

論文内容要旨

老化関連マイクロ RNA を用いた 新規抗腫瘍核酸医薬品の開発

主指導教員：田原 栄俊教授

(医歯薬保健学研究科 細胞分子生物学)

副指導教員：嶋本 顕准教授

(医歯薬保健学研究科 細胞分子生物学)

副指導教員：永井 純也准教授

(医歯薬保健学研究科 医療薬剤学)

福永 早央里

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

がんは日本における死亡原因の第一位であり、がんを根治するために多くの研究が進められてきた。現在では多様な抗がん剤の開発や早期診断法の確立により、一部のがんの5年生存率は向上した。しかし、未だ治療成績が低いがんは多く、より治療効果の高い抗がん剤の開発が求められている。

正常な細胞は一定回数細胞分裂を繰り返すと不可逆的に細胞増殖が停止することが知られており、この現象を細胞老化と呼ぶ。しかし、多くのがん細胞は老化プログラムの欠損により無限増殖能を獲得している。そのため最近では、細胞老化はがん抑制機構の一つであると考えられている。そこで我々は、がん細胞で欠損している細胞老化プログラムを誘導することで、がん細胞の増殖を抑制することができるのではないかと考えた。

本研究では、細胞に老化を誘導する因子として **microRNA (miRNA)** に着目した。miRNA は細胞内に発現している小分子ノンコーディング RNA であり、標的遺伝子の発現を抑制することで様々な生命現象を制御している。老化を制御している miRNA は老化関連 miRNA (**senescence-associated miRNA, SA-miRNA**) と呼ばれ、本研究では SA-miRNA を応用した新規抗がん剤の開発を目指した。そこで、がん治療薬となりうる SA-RNA の同定と機能解析を行うとともに、新規抗腫瘍核酸医薬品としての有用性を評価した。

まず、老化マーカーを指標とした機能的スクリーニングの結果、新規 SA-miRNA として **miR-486** を同定した。miR-486 には **miR-486-3p** 及び **miR-486-5p** の二種類の機能鎖が発現しているが、がん細胞における各鎖の詳細な機能は明らかとなっていない。そこで、様々な細胞株における **miR-486-3p** と **miR-486-5p** の発現量を調べたところ、**miR-486-3p** と **miR-486-5p** は同じ前駆体 RNA から生成されるにもかかわらず、その発現量は細胞により大きく異なっていた。多くのがん細胞で **miR-486-3p** の発現が低かったことから、**miR-486-3p** の導入ががん細胞にも細胞老化を誘導し、細胞増殖を抑制する可能性が示唆された。一方、**miR-486-5p** は膵臓がん細胞のみで発現が亢進していたことから、膵臓がんの悪性度に寄与している可能性が示唆された。

膵臓がん細胞における **miR-486-3p** の役割を明らかにするために、人工合成した核酸の導入実験を行った。その結果、**miR-486-3p** を導入した膵臓がん細胞において細胞の増殖が抑制され、さらに細胞老化が誘導されることが明らかとなった。

miR-486-3p は *in vivo* でも培養細胞と同様に抗腫瘍活性を示すかどうかを検討するために、ヒト膵臓がん細胞を移植したマウスを用いた **miR-486-3p** 核酸投与実験を行った。核酸の DDS には東京大学片岡教授が開発した、腫瘍特異的な薬剤のデリバリーを可能とする PIC (Polyion Complex) ミセルを使用した。その結果、**miR-486-3p** の投与により膵臓がん腫瘍の増殖が抑制された。また、この実験では原発巣腫瘍の増殖だけでなく、遠隔臓器への転移や腹膜播種も抑制された。

さらに、**miR-486-3p** の標的遺伝子解析より、サイクリン D2, サイクリン D3, CDK6 とい

う細胞周期制御因子が **miR-486-3p** によって直接抑制されることが明らかとなった。以上から、**miR-486-3p** は老化を誘導する抗がん剤として膵臓がん治療に貢献できることが示された。

膵臓がんにおける **miR-486-5p** の役割を明らかにするために、**miR-486-5p** をノックダウンした膵臓がん細胞を樹立し、膵臓がんの性状に影響がみられるかどうかを評価した。その結果、**miR-486-5p** をノックダウンした膵臓がん細胞では浸潤能や遊走能が低下していることが明らかとなった。

培養細胞を用いた実験の結果から、**miR-486-5p** は膵がんの転移能に関与している可能性が示唆されたため、**miR-486-5p** ノックダウン細胞をマウスの膵臓に同所移植し、がん転移能に影響が見られるかどうかを評価した。その結果、**miR-486-5p** ノックダウン細胞では遠隔臓器への転移が抑制された。以上から、**miR-486-5p** は膵臓がん細胞の転移能に関与しており、この機能を抑制することでがん転移を抑制できることが明らかとなった。

以上に述べた通り、**miR-486** は核酸医薬品として膵臓がん治療へ大きく貢献できることが示唆された。本研究で得られた知見は、**miRNA** を核酸医薬品として臨床応用していく上で重要な意義をもつと考えられる。