

論 文 内 容 要 旨

題目 A novel long non-coding RNA from the *HOXA6-HOXA5* locus facilitates colon cancer cell growth

(*HOXA6-HOXA5* 遺伝子座の新規長鎖ノンコーディング RNA は大腸癌細胞の増殖を促進する)

著者 Saki Saijo, Yuki Kuwano, Shoichiro Tange, Kazuhito Rokutan, Kensei Nishida

平成 31 年 1 月 Molecular Cancer に投稿済

内容要旨

HOXA5 タンパク質は、胚発生過程の体軸形成を制御する HOX ファミリータンパク質の一つである。下流にある多くの転写因子の活性化を制御して、細胞の増殖と分化を制御するため、HOXA5 の発現異常と発癌との関連が示唆されている。しかしながら、HOXA5 は口腔および食道の扁平上皮細胞癌や急性骨髄性白血病細胞では発現が亢進し、逆に、大腸癌や乳癌ではその発現は低下しているなど、その詳細な機構は明らかでない。本研究では、*HOXA5* 遺伝子領域から転写される新規 RNA を同定し、その機能を解析した。

大腸がん細胞株 HCT116 を用いて、*HOXA5* mRNA の 3'UTR を標的に HOXA5 をノックダウンすると増殖は低下した。しかし、この細胞に HOXA5 タンパク質を過剰発現させても全く増殖能は回復しなかった。HOXA5 タンパク質非依存的な細胞増殖制御機構の存在を想定し、ターゲットキャプチャー次世代シーケンズ法ならびに 5'/3'-RACE 法を用いて、*HOXA5* の 3' UTR を含むバリエーションの探索した結果、1,689 塩基長 (*HOXA5* short RNA)、4,823 塩基長 (*HOXA5* long 1 RNA)、及び、4,676 塩基長 (*HOXA5* long 2 RNA) の 3 つの新規 RNA を同定した。これら 3 つの RNA のいずれをノックダウンしても HOXA5 タンパク質は減少しないこと、*HOXA5* long 1 と 2 の RNA をノックダウンしても細胞増殖は変化しないが *HOXA5* short RNA を選択的にノックダウンすると細胞増殖は有意に低下することを見出した。*in vitro* transcription/translation アッセイ法により *HOXA5* short RNA はタンパク質に翻訳されないことも確認した。*HOXA5* short RNA を安定過剰発現した大腸がん細胞株 (HCT116、DLD1、HT-29) は増殖能と遊走能が亢進し、*HOXA5* short RNA 安定過剰発現細胞をヌードマウスの皮下に移植すると、

様式 (8)

コントロール細胞と比較して腫瘍形成が有意に促進した。これらの機序を明らかにするため、*HOXA5* short RNA のノックダウン及び過剰発現細胞の遺伝子発現解析を行うと、*HOXA5* short RNA 安定過剰発現細胞は、Epidermal Growth Factor (EGF) シグナル関連遺伝子の発現を亢進しており、実際に、培養細胞及び形成腫瘍においても EGF 受容体の発現とリン酸化が増強されていた。また、ヒト肺がん細胞株 A549 はヒト正常肺細胞株 BEAS-2B と比較して *HOXA5* short RNA を高発現していること、ヒト大腸癌では進行癌において *HOXA5* short RNA の発現が亢進することも確認した。

以上の結果より、*HOXA5* short RNA は、EGF 受容体の活性化を介して大腸がんの悪性を制御する新たな機能性 long non-coding RNA である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1412 号	氏名	西條 早希
審査委員	主査 片桐 豊雅 副査 常山 幸一 副査 米村 重信		

題目 A novel long non-coding RNA from the *HOXA6-HOXA5* locus facilitates colon cancer cell growth

(*HOXA6-HOXA5* 遺伝子座の新規長鎖ノンコーディング RNA は大腸癌細胞の増殖を促進する)

著者 Saki Saijo, Yuki Kuwano, Shoichiro Tange, Kazuhito Rokutan, Kensei Nishida

平成 31 年 Molecular Cancer に投稿済
(主任教授 勢井 宏義)

要旨 HOXA5 タンパク質は、胚発生過程の体軸形成を制御する HOX ファミリータンパク質の一つである。下流にある多くの転写因子の活性化を制御して、細胞の増殖と分化を制御するため、HOXA5 の発現異常と発がんとの関連が示唆されている。しかしながら、HOXA5 は口腔および食道の扁平上皮がんや急性骨髄性白血病細胞では発現が亢進し、逆に、大腸がんや乳がんではその発現は低下しているなど、その詳細な機構は明らかでない。申請者は、*HOXA5* 遺伝子領域から転写される新規 RNA を同定し、その機能を解析している。得られた結果は以下の通りである。

1. 大腸がん細胞株 HCT116 を用いて、*HOXA5* mRNA の 3'UTR を標的に *HOXA5* をノックダウンすると増殖は低下した。しかし、この細胞に *HOXA5* タンパク質を過剰発現させても全く増殖能

は回復しなかった。

2. ターゲットキャプチャー次世代シーケンス法ならびに 5'/3'-RACE 法を用いて、*HOXA6-HOXA5* 遺伝子座から転写される 3つの新規 RNA を同定した。
3. 2で同定した新規 RNA のうち、最も短い RNA (*HOXA5* short RNA) をノックダウンしたときのみ、細胞増殖が有意に低下した。
4. *HOXA5* short RNA は、タンパク質に翻訳されなかった。
5. *HOXA5* short RNA を安定過剰発現した細胞では、細胞増殖能および遊走能が亢進した。
6. *HOXA5* short RNA を安定過剰発現した細胞をヌードマウスの皮下に移植すると、コントロール細胞と比較して腫瘍形成能が亢進した。
7. *HOXA5* short RNA は、epidermal growth factor (EGF) シグナルに関連する遺伝子群を活性化した。また、*HOXA5* short RNA は、安定過剰発現細胞および、ヌードマウスに皮下移植し形成された腫瘍において、EGF 受容体の発現を亢進し、そのリン酸化を増強した。

以上の結果から、*HOXA6-HOXA5* 遺伝子座から転写される *HOXA5* short RNA は、EGF シグナルの活性化を介して、大腸がん細胞の増殖および遊走能を促進する可能性を初めて明らかにした。

本研究で同定した *HOXA5* short RNA は、EGF シグナルの活性化能を有する oncogenic long non-coding RNA として機能し、新たな大腸がん悪性形質獲得機構の可能性を示したものであり、臨床的にも重要な発見であることから学位授与に値すると判定した。