

癌の病理診断及び治療マーカーとなるマイクロRNA
の検索

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2013-01-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 浩史, 廣野, 靖夫 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/7021

癌の病理診断及び治療マーカーとなるマイクロRNAの検索

研究代表者：伊藤 浩史（医学部・教授）

共同研究者：廣野 靖夫（医学部・助教）

概要	マイクロRNA (miRNA) は約22塩基の非常に小さい non-coding RNA で相補的な標的 mRNA の発現制御を担っており、miRNA の発現プロファイリングによって、腫瘍の診断（発生臓器、組織型、分化度など）が、cDNA マイクロアレイによる発現プロファイリング以上に正確にできることが報告されている。これまで我々は、口腔癌および食道癌などの主要な組織型である扁平上皮癌における miRNA 発現をマイクロアレイを用いて検討し、外科手術材料ホルマリン固定パラフィンブロック標本を用いて検定し、miR-205 が扁平上皮のマーカーとして極めて有力であること、miR-21 は腺癌と同様に扁平上皮癌でも正常に比べて有意に発現が亢進していることを明らかにし、miR-205 と miR-21 の発現量を検討することで扁平上皮癌の分子病理診断が可能であることを報告した。本研究では上記成果を進展させ、頭頸部扁平上皮癌の有力な予後関連因子である肝細胞増殖因子 (HGF) に着目し、培養細胞系を用いて、HGF 刺激前後でのマイクロ RNA の発現変化を検討し、HGF の機能発現に関わるマイクロ RNA の同定を試みた。その結果 Epithelial mesenchymal transition (EMT) 等ががんの浸潤転移に関わる機能遺伝子の発現を調節しているマイクロ RNA (miR-200c および miR-27b) を同定し、これらの機能を阻害することで、頭頸部癌の進展を阻害できる可能性が示唆された。
関連キーワード	マイクロRNA、病理組織診断、口腔癌、食道癌、扁平上皮癌

研究の背景

近年、様々な遺伝子変異や異常発現が、癌を含む種々の疾患で報告されている。遺伝子解析技術の進歩は病理学の分野でも日常病理診断へ応用されつつある。しかしながら、クローナリティー解析や一部の遺伝子解析を除き、分子病理診断に応用されている技法は、凍結組織から mRNA を抽出し、RT-PCR で特異的融合遺伝子を証明したり、cDNA のマイクロアレイ解析により疾患特異的な遺伝子発現パターンを解析するという方法が主体で、ホルマリン固定組織からの分子病理診断は mRNA の断片化が著しいため信頼性に乏しく、日常病理診断ではほとんど行われていない。マイクロRNA (以下 miRNA) は約22塩基の非常に小さい non-coding RNA で相補的な標的 mRNA の発現制御

を担っており、様々な疾患でその発現異常が報告されている。また miRNA の発現プロファイリングによって、腫瘍の診断（発生臓器、組織型、分化度など）が、cDNA マイクロアレイによる発現プロファイリング以上に正確にできることが報告されている。miRNA は非常に小さく安定であり、これ以上断片化されることはなく、ホルマリン固定パラフィンブロックから抽出可能である。また凍結組織と異なり、ホルマリン固定パラフィンブロックは、ルーティンの病理診断に使われており、Hematoxylin Eosin (HE) 染色標本で診断が困難な例に、追加で別の染色をするという程度で気軽に miRNA の抽出が行なえ、病理診断の現場で比較的簡単に応用可能ではないかと考えられる。

