることを見出した。
- (4) mRNA 発現プロファイルの代わりに、プロモーターメチル化プロファイルに MiRaGE を適用することで、プロモーターのメチル化が miRNA 標的的特異的に生じていることを世界で初めて発見した。また、複数のセルライン(細胞老化と細胞分化)において、miRNA 特異的なプロモーターメチル化と mRNA 発現プロファイルが負に相関していることを見出した。
- (5) 脳の4領域(前頭葉、側頭葉、橋、小脳)間の mRNA 発現プロファイル、プロモーターメチル化プロファイル、miRNA 発現プロファイルを MiRaGE で統合的に解析し、それらの間に有意の相関があることを見出した。また、特に強い相関を持っている miRNA の標的 mRNA は、脳の発生や脳疾患に強く関連しているものが多いことを見出した。
- (6) 精子細胞の分化過程におけるヒストン修飾を MiRaGE で解析し、miRNA 標的的特異的なヒストン修飾が生じていることを世界で初めて明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

Y-h. Taguchi, Apparent microRNA-Target-specific Histone Modification in Mammalian Spermatogenesis, *Evol Bioinform Online.*,

査読有, 2015, Vol.11(Suppl 1), pp.13-26.
doi: 10.4137/EBO.S21832

Y-h. Taguchi, MicroRNA-mediated regulation of target genes in several brain regions is correlated to both microRNA-targeting-specific promoter methylation and differential microRNA expression, *BioData mining*, 査読有, 2013, Vol.6, No.1, 11.
doi:10.1186/1756-0381-6-11

Y-h. Taguchi, Correlation between miRNA-targeting-specific promoter methylation and miRNA regulation of target genes, *F1000Research*, 査読有, 2013, Vol.2, 21
doi: 10.12688/f1000research.2-21.v3

Y-h. Taguchi, Inference of Target Gene Regulation via miRNAs during Cell Senescence by Using the MiRaGE Server, *Aging Dis.*, 査読有, 2012, pp. 301-306.
<http://www.aginganddisease.org/EN/Y2012/V3/I4/301>

Y-h. Taguchi, Jun Yasuda, MiRaGE: Inference of Gene Expression Regulation via MicroRNA Transfection II, *Bio-Inspired Computing and Applications*, 査読有, 2012, pp. 129-135.
doi: 10.1007/978-3-642-24553-4_19

Masato Yoshizawa, Y-h. Taguchi, Jun Yasuda, Inference of Gene Regulation via miRNAs During ES Cell Differentiation Using MiRaGE Method, *Int J Mol Sci*. 査読有, 2011 Vol.12, No. 12, pp.9265-76
doi: 10.3390/ijms12129265

M. Yoshizawa, Y-h. Taguchi, Gene expression regulation during differentiation from murine ES cells due to microRNA, *Bioinformatics and Biomedicine Workshops (BIBMW)*, 査読有, 2011 IEEE International Conference on , pp.948-949,
doi: 10.1109/BIBMW.2011.6112515

Y-h. Taguchi, Jun Yasuda, Search of miRNAs critical for medulloblastoma formation using MiRaGE method, *IEICE technical report*. *Neurocomputing*, 査読無, Vol.111, No. 96, 2011, pp. 21-26
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110008746485/>

〔学会発表〕(計5件)

— Y-h. Taguchi, Possible miRNA Coregulation of Target Genes in Brain Regions by Both Differential miRNA Expression and miRNA-Targeting-Specific Promoter Methylation, *ICIC2013*, 2013年7月28日-31日 南寧・中国

— Y-h. Taguchi, Inference of Target Gene Regulation via miRNAs during Cell Senescence by Using the MiRaGE Server, *ICIC2012*, 2012年7月25日-29日 黄山・中国

— M. Yoshizawa, Y-h. Taguchi, Gene expression regulation during differentiation from murine ES cells due to microRNA, *Bioinformatics and Biomedicine Workshops*, 2011年11月12日-15日、アトランタ・アメリカ合衆国

— Y-h. Taguchi, Jun Yasuda, MiRaGE: Inference of Gene Expression Regulation via MicroRNA Transfection II, *ICIC2011*, 2011年8月1日-4日 鄭州・中国

— Y-h. Taguchi, Jun Yasuda, Search of miRNAs critical for medulloblastoma formation using MiRaGE method, *電子情報通信学会ニューロコンピューティング研究会*, 2011年6月16日、琉球大学・沖縄

〔図書〕(計1件)

Y-h. Taguchi, Inference of Target Gene Regulation by miRNA via Mi-RaGE Server. *Introduction to Genetics-DNA Methylation, Histone Modification and Gene Regulation*. 2013 ISBN: 978-1477554-94-4. 2013.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

MiRaGE 公開サーバ

<http://www.granular.com/MiRaGE/>

MiRaGE パッケージ in Bioconductor

<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/MiRaGE.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田口善弘 (TAGUCHI, Y-h.)
中央大学・理工学部・教授
研究者番号：30206932

(2)研究分担者

安田純 (YASUDA, Jun)
東北大学・東北メディカル・メガバンク機
構・教授
研究者番号：00281684