

# 論文内容要旨

Expression and function of Uc.160+, a transcribed  
ultraconserved region, in gastric cancer

(胃癌における Uc.160+の発現・機能解析)

Gastric Cancer, 20(6):960-969, 2017.

主指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：武島 幸男教授

(医歯薬保健学研究科 病理学)

副指導教員：大上 直秀准教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

本間りりの

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

胃癌は我が国で罹患数 2 位死亡数 3 位の癌である。診断・治療技術の進歩に伴い治療成績は向上しているものの罹患数・死亡数はともに横ばいであり、進行・再発胃癌の予後は依然として不良である。胃癌は未だその biology に不明な点が多く、その詳細な分子メカニズムを明らかにすることには大きな意義がある。

転写超保存領域(transcribed-ultraconserved regions; T-UCRs)とは、ヒトやマウス、ラットなど生物種を超えてほぼ 100%同一の配列を示す高度に保存されたゲノム上の領域(ultraconserved regions; UCRs)から転写されるタンパク質をコードしない RNA(non-coding RNA; ncRNA)の一種であり、少なくとも 481 領域、962 種存在することが知られている。T-UCR の発現制御には microRNA による制御と DNA メチル化による制御の二通りの機構が存在することが知られている。近年の研究から、T-UCR が疾患特異的な発現パターンを示し、いくつかの T-UCR ががんにおいて発現異常を示すことが報告されている。このことから T-UCR ががん関連遺伝子として機能することが示唆されているが、がんにおける T-UCR の詳細な発現調節機構や生物学的な意義に関しては不明な点が多い。本研究で着目した転写超保存領域 Uc.160+は大腸癌などで発現異常を示す T-UCR として同定され、DNA メチル化による制御が指摘されているが、その機能の詳細は不明であり、また胃癌で検討を行った報告はない。

本研究では胃癌における Uc.160+の発現調節機構および生物学的な機能の解析を行った。

胃粘膜組織の非腫瘍部と腫瘍部での Uc.160+の発現を in situ hybridization により評価したところ、正常胃底腺粘膜及び腸上皮化生粘膜において Uc.160+の発現は保たれていたが、胃管状腺腫では発現が減弱し、胃癌においては組織型を問わずほぼ発現が認められなかった。また胃癌外科切除標本においても Uc.160+の発現を qRT-PCR によって評価し、非腫瘍部と比較して腫瘍部で有意に発現が低下しているのを確認した。

胃癌細胞株 MKN-1、MKN-7、MKN-45、MKN-74 について qRT-PCR により Uc.160+の発現を検討すると、全ての細胞株において Uc.160+の発現は正常胃組織と比べて著明に低下していた。Uc.160+の発現制御機構として DNA メチル化を想定し、5-Aza-dC を用いた脱メチル化処

理による発現変化を調べたところ、Uc.160+は胃癌細胞株 MKN-1 及び MKN-45 において 5-Aza-dC 処理によって発現が回復した。Uc.160+の上流領域を検索すると CpG アイランドが確認され、バイサルファイトシーケンスによってメチル化状態を評価した結果、癌特異的な過剰メチル化が認められた。さらにルシフェラーゼアッセイを行い、この領域がプロモーター活性を有しており、*in vitro* methylation によってその活性が著しく低下することが示された。以上のことから Uc.160+は胃癌において DNA メチル化により発現が抑制されていることを明らかにした。

さらに胃癌における Uc.160+の機能を検討するため、Uc.160+の配列を有する強制発現ベクターを作成し、胃癌細胞株 MKN-1 および MKN-45 に導入した。Uc.160+を強制発現させた細胞株を用いて Western blot を行ったところ、pAkt の発現が減弱し、PTEN の発現が減弱していた。このことから、Uc.160+は PTEN の発現制御を介して Akt のリン酸化を抑制していることが示唆された。

以上の結果より、本研究では胃癌において Uc.160+は癌特異的な DNA メチル化によって発現が抑制されており、Uc.160+は PI3K/Akt 経路の制御を介して癌抑制的に機能することが明らかになった。