研究の目的

上記のような背景の下、本研究では、ホルマリン固定パラフィンブロックから miRNA を抽出し、疾患特異的な miRNA 発現異常、特に種々の臓器の

癌の病理診断マーカーや予後・治療の指標となるマーカー miRNA を検索し、実際にルーティンの病理診断に応用できないか検討することを目的とする。

研究の成果

昨年度までに、種々の臓器の扁平上皮癌細胞株および正常重層扁平上皮で miR-205 が最も高発現

していること、他臓器の癌と同様に miR-21 は正常扁平上皮に比べ有意に扁平上皮癌で高発現してい

ることを明らかにし、miR-205 および miR-21 が口腔癌、食道癌を含む扁平上皮癌の有力な病理診断マーカーとなりえることを報告した。

本年度は上記成果を発展させ、頭頸部扁平上皮癌の有力な予後関連因子である肝細胞増殖因子 (HGF) に着目し、培養細胞系を用いて、HGF 刺激前後でのマイクロ RNA の発現変化を検討し、HGF の機能発現に関わるマイクロ RNA の同定を試みた。その結果、頭頸部扁平上皮癌細胞株 HSC3 を HGF で刺激すると、短時間のうちにいくつかのマイクロ RNA の発現が変化することがマイクロ RNA マイクロアレイを用いた実験から明らかになった。これらのマイクロ RNA のうち Epithelial mesenchymal transition (EMT) 等がんの浸潤転移に関わる機能遺伝子の発現を調節しているマイクロ RNA (miR-200c および miR-27b) に注目し、まずこの 2 つのマイクロ RNA の HGF 刺激前後の発現を詳細に検討した (図 1 A)。ともに HGF 刺激後短時間のうちにその発現が著明に低下し、miR-200c の標的遺伝子である EMT に関わる ZEB1 遺伝子の発現増加とその下流の E-cadherin の発現低下、miR-27b の標的遺伝子である癌の浸潤や HGF の活性化に関わる ST14/matriptase の発現増加がみられた (図 1 B)。さらにウエスタンブロット法によるタンパクレベルでもこれら遺伝子産物の発現変化を確認し、HGF 刺激と同時にこれらマイクロ RNA をトランスフェクションすると、標的遺伝子の発現変化が消失することも確認した。これらの実験結果から、頭頸部扁平上皮癌では、HGF 刺激によって直接、間接的にさまざまな遺伝子発現が変化したが、その一部はマイクロ RNA の発現を調節することによって行われていることが明らかになった。したがってこれらのマイクロ RNA を投与することで、HGF 下流遺伝子の機能が阻害され、頭頸部癌の進展を阻害できる可能性が示唆された。現在、さらに miRNA マイクロアレイ解析から、同じように発現が変化したマイクロ RNA の機能解析を進めており、今後、予後・治療マーカーおよび治療薬としてのマイクロ RNA の可能性も追及していく予定である。

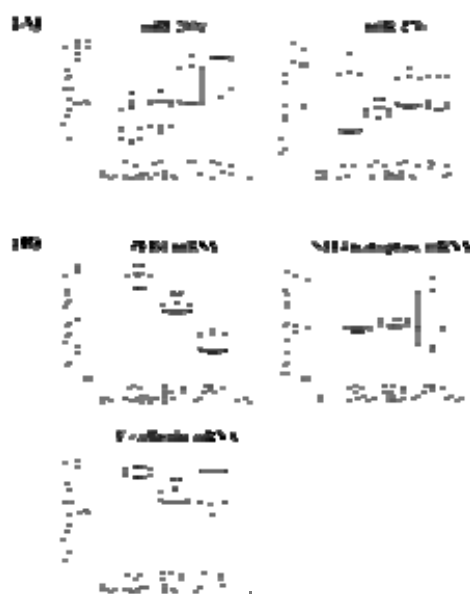


図 1 : 頭頸部扁平上皮癌細胞株における HGF 刺激によるマイクロ RNA およびその標的遺伝子発現の変化

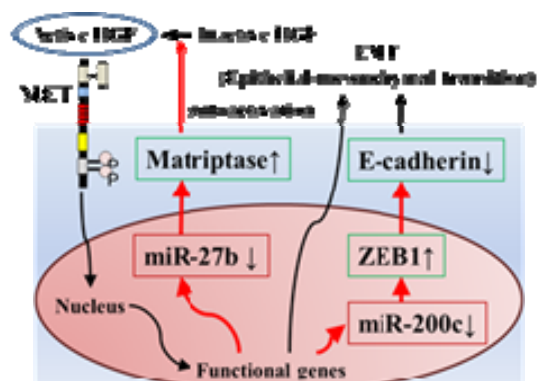


図 2 : 頭頸部扁平上皮癌における HGF 刺激によるマイクロ RNA 調節と機能発現のシエーマ

特記事項・発表論文など

「特記事項」

今回の成果は第 69 回日本癌学会総会 (Sep, 2010, 大阪) および第 32 回日本分子生物学会年会 (Dec, 2010, 神戸) で発表した。

「本研究に関わる発表論文」

1) Kimura S, Naganuma S, Susuki D, Hirono Y, Yamaguchi A, Fujieda S, Sano K, Itoh H: Expression of microRNAs in squamous cell carcinoma of human head and neck (HNSCC) and the esophagus (ESCC): miR-205 and miR-21 are

specific markers for HNSCC and ESCC. *Oncol Rep*, 23:1625-33 (2010).

2) Susuki D, Kimura S, Naganuma S, Tsuchiyama K, Kitamura N, Fujieda S, Itoh H: Regulation of microRNA expression by hepatocyte growth factor in head and neck squamous cell carcinoma. In submission