

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 4 年 4 月 12 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立大学法人群馬大学  
職 名 教授  
研究代表者 井上裕介

下記のとおり令和3年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 20009 )

1. 共同研究課題名	非アルコール性脂肪性肝炎と肝細胞癌に関与する miR-194/192 の標的遺伝子の同定			
2. 共同研究目的	アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を発症する。HNF4 $\alpha$ が直接制御する miR-194-5p と miR-192-5p(miR-194/192)はがん化やがんの進展、EMT、エピゲノム制御に関与する標的遺伝子が同定されているため、miR-194/192 は NASH や肝細胞がんの抑制因子であることが推測される。本研究では、網羅的な miR-194/192 の標的遺伝子の同定と機能解析を目的とし、新規の NASH や肝細胞がんの治療薬開発の基盤とする。			
3. 共同研究期間	令和3年 4月 1日 ~ 令和4年 3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 井上 裕介	大学院理工学府分子科学部門	教授	研究の総括	
(分担研究者) 笠野 一郎	大学院理工学府理工学専攻 博士後期課程	大学院生	miR-194/192 の標的遺伝子の同定	
齋藤 義文	大学院理工学府理工学専攻 博士前期課程	大学院生	マウスへの AAV9 ベクターの導入と解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	分子糖代謝制御分野	氏 名	藤谷 与士夫

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

## 6. 共同研究計画

肝臓における遺伝子発現は HNF4 $\alpha$ 等の転写因子を起点として複雑に制御されている。我々は肝臓特異的HNF4 $\alpha$ 欠損マウス(KOマウス)が非アルコール性脂肪肝炎(NASH)を発症することを明らかにしている。また、HNF4 $\alpha$ は肝細胞がん(HCC)の抑制遺伝子であるため、KOマウスのNASH発症の際はHNF4 $\alpha$ 標的遺伝子の発現変動により、HCCに進行すると予想される。我々はHNF4 $\alpha$ の標的遺伝子として同一プロモーターで制御されるmiR-194とmiR-192(以下、miR-194/192)とその標的遺伝子を複数同定している。これらの標的遺伝子には増殖やEMTを促進する遺伝子が多く含まれるため、HNF4 $\alpha$ の発現低下はmiR-194/192の発現減少を介してその標的遺伝子を発現増加させ、HCCの形成や進行を引き起こすと推測される。しかし、1つのmiRNAは多くの標的遺伝子が存在するため、miR-194/192経路の全容解明にはmiR-194/192の標的遺伝子の網羅的な同定が必要である。申請者は現在までに、8種類と32種類のmiR-194とmiR-192の標的遺伝子候補をスクリーニングしている。

本研究では、肝臓におけるmiR-194/192の新規標的遺伝子の同定とその機能解析を行い、NASHやHCC発症に寄与する新規のHNF4 $\alpha$ -miR-194/192経路を解明することを目的とした。

## 7. 共同研究の成果

miR-192の新規標的遺伝子を16種類までに絞り込んだ。このうち、がんの進行に関与している遺伝子が10種類確認され、さらに、肝がんにおいて過剰に発現している遺伝子も複数確認された。これら10種類の遺伝子のうち、3'-UTR領域が比較的短く、かつmiR-192の結合配列を持つ遺伝子7種類をレポーターベクターにクローニングし、3'-UTR解析を行った。その結果、6種類の遺伝子がmiR-192の新規標的遺伝子であることが示唆された。

またmiR-194の標的遺伝子2種類について、肝がん細胞株で強制発現させた結果、細胞増殖を抑制することが明らかになった。これは予想と反する結果であったため(既知の論文でこのうちの1種類の発現を抑制すると細胞増殖が抑制された結果も踏まえて)、コロニーフォーメーションアッセイ、細胞遊走・浸潤アッセイを進行中である。また、AAV8を用いてマウス肝臓へのmiR-194の標的遺伝子の導入実験についても解析中である。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・メールにて実験計画を相談
- ・実際に生体調節研究所で実験
- ・メールにて実験結果について考察