

【産業技術】ライフサイエンス

## 癌と密接な関係のあるマイクロ RNA (米国)

癌の遺伝学を刷新する重要な発見

癌の理解と診断において新たな歴史を開く可能性のある発見がなされ、ハワード・ヒューズ医学研究所 (HHMI) の研究者達は小さなマイクロ RNA が、ある種の癌発症に至る新しい遺伝的経路をもたらすことを立証した。

HHMI の研究者達は、研究成果をそれぞれ独立した研究論文として、Nature 誌 2005 年 6 月 9 日号で発表した。各研究成果は癌細胞のマイクロ RNA (miRNA) 発現の特徴的なパターンを使った癌診断の可能性を示している、と報告するのは HHMI 研究員トッド・R・ゴラブ氏である。同氏はダナ・ファーマー癌研究所とマサチューセッツ工科大学 (MIT) / ハーバード大学のブロード研究所に所属している。

ゴラブ氏と、MIT の HHMI 研究員である共同著者 H・ロバート・ホルヴィツ、タイラー・ジャックス両氏は、miRNA 発現プロファイルでヒト癌の分類と、正常細胞と癌化細胞識別の双方が可能であると実証した<sup>(注1)</sup>。この新しい研究は、miRNA 発現プロファイルによって、外見では識別できない癌化細胞も見分けることができることを示している。

Nature 誌に掲載された第 2 の研究論文では、グレゴリ・ハノン、スコット・ロウ両氏らが、miRNA の特定クラスターによってリンパ種が引き起こされることを、マウス実験で実証した<sup>(注2)</sup>。ハノン、ロウ両氏は最近、コールド・スプリング・ハーバー国立研究所の HHMI 研究員に指名されている。両氏は一連の新発見から、癌を引き起こす遺伝子を癌遺伝子と呼ぶように、癌を引き起こす miRNA を「癌マイクロ RNA (oncogenic micro RNA)」、あるいは「oncomiR」と名付けようという提案に同意する、と述べている。論文指導者のノース・カロライナ大学チャペルヒル校スコット・ハモンド氏と、スローン・ケタリン記念癌センターのカルロス・コルドン-カルド氏も研究に参加している。

Nature 誌に掲載された第 3 の研究論文は、ジョンズ・ホプキンス大学医学部ジョシュア・メンデル氏らによるもので、ヒト癌を引き起こす癌遺伝子に協力する miRNA の存在を報告している<sup>(注3)</sup>。

「一般的な癌で発現する特定 miRNA を明らかにし、癌増殖や癌遺伝子への miRNA の影響を詳しく調べたこの 3 研究によって、癌遺伝学の情勢は変わる」と、米国立ヒトゲノム研究所ポール・メルツァー氏は Nature 誌同号の News & Views で解説している。

長さにしてたった2ダースほどのヌクレオチドで出来ている miRNA が、広範囲に渡る生理学的プロセスや発生過程を制御していると考えられている。しかし、既に 200 以上の miRNA の存在が明らかになっているが、機能についてはほんの少数についてしか明らかになっていないため、miRNA の制御的役割の大部分は謎のままである。細胞タンパク質をコードする大きなメッセンジャーRNA (mRNA) 分子とは異なり、小さな miRNA は mRNA に干渉することで遺伝子活動を制御する。

ホルヴィツ氏によると、彼らの研究は発生生物学からアイデアを得たという。「線虫 *C. elegans* で miRNA が特定の細胞分裂を制御することを発見した時から、私は miRNA とヒト癌には関係があるだろうと推測していた。私達はこの共同研究で、miRNA 発現パターンと癌の間には、顕著な相関関係があることを立証し、miRNA 発現パターンが癌診断と治療に役立つ可能性を提示した」と、ホルヴィツ氏。

ゴラブ氏は、癌の中で各 miRNA のスイッチがオン/オフになることは示唆されていたが、「miRNA 発現プロファイルに対する広い視野がこの研究以前には、あまり無かった。まず問題となるのが、そもそも何か面白いものが発見できるのだろうか？ということだった。私達は、miRNA が胚発生で重要な役割を果たすことから、癌とも関連があるのではないかと疑った」と語った。

miRNA はサイズが小さいため、遺伝子活動を分析する従来のマイクロアレイ法を使用することが困難であることに、ゴラブ氏は言及した。マイクロアレイ分析では、大量の DNA 遺伝子が小さなスライドガラスに配置されている。遺伝子活動を分析する細胞から単離した mRNA に蛍光タグを付け、そのスライドガラス上に混ぜ合わせる。RNA 分子はスライドガラス上の相補的な DNA と結合する。蛍光発光から測定した mRNA の量が遺伝子活動を示している。しかし、miRNA でこのような大量遺伝子発現解析を行うことは不可能に近い。というのも、miRNA の配列は短いため、類似した塩基配列同士で相補結合してしまうクロスハイブリダイゼーションが起こりやすい為である、とゴラブ氏は説明している。

そこで、ゴラブ氏らは、miRNA 発現を分析するために、ビーズを使った迅速・安価・正確な方法を考え出した。この方法では、発現量を調べたい miRNA に相補的な DNA 配列をそれぞれ色分けしたプラスチックのビーズに付着させたものを使用する。ビーズは 100 色に色分けすることが可能で、多種の miRNA 発現量を分析できる。

ホルヴィツ氏らは自らで開発した技法を使って、対象となる細胞から抽出した miRNA を増幅し、ビーズで着色した。細胞分離法を活用して、ビーズの色によって各 miRNA の特性を判定し、各ビーズの着色度合いによって miRNA の存在度を判定した。

