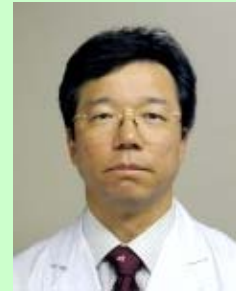


## 包括的トランスクリプトーム解析による新たな ゲノム医学、創薬研究

New genome medicine and drug discovery based on  
the comprehensive transcriptome analysis



辻本 豪三 (TSUJIMOTO GOZOH)

京都大学・大学院薬学研究科・教授

### 研究の概要

タンパク質をコードしない RNA (non-protein-coding RNA; ncRNA) を含めた包括的トランスクリプトーム解析が生命現象の理解に求められている。ncRNA を含む包括的トランスクリプトーム解析用マイクロアレイ DNA チップを開発し、がんをはじめとした疾患研究に応用し新たな疾患関連機能 RNA 群の同定ならびに疾患病態分子機構の解明を目指したゲノム医学、創薬研究を行う。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：生物系薬学

キーワード：薬理学

### 1. 研究開始当初の背景

転写産物の総体 (トランスクリプトーム) には従来考えられていたよりも複雑多様な転写物が存在し、それら転写物が生物学的機能を有している可能性があり、中でも機能調節には蛋白質をコードしない RNA (non-protein-coding RNA; ncRNA) の関与が特に注目されてきている。バイオインフォマティクス解析により ncRNA はヒト、マウスで数千から一万以上存在することが示唆されつつあり、「遺伝子の機能は蛋白質により担われる」という従来の生命現象の理解の見直しを求められつつある。生命現象をこのような視点から捉え直す必要があるとともに、この ncRNA を含む包括的トランスクリプトーム解析研究は疾病の分子メカニズムや医薬品の作用機構に新たな次元の理解を導くことが予測されている。

### 2. 研究の目的

バイオインフォマティクスにより生物学的に機能が予測される ncRNA に cRNA を含めた包括的トランスクリプトーム解析用マイクロアレイ DNA チップを用い、がんや薬物の作用機構の解析研究を行い、疾患・治療関連機能 RNA (群) を抽出するとともに、その生

物学的意義を検証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 包括的トランスクリプトーム解析マイクロアレイ DNA チップの開発、作製を行うとともに、抽出同定される cRNA/ncRNA 群の機能検証する方法論の確立を行う。  
(2) 各種ヒト食道がん細胞や高血圧動物モデル、

更に乳がんのハーセプチン治療の responder, non-responder の薬理ゲノミクス解析を行い、これらの疾患の新たな疾患関連機能 RNA 群の同定、疾患病態分子機構の解明を行う。

### 4. これまでの成果

包括的 RNA の中でも最近、遺伝子発現調節に関わることが明らかにされ注目されている ncRNA である microRNA に特化した研究を行って来た。

解析の為のプラットフォームならびにツール開発として、microRNA 標的遺伝子予測システムの開発、更にはそれを具体的に解析する高感度 microRNA マイクロアレイの開発を目指した基盤研究を行い、microRNA 標的遺伝子予測システムの開発に成功した。本手法は

特許申請を行い、本研究内で大いに活用されている。更に、その情報を元に包括的トランスクリプトーム解析用チップのプロトタイプを設計、作製した。また、具体的な実験に使用する標準プロトコールを作成し、更に自動的に解析するスキャナーなどの開発を企業と共同で行った。

これらの解析プラットフォームの確立の後、microRNA の機能探索の為に各種細胞分化に関与する microRNA の探索ならびに解析を、がん研究の応用として乳がんの分子標的医薬の応答性に関して包括的トランスクリプトーム解析を進めた。

細胞分化モデルでは、特に初めて上皮分化に関与する microRNA を同定できた。多くのがんで上皮の細胞極性の喪失が知られており、本研究中にがん microRNA との関連も多数報告されている。同定した microRNA は上皮形成の促進、維持に関与すると思われる、がんの新たな治療法の開発につながることを期待している。

乳がんの分子標的医薬の応答性に関する解析ではまず臨床検体からの解析プロトコールの開発を行った。サンプルが微小かつパラフィン包埋と困難な条件であったが、microRNA ならびに mRNA の RNA 抽出からアレイ解析までの標準プロトコールを確立に成功した。特に microRNA に関しては高い再現性を得られている。現在、乳がんの臨床標本を使用しトランスクリプトーム解析を進めている。また本法の食道がんの臨床検体への応用も進めている。

## 5. 今後の計画

臨床サンプルからのトランスクリプトーム解析法が確立したことから、特にがんにおける microRNA の機能解析を進めて行く予定である。具体的にはハーセプチン(乳がん)、シスプラチン(食道がん)感受性に関与する microRNA の同定ならびにトランスクリプトームを進めて行く予定である。特に、食道がんは上皮分化の異常とも関連が深く、既にある情報を元に深化し期間内に目標を達成する。

## 6. これまでの発表論文等 (主要論文)

1) Ichimura, A., Ruike, Y., Terasawa, K., Shimizu, K., Tsujimoto, G., miR-34a inhibits cell proliferation by repressing MEK1 during megakaryocytic differentiation of K562. *Mol Pharmacol.*, in press, 2010.

2) Ruike, Y., Imanaka, Y., Sato, F., Shimizu, K., Tsujimoto, G., Genome-wide analysis of aberrant methylation in human breast cancer cells using methyl-DNA immunoprecipitation combined with high-throughput sequencing. *BMC Genomics*. 11: 137, 2010.

3) Tsuchiya, S., Oku, M., Imanaka, Y., Kunimoto, R., Okuno, Y., Terasawa, K., Sato, F., Tsujimoto, G., Shimizu, K., MicroRNA-338-3p and microRNA-451 contribute to the formation of basolateral polarity in epithelial cells. *Nucleic Acids Research*. 37: 3821-7, 2009.

4) Sato, F., Tsuchiya, S., Terasawa, K., Tsujimoto, G., Intra-Platform Repeatability and Inter-Platform comparability of MicroRNA microarray technology. *PLoS One*. 4: e5540, 2009.

5) Terasawa, K., Ichimura, A., Sato, F., Shimizu, K., Tsujimoto, G., Sustained activation of ERK1/2 by NGF induces microRNA-221 and 222 in PC12 cells. *FEBS J*. 276: 3269-76, 2009.

6) Feng, C., Araki, M., Kunimoto, R., Tamon, A., Makiguchi, H., Nijima, S., Tsujimoto, G., Okuno, Y., GEM-TREND: a web tool for gene expression data mining toward relevant network discovery. *BMC Genomics*. 10: 411, 2009.

7) Ruike, Y., Ichimura, A., Tsuchiya, S., Shimizu, K., Kunimoto, R., Okuno, Y., Tsujimoto, G., Global correlation analysis for micro-RNA and mRNA expression profiles in human cell lines. *J Hum Genet*. 53: 515-523, 2008.

ホームページ等

<http://gdds.pharm.kyoto-u.ac.jp/>