

P1-184 内膜癌におけるサイクリン AmRNA の3'非翻訳領域を介した調節

信州大

浅香亮一, 鈴木昭久, 塩沢丹里

【目的】サイクリン A は子宮内膜癌の予後不良因子であり, サイクリン A 発現の調節機構の解明は治療法開発に重要であると考えられる. mRNA 3'非翻訳領域 (3'UTR) は内在性マイクロ RNA や RNA 結合タンパクの標的であるが, サイクリン A の 3'UTR を介した調節機構は不明である. 【方法】1) 内膜癌細胞株 (Hec1B) に miR219 前駆体 (80nM) または特異的 miRNA 阻害剤 (80nM) を導入しサイクリン A 発現の変化を検討した. 2) ルシフェラーゼ遺伝子にサイクリン A 3'UTR を結合させたレポータープラスミド (pMIR-cycA) を作成した. 内膜癌細胞に pMIR-cycA と miR219 前駆体を co-transfection し, ルシフェラーゼアッセイを施行した. 3) 内膜癌細胞株に RNA 結合タンパク HuR 特異的 siRNA を導入し, サイクリン A mRNA 安定性を検討した. 4) RNA 免疫沈降法により HuR のサイクリン A mRNA への結合と, miR219 との相互作用を検討した. 【成績】1) miR219 前駆体によりサイクリン A 発現が低下し, 阻害剤により発現が亢進した. 2) miR219 によりレポーター活性が 47% 減少した. 3) HuR の siRNA によるサイレンシングによりサイクリン A mRNA の安定性が低下した. 4) HuR はサイクリン A mRNA と結合したが, miR219 前駆体により結合性が 31% 減少した. 【結論】内膜癌においてサイクリン A を標的とする内在性マイクロ RNA である miR219 を同定した. マイクロ RNA の臨床応用の際, RNA 結合タンパクとの相互作用を考慮する必要があると考えられた.

P1-185 子宮体部漿液性腺癌におけるマイクロ RNA-34b の遺伝子発現異常およびその機能の検討東北大¹, 東北大病理²廣木恵理¹, 赤平純一², 鈴木史彦¹, 永瀬 智¹, 伊藤 潔¹, 八重樫伸生¹

【目的】マイクロ RNA (miRNA) は癌遺伝子及び癌抑制遺伝子として働くことが様々な癌種で報告されている. また miR-34b は p53 の直接の標的遺伝子であると報告されている. 漿液性腺癌における miR-34b の発現異常及びその作用を明らかにすることを目的とした. 【方法】子宮内膜癌細胞 4 株と漿液性腺癌臨床検体 21 例を用いた. 本研究では当院倫理委員会の承認を得, 同意を得ている. miRNA マイクロアレイで網羅的発現解析後 miR-34b に着目し, qRT-PCR による発現量の確認を行った. p53 の免疫染色を行い miR-34b の発現量と臨床病理学的因子との関連を検討した. miR-34b の細胞導入後の細胞増殖能, 遊走能, 浸潤能, 及びカスパーゼ活性の変化につき検討した. ウェスタンブロット解析で miR-34b の標的遺伝子の一つと報告されている MET タンパクの発現について検討した. 【成績】漿液性腺癌では正常内膜組織と比較して miR-34b の発現低下が認められ ($P=0.002$), その発現低下は免疫染色による p53 の過剰発現と有意な関連を認めた ($P=0.003$). miR-34b の細胞導入により有意な増殖能 ($P<0.01$), 遊走能 ($P<0.01$), 浸潤能の抑制 ($P<0.001$), カスパーゼ活性の上昇 ($P<0.05$), 及び MET タンパクの発現低下を認めた. 【結論】子宮体部漿液性腺癌では正常内膜組織に比し miR-34b の発現低下を認め, miR-34b の細胞導入により増殖能, 遊走能, 浸潤能の抑制及びカスパーゼ活性の上昇を認めた. 漿液性腺癌において miR-34b は癌抑制遺伝子様の働きを示す可能性が示唆された.

P1-186 子宮体部漿液性腺癌におけるマイクロ RNA の役割東北大¹, 東北大病理²鈴木史彦¹, 赤平純一², 廣木恵理¹, 永瀬 智¹, 伊藤 潔¹, 笹野公伸², 八重樫伸生¹

【目的】子宮体部漿液性腺癌 (漿液性腺癌) は, 子宮体部内膜癌の中で比較的まれであるが予後不良である. また発生や進展のメカニズムは不明な点が多く, 確立された治療法がないのが現状である. 近年マイクロ RNA (miRNA) と癌との関連性が報告され, miRNA が新しい分子標的治療薬になりうるとして精力的に研究がなされている. これまでに我々は組織での miRNA マイクロアレイを用いた網羅的発現解析により癌特異的な発現減少を示す miR-101, miR-152 を見出した. 本研究では細胞株を用いてそれらの miRNA の役割を解明することを目的とし, 細胞への miRNA の影響を検討した. 【方法】miR-101 および miR-152 を漿液性腺癌細胞株 (SPAC1-L) に導入し, 導入細胞における細胞増殖性 (MTT-assay), 遊走性 (Migration-assay), 浸潤性 (Invasion-assay) および形態学的変化 (形態観察) の検討を行った. 【成績】SPAC1-L において miR-101, miR-152 の導入によって細胞増殖が有意に抑制された. 特に miR-101 での細胞増殖抑制は顕著であり, さらに著しく細胞変性が観察された. また miR-152 に関して顕著な形態学的変化は見られなかったが遊走性および浸潤性を示す細胞数が有意に抑制した. 【結論】本研究では漿液性腺癌細胞株において細胞増殖, 遊走性および浸潤性に関与する miRNA を見出すことができた. それらの miRNA は癌促進的遺伝子を標的遺伝子として制御していると示唆され, それらを同定することが今後の課題である. 以上より miRNA の発現変化が癌の増殖や進展に関与していると考えられ, 今後発生・進展のメカニズムが不明である癌本態の基本的な理解を深め, さらに将来新しい分子標的治療への応用が期待できる結果となった.