この新しい技法を使った研究は、miRNA 発現パターンだけで、多種多様なヒト癌細胞を識別す

ることが可能であることを明らかにした。また、miRNA 発現パターンで遺伝的原因が異なる急性リンパ性白血病の特殊型を区別することもできた。

「これらの発見は、驚きでもあるし、興味深いものでもあった。というのも、標準的なマイクロアレイ分析で mRNA を分析する場合には、それぞれの問いに対して全く異なる mRNA を使用しなくては有益な情報を得ることができない。癌の特性を示す普遍的な指標となる 200 種類もの mRNA を明らかにするためには、多大な労力が必要となり、現実的ではないからである」とゴラブ氏。

更に、顕微鏡下では外見上大変似通っているため、診断するのが特に困難な癌で新しい技法が試された。一連の研究で、このような癌をかなりの精度で識別可能であることが判明している。腫瘍では miRNA の大部分が抑制されているため、この技法で腫瘍と正常細胞を区別することも可能であった。

ジャックス氏との共同研究では、肺癌に罹患した変異マウスから採取した腫瘍と正常細胞を区別するために、この技法がどれ程効果的であるのか試験した。「私達の関心は、先の研究成果が人為的な影響による結果である可能性があることに向けられていた。腫瘍と正常細胞が別個体から採取されたものだからである」が、今回の動物実験では、この技法で癌細胞と正常細胞を区別できることが確認されている、とゴラブ氏は話していた。さらに、マウス実験では、同じ miRNA 検出システムがマウスにもヒトにも適用でき、比較研究が可能であることが実証されている、と同氏は述べた。

ゴラブ氏によれば、癌に見られる特徴的な miRNA 発現プロファイルが、果たして、miRNA が癌の原因であることを示しているのか、ただ関連があるだけなのかということが重要な生物学的疑問であると言う。

しかし、Nature 誌掲載論文で、ハノン、ロウ、ハモンド各氏らは、miRNA の特定クラスターが血液癌である B リンパ腫の発症原因となる役割を明らかにしている。mir-17-92 と呼ばれる miRNA クラスターの遺伝子発現について、正常なヒト細胞と組織を B リンパ腫患者のものと比較した。他の研究者が行った先行研究では、この miRNA クラスターを含む遺伝子座が数タイプのリンパ腫では増幅されていることが判明している。

ハモンド氏が最近独自に開発したマイクロアレイ技法を使って、miRNA 遺伝子クラスターの活動が、腫瘍では大幅に増加していることが明らかになった。

次に、共同筆者であるコールド・スプリング・ハーバー研究所スコット・パワーズ氏と共に、ハノン氏らは mir-17-92 の遺伝子発現について、リンパ腫と結腸直腸癌のヒト腫瘍サンプルを分析し

た。miRNA 遺伝子の過剰発現は、リンパ腫サンプルでは見られたが、結腸直腸癌サンプルではそれ程でもないという結果になった。「この結果から、私達は癌発症と臨床的に関連のあるものを調べていることを確信した」とハノン氏。

最後に、miRNA クラスターの過剰発現の影響を、腫瘍遺伝子 c-myc を持つマウス   ロウ氏らがよく使用するマウスモデルで試験した。

「c-myc マウスは通常、腫瘍を形成するものであるが、このマウスの mir-17-92 遺伝子座の過剰発現が腫瘍の形成をはるかに速くし、より一層の悪性を示し、マウスはすぐに死に至ることが判明した」とハノン氏は述べた。具体的には、mir-17-92 が過剰発現すると、アポトーシスと呼ばれる自然な細胞死が減少するようである、とハノン氏は説明した。アポトーシスは腫瘍を抑制する傾向がある。

癌研究の主要な焦点は、これまでタンパク質をコード化する遺伝子に向けられてきたが、「これからは、腫瘍に関与する遺伝子変異等を考える場合には、少なくとも miRNA の非コード化遺伝子も考慮に入れる必要がある」と、ハモンド氏は述べ、そのような考慮が癌治療法だけでなく癌の分類・診断方法にも影響するだろう、とも付け加えた。

miRNA が癌や、癌での発現量に影響するメカニズムに関しては、重要な疑問が残っている、とハノン氏は言う。「今回の研究成果は、癌における miRNA が果たす役割の最終的な解答では決してない。しかし、miRNA が腫瘍遺伝子として作用する可能性を生物学的実験で実証できる、最初の明確なリンクなのである」と、ハノン氏。

ガン発症の中心的役割を果たす miRNA を、イェール大学フランク・スラック氏は「癌マイクロ RNA (oncogenic micro RNA)」、あるいは「oncomiR」と名付け、mir-17-92 を oncomiR-1 とすることを提案している。ハノン氏はその提案を支持すると話している。

以上

翻訳：御原 幸子

注 1 ) [http://www.broad.mit.edu/cgi-bin/news/display\\_news.cgi?id=138](http://www.broad.mit.edu/cgi-bin/news/display_news.cgi?id=138) を参照。

注 2 ) [http://www.cshl.edu/public/releases/small\\_RNA.html](http://www.cshl.edu/public/releases/small_RNA.html) を参照。

注 3 ) [http://www.hopkinsmedicine.org/Press\\_releases/2005/06\\_08a\\_05.html](http://www.hopkinsmedicine.org/Press_releases/2005/06_08a_05.html) を参照。

( 出典 : <http://www.hhmi.org/news/golub.html>

Copyright 2005, Howard Hughes Medical Institute. All rights reserved. Used with Permission.)