

K1-2-1 子宮体癌においてエピジェネティックに制御される miR-34b の同定とその癌抑制効果

慶應大

矢野倉恵, 阪埜浩司, 増田健太, 木須伊織, 植木有紗, 辻 浩介, 小林佑介, 山上 亘, 進 伸幸, 青木大輔, 吉村泰典

【目的】microRNA (miRNA) は non-coding RNA であり, ヒトにおいて 1000 種近く同定されている。我々は子宮体癌 (類内膜腺癌) においてエピジェネティックな異常メチル化により発現が抑制されている miRNA を同定し, その癌抑制型 miRNA としての機能を解析する。【方法】ヒト体癌由来細胞株 4 種 (SNG-II, HEC-108, HHUA, Ishikawa) を用い, 脱メチル化剤 (5-aza-dc, 100 μ M) を添加し, 120hr 後に発現が 2 倍以上増加する miRNA を Affinmetrix 社アレイにて解析した。すべての細胞株において発現が上昇した miRNA を抽出し, TaqMan PCR 法により 5-aza-dc 添加による発現の上昇を確認した。インフォームドコンセントのもとに採取した正常内膜 (n=9) と類内膜腺癌部 (n=11) における候補 miRNA の発現を TaqMan PCR 法で解析した。さらに抽出された miRNA の標的遺伝子を in silico で解析した。HEC-108 に候補 miRNA を遺伝子導入し, 標的遺伝子の発現変化, flow cytometry による細胞周期解析, colony 形成能ならびに遊走能の変化を解析した。【成績】821 種のヒト miRNA のうち, 5-aza-dc 添加により 4 種すべての体癌細胞株で発現が上昇したのは miR-34b のみであった。miR-34b は CpG アイランド内に位置し, p53 により制御されている癌抑制型 miRNA であった。臨床検体においても体癌検体で有意に発現が低下していた ($p<0.01$)。miR-34b 導入 HEC-108 では標的遺伝子である MYC や MET の発現が低下した。コロニー形成能および遊走能が有意に低下し ($p<0.05$), Glarrest の細胞割合が増加した。【結論】miR-34b は子宮体癌において異常メチル化により高頻度に発現が抑制されている癌抑制型 miRNA で, 体癌細胞の増殖, 遊走に重要な役割を果たしている。

K1-2-2 子宮体癌において DNA 過剰メチル化により発現抑制される癌抑制遺伝子型 microRNA miR-152 の同定永寿総合病院¹, 慶應大²鶴田智彦¹, 平沢 晃², 進 伸幸², 岩館怜子², 高橋峰夫¹, 青木大輔², 吉村泰典²

【目的】microRNA (miRNA) は標的分子の翻訳抑制を行い, 発癌進展過程の分子機序へ深く関与する。数種類の癌抑制遺伝子型 miRNA は癌細胞において DNA メチル化により発現抑制されることが報告されている。そこで本研究は子宮体癌において DNA メチル化により発現抑制される癌抑制遺伝子型 miRNA 及びその標的分子の同定を目的とした。【方法】327 種類の miRNA を 1 種類ずつ子宮体癌細胞株へ遺伝子導入し in vitro 細胞増殖抑制活性を認める miRNA を選出した。選出した miRNA のうち CpG island 近傍に座位する miRNA についてメチル化解析と発現解析を施行し正常子宮内膜に比して癌細胞においてメチル化を認め, 低発現である miRNA を同定した。さらに同意を得て採取した正常内膜組織と子宮体癌凍結検体 70 例で同様の検討を行った。当該 miRNA の標的分子は western blot, luciferase assay を行い同定した。また SCID マウスに子宮体癌細胞株を皮下移植し形成された腫瘍の増殖抑制が miRNA の投与によりみられるか検討した。【成績】本検討で用いた 327 種類の miRNA の中で細胞増殖抑制活性を認める miRNA は 114 種類でありうち 65 種類の miRNA は CpG island 近傍に座位し, さらに 32 種類の miRNA は癌での報告はない miRNA であった。メチル化解析と発現解析から癌細胞においてメチル化と発現抑制とに相関を認める miRNA は miR-152 であり, その標的分子として DNMT1, MET, E2F3, RICTOR を同定した。マウスに皮下移植した腫瘍の増殖抑制が miR-152 の投与により有意にみられた。【結論】子宮体癌において miR-152 は DNA メチル化により発現抑制される癌抑制遺伝子型 miRNA である。その標的分子を抑制することで腫瘍増殖抑制効果を得ることから新規癌 RNA 創薬への可能性が示唆された。

K1-2-3 子宮内膜癌幹細胞の新たな機能に関する検討

金沢大

中村充宏, 京 哲, 高倉正博, 毎田佳子, 水本泰成, 保野由紀子, 井上正樹

【目的】癌における幹細胞の存在が各癌種において報告されている。癌幹細胞の特徴として自己増殖能, 造腫瘍能そして分化能の 3 つが定義づけられている。これまでの多くの報告は自己増殖能と造腫瘍能を有することで癌幹細胞の存在を証明しているが, 分化能に関する検討はほとんどなされていない。以前我々は子宮内膜癌細胞において CD133 が幹細胞マーカーであることを報告した。その中で CD133 陽性細胞のみが陽性, 陰性細胞を生み出すことができることで分化能 (不均等分裂) を証明したが, 今回分化能に関してさらに踏み込んだ検討を行ったので報告する。【方法】臨床検体および子宮内膜癌細胞株を用いて血管内皮細胞への分化について検討を行った。【成績】患者の同意を得た上で採取された子宮内膜癌組織をマウスの皮下に接種し形成された腫瘍を病理学的に検討した。また腫瘍の周囲にマウス由来の血管とは違った血管様の組織構築が認められ血管内皮細胞マーカーである抗ヒト CD31 抗体で染色したところその組織のみに染色が認められた。そこで子宮内膜癌細胞を CD133 陽性, 陰性細胞に分離し In vitro Endothelial Tube Formation Assay にて血管内皮細胞への分化について検討を行った。その結果 CD133 陽性細胞が血管様構造を構築したのに対し, 陰性細胞では認められなかった。また血管内皮細胞に発現している VEGFR の発現を検討したところ CD133 陽性細胞での発現が亢進していた。【結論】癌細胞から血管内皮細胞への分化, そしてその分化には癌幹細胞が関与している可能性が示唆された。改めて癌幹細胞をターゲットとした治療法の開発が必要であると考えられた。