

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860520

研究課題名(和文)炎症に伴うmicroRNA機能不全を一因とした胃癌・肝癌の病態解明と制御法の開発

研究課題名(英文) Researching that global repression of miRNA function may cause inflammation-associated gastric and hepatic tumorigenesis

研究代表者

吉川 剛史 (Yoshikawa, Takeshi)

東京大学・医学部附属病院・特任臨床医

研究者番号：40631685

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：「炎症性ストレスによるmicroRNA機能異常が一因となる慢性炎症からの消化器発癌」と「その予防法」についての研究を進めている。microRNAの機能を増強する薬剤としてROCK阻害剤を見出し、その作用機序を解明して論文化した。さらに大腸における慢性炎症からの発癌の一因としてmicroRNA機能異常が関与し、上記薬剤で腫瘍形成が抑制されることを見出しており、炎症性発癌におけるmicroRNA機能異常の役割についての論文を現在投稿中である。肝臓では大腸で認められたような上記薬剤による腫瘍形成の抑制は認められなかった。今後はmicroRNA機能減弱から発癌に至る分子機構の解明を行う。

研究成果の概要(英文)：I am researching "chronic impairment of microRNA function due to chronic inflammation may cause inflammation-associated tumorigenesis" and "preventing inflammation-associated tumorigenesis". I published that ROCK inhibitor enhanced remaining miRNA function by promoting miRNA-mediated mRNA decay. And I am submitting the paper that global impairment of miRNA function in chronic inflammation may have a causal role in inflammation-associated colonic oncogenesis, and enhancement of miRNA function is a potential method for preventing colonic inflammation-associated tumorigenesis. This time I researched gastric and hepatic inflammation-associated tumorigenesis, but enhancement of miRNA function did not prevent inflammation-associated tumorigenesis of stomach and liver. Hereafter I will research molecular mechanism that global impairment of miRNA function contribute to inflammation-associated oncogenesis.

研究分野：病態医化学

キーワード：microRNA 炎症性発癌

### 1. 研究開始当初の背景

これまで全般的に microRNA の産生が低下すると発癌に傾くという報告がなされてきた。いっぽう炎症性ストレスが細胞や動物組織で発生するとその部位での microRNA 機能が減弱することを研究者は見出していた。そのため、炎症に伴う microRNA 機能低下が microRNA 産生不全と類似の病態を引き起こし発癌に傾くのではという仮説を立てて、これまで検証してきた。また、慢性炎症性疾患(慢性肝炎・慢性胃炎)では非常に高率に当該臓器の癌が惹起され、臨床的な問題となっている。炎症性発癌の病態解明は、これらの疾患に罹患している人数を考えても、非常に重要であると考えられる。

### 2. 研究の目的

これまで申請者は、大腸で「炎症性ストレスによる microRNA 機能異常が一因となる慢性炎症からの消化器発癌」と「その予防法」について解析してきた。しかしながら、我が国においては現在のところ大腸の炎症性発癌(たとえば潰瘍性大腸炎に伴う大腸癌)は罹患者数・罹患年数の差などから、欧米に比較して少ないことが知られている。消化器領域における慢性炎症からの発癌として大きく問題となるのは、現在実際的には、大腸の炎症性発癌よりもむしろ、慢性肝炎からの肝発癌・あるいは慢性胃炎からの胃癌であると思われる。よって大腸における炎症性発癌の検討も進めつつ、より臨床的なニーズの高い慢性胃炎あるいは慢性肝炎からの発癌に応用し、これらの臓器における発癌機序と予防法の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

1) 慢性炎症に引き続き発症する胃癌のマウスモデルとして、所属する研究室で樹立した *Helicobacter pylori* の臨床分離株(マウスでの *in vivo* passage を繰り返すことにより Cag PAI 陽性でありながらマウスに感染し胃に長期の炎症を惹起させうる株)を感染させると同時に、癌発生の頻度を早めて期間を短くするために N-methyl-N-nitrosourea (NMU) 投与を併用するモデルを用いた。慢性炎症に続発する肝発癌モデルには、MDR2 ノックアウトマウスと STAM マウスを用いた。MDR2 ノックアウトマウスは、肝細胞内に胆汁うっ滞が起こり慢性的に肝臓に炎症が惹起され、その結果 4-5 か月程で線維化を伴う肝発癌を認める。STAM マウスは生後 2 日目にストレプトゾトシンを投与し、インスリン抵抗性を惹起させ、その後高脂肪食を摂取させることにより、NASH から肝発癌を認める。

2) これらのモデルと、先に樹立した microRNA 機能を *in vivo* で検証するためのレポーターマウスを交配し、慢性炎症性発癌の過程における microRNA 機能の異常を検

証した。

3) 次に 薬剤ライブラリーとレポーター細胞を用いて同定した microRNA 機能を増強する薬剤を用いて、慢性炎症の過程で microRNA 機能を増強させ、それによる発癌予防効果を検証した。

