

**【目的】**我々は TGF-β で誘導され上皮間葉転換 (EMT) に関与する新規長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) として *ELIT-1* (EMT-promoting lncRNA induced by TGF-β) を見出した。*ELIT-1* は TGF-β 刺激に反応する多種の細胞株で誘導された。*ELIT-1* 遺伝子上流に Smad 結合配列があり、TGF-β-Smad 経路を介して *ELIT-1* は転写誘導された。*ELIT-1* の機能においては、*ELIT-1* は TGF-β-Smad 経路による *Snail*, *N-cadherin*, *vimentin*, 等の EMT 関連遺伝子の転写を促進し、EMT を正に制御していることが示唆された。*ELIT-1* は標的遺伝子のプロモーターへの Smad3 のリクルートを促進することにより *Smad3* の遺伝子発現を助ける lncRNA であることが示唆された。一般に転写活性な遺伝子上ではヒストンのメチル化修飾の変動によりクロマチン構造の弛緩が誘導されるが、このエピゲノム制御の遺伝子特異性のメカニズムは不明である。我々は *ELIT-1* がエピゲノム因子と結合して、TGF-β-Smad3 経路の標的遺伝子のエピゲノム制御を担っていると考え、本研究でそれを検証する。

**【方法】** 1. *ELIT-1* の標的遺伝子の解析はマイクロアレイによって行った。 2. *ELIT-1* との相互作用の解析を RIP アッセイによって行った。 3. *ELIT-1* の標的遺伝子の転写誘導機構の解析をレポーターアッセイおよび ChIP アッセイによって行った。 4. *ELIT-1* と結合するヒストン脱メチル化酵素の解析を RIP アッセイによって行った。

**【結果】** 1. *ELIT-1* の標的遺伝子の解析：マイクロアレイにより発現遺伝子解析を行い、ジーンオントロジー解析を行ったところ、*ELIT-1* の標的経路の多くは TGF-β の標的経路であることが判明し、*ELIT-1* は TGF-β 経路の正の調節因子であることが示された。 2. RIP アッセイによる *ELIT-1* と Smad の相互作用の解析：RIP-qPCR 解析により、TGF-β 刺激により *ELIT-1* は選択的に Smad3 と結合することが示唆された。 3. *ELIT-1* の標的遺伝子の転写誘導機構の解析：Smad 結合配列を持つレポーター活性は TGF-β 刺激により上昇し、*ELIT-1* のノックダウンで抑制された。標的遺伝子上流領域に対する TGF-β 依存的な Smad3 の結合は *ELIT-1* のノックダウンにより抑制された。*ELIT-1* は TGF-β 依存的に Smad3 と結合し、Smad3 の標的遺伝子プロモーターへのリクルートを促進し、遺伝子発現を活性化して EMT の誘導に機能することが判明した。 4. *ELIT-1* と結合するヒストン脱メチル化酵素の解析：RIP アッセイによって *ELIT-1* とヒストン脱メチル化酵素 (HDM) の結合を見出した。*ELIT-1* が HDM と結合して TGF-β-Smad3 経路の標的遺伝子特異的なエピゲノム制御を担っている可能性が示唆された。

TGF-β-Smad3-*ELIT-1* axis とヒストン脱メチル化酵素のリンクの可能性

