

184 乳がんの再発に関与する長鎖ncRNAの機能解析	山本 雄介
-----------------------------	-------

**【目的】** 乳がんは早期発見をすることによって、五年生存率が90%を越えるため、予後の良いがんではあるものの、治療後の再発や遠隔転移は大きな問題である。近年、タンパク質をコードしないRNA、つまり non-coding RNA が細胞中に多数発現しており、様々な生命現象に関与していることが明らかになってきている。これまでに、発がんや腫瘍の抑制に関与するマイクロRNA (miRNA) や long-non-coding RNA (lncRNA) が報告されてきた。そこで、我々はがんの再発に関わる lncRNA が存在すると仮定し、それらの探索および機能解析を目的として研究を開始した。

**【方法】** 乳がんの再発に寄与する lncRNA を同定するために、再発群と非再発群のルミナル型の原発腫瘍の臨床検体を用いて遺伝子発現マイクロアレイ解析を実施した。臨床検体および乳がん細胞株で発現の確認が取れた lncRNA を乳がんの再発に関わる lncRNA とし、その発現制御、ならびに強制発現による機能解析を実施した。

**【結果】** 再発群と非再発群の原発腫瘍の比較において 52 種類の lncRNA が有意に発現変化していた。定量的 PCR により LINC00922、NR2F1-AS1 と SOX9-AS1 の 3 つの lncRNA を候補因子として選択した。乳がん細胞株を用いた発現制御解析から候補 lncRNA とエストロゲン受容体やプロゲステロン受容体の発現が逆相関していることが明らかになった。臨床検体解析からも NR2F1-AS1 がエストロゲン受容体と弱い逆相関があり、また NR2F1-AS1 はプロゲステロン受容体の発現と弱い逆相関が認められた。次に乳がん細胞株においてエストロゲン受容体とプロゲステロン受容体に対する siRNA とエストロゲン受容体の阻害剤タモキシフェン添加による NR2F1-AS1 の発現量の変化を定量的 PCR で検証したところ、その発現が上昇していることが確認された。抑制効果が NR2F1-AS1 のプロモーター領域へのホルモン受容体の直接の結合によるものかをクロマチン免疫沈降法で検証した結果からも、NR2F1-AS1 はルミナル型の乳がん細胞においてエストロゲン受容体とプロゲステロン受容体によって発現が抑制的に制御されていることが結論付けられた。これらの研究成果より同定された lncRNA が乳がんの再発した原発腫瘍で発現が亢進していることから予後予測をするうえでのバイオマーカーとして使用可能であること、NR2F1-AS1 はエストロゲン受容体やプロゲステロン受容体によってその発現が抑制され、発現が通常ルミナル型の乳がんにおいては発現が低いこと、さらに高発現させることでがん幹細胞性を誘導することから薬剤耐性や転移能の獲得などの悪性度と関連していたことが示された。さらに、NR2F1-AS1 を強制発現することで細胞の増殖が止まり、幹細胞のマーカーとなる遺伝子の発現や細胞の休眠に関わる遺伝子の発現ならびに遺伝子経路が活性化していることを確認した。つまり、これらの結果から、NR2F1-AS1 ががん細胞の休眠に関与し、その後の再発にも関与していることが実験的に示唆された。

乳がん細胞の抗がん剤耐性、転移、再発に関する Long-non-coding RNA の探索