### 4. 研究成果

これまで microRNA の機能を増強する薬剤として Rho associated coiled-coil containing protein kinase (ROCK) 阻害剤を見出し、その作用機序を解明して 2015 年に論文化した。その論文で ROCK 阻害剤は、ROCK1 と HNF4a (Hepatocyte nuclear factor 4a) との相互作用を誘導し、HNF4a の転写能を増強して PAIP2 (polyA binding protein inhibiting protein2) の転写・発現を誘導し、microRNA の標的 mRNA の polyA 短縮を増強させて不安定化させる結果、標的 mRNA の分解を促進させるという作用を示した。さらに大腸における慢性炎症からの発癌の一因として、microRNA 機能異常が関与し、上記薬剤で腫瘍形成が抑制されることを既に見出しており、炎症性発癌における microRNA 機能異常の役割についての論文を現在投稿中である。

今回マウス感染性 *Helicobacter pylori*、MDR2 ノックアウトマウス、および STAM マウスを用いて、慢性炎症からの発癌モデルを確立し、それらのマウスと microRNA 機能を検証するレポーターマウスを交配し、慢性炎症性発癌の過程における microRNA 機能の異常を検証した。さらにそれらのマウスに対し、microRNA 機能を増強する薬剤を投与して当該臓器に発生する腫瘍数を確認した。しかし結果として、どのモデルにおいても、上記薬剤を投与したマウスに発生した腫瘍数は、コントロールに対し有意な差が認められなかった。大腸では有意な差が認められているため、臓器や炎症性発癌モデルの違いにより、これらの差が生じているものと考えられた。

そこで、まずは解析が進んでいる大腸における microRNA 機能異常を介した炎症性発癌の病態解明を行うことが先決であると考えた。大腸癌を解析対象とした microRNA 機能異常からの発癌に関与する原因遺伝子群同定をはじめとした慢性炎症からの発癌分子機構は、他臓器での慢性炎症に伴う発癌の分子病態を考える上でも、同様に重要であると思われる。

今後 miRNA 機能減弱から発癌に至る分子機構の解明、慢性炎症による miRNA 機能減弱の分子機構の解明をする方針とした。

### 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12件)

Yoshikawa T et al. (8人中3番目) Quantitation of circulating satellite RNAs in pancreatic cancer patients. *JCI Insight*. in press.

Yoshikawa T et al. (6人中5番目) Mutual antagonism between hepatitis B viral mRNA and host microRNA let-7. *Sci Rep*. 2016; 6: 23237.

Yoshikawa T et al. (6人中4番目) Development of a screening method to identify regulators of MICA shedding. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;465(4):764-768

Yoshikawa T et al. (13人中1番目) ROCK inhibition enhances microRNA function by promoting deadenylation of targeted mRNAs via increasing PAIP2 expression. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43(15): 7577-89.

Yoshikawa T et al. (18人中6番目) Decreased miR122 in hepatocellular carcinoma leads to chemoresistance with increased arginine. *Oncotarget*. 2015; 6(10):8339-8352.

Yoshikawa T et al. (12人中5番目) Specific delivery of microRNA93 into HBV-replicating hepatocytes downregulates protein expression of liver cancer susceptible gene MICA, *Oncotarget*. 2014; 5(14): 5581-5590.

Yoshikawa T et al. (10人中8番目) The flavonoid apigenin inhibits hepatitis C virus replication by decreasing mature microRNA122 levels. *Virology*. 2014; 462-463, 42-48

Yoshikawa T et al. (10人中3番目) Regulation of the expression of the liver cancer susceptibility gene MICA by

microRNAs. *Sci Rep*. 2013; 3, 2739

Yoshikawa T et al. (11人中4番目) The flavonoid apigenin improves glucose tolerance through inhibition of microRNA maturation in miRNA103 transgenic mice. *Sci Rep*. 2013; 3:2553.

Yoshikawa T et al. (8人中5番目) Inhibition of microRNA122 decreases SREBP1 expression by modulating suppressor of cytokine signaling 3 expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013; 438(1):230-235.

Yoshikawa T et al. (9人中1番目) Unique haploinsufficient role of the microRNA-processing molecule Dicer1 in a murine colitis-associated tumorigenesis model. *PLoS one* 2013; 8(9): e71969.

Yoshikawa T et al. (13人中3番目) MiRNA-140 acts as a liver tumor suppressor by controlling NF-kB activity via directly targeting Dnmt1 expression. *Hepatology*. 2013; Jan;57(1):162-70.

以上全て査読あり。

[学会発表](計4件)

Yoshikawa T. Enhancing microRNA function may prevent colon carcinogenesis. 日本消化器関連学会週間：ポートピアホテル(兵庫県・神戸市). 2014.10.25

Yoshikawa T. Obligate haploinsufficiency of the microRNA-processing molecule dicer1 in a murine colitis-associated tumorigenesis model. American Association for Cancer Research Annual Meeting. San Diego (USA). 2014.4.8

吉川 剛史. 慢性炎症に伴う大腸腫瘍発生における Dicer 遺伝子の特殊な癌抑制作用の解明. 日本消化器病学会総会：東京国際フォーラム(東京都・千代田区). 2014.4.23

Yoshikawa T. Functional impairment of microRNAs induced by chronic inflammation is the cause of inflammation-associated colon tumorigenesis. American Association for

Cancer Research Annual Meeting.  
Washington, D.C. (USA). 2013.4.9

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<https://sites.google.com/site/225kenncrna/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

吉川 剛史 (YOSHIKAWA Takeshi)  
東京大学・医学部附属病院・特任臨床医  
研究者番号：40631685

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし