

平成 21 年 5 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591592

研究課題名（和文） 膵癌におけるマイクロ RNA の発現と機能解析

研究課題名（英文） The expression and function analysis of microRNA  
in pancreatic cancer

研究代表者

高畑 俊一（SHUNICHI TAKAHATA）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50437779

## 研究成果の概要：

microRNA は mRNA の発現を制御することにより様々な生体機能に関与する。最近、microRNA の発現異常が発癌や癌の進展に寄与することがわかってきた。そこで私達は膵癌における microRNA の発現異常に着目し、microRNA をターゲットとした新規診断法・治療法の開発を目的として研究を進めてきた。まず、膵管上皮細胞、膵癌前駆病変、浸潤性膵癌、膵癌細胞株の microRNA の発現レベルをマイクロアレイを用いて網羅的に解析することで、膵発癌や膵癌の増殖・浸潤に関わる複数の新規 microRNA を同定した。さらにその microRNA の標的 RNA を同定し、蛋白発現への影響も検証した。microRNA の発現を抑制することで標的 RNA の発現が増加し、癌の増殖・浸潤が低減できることを発見した。さらに、膵癌はしばしば抗癌剤に耐性を示し膵癌治療難治性の一因となっているが、ある microRNA の発現を抑制することで抗ガン剤耐性を低減できることを発見した。また、膵癌患者の予後や臨床病理学的所見と関連する複数の microRNA も同定しており、膵液や膵腫瘍細胞診により得られたサンプルを用いた膵がん診断・治療に応用できる可能性を示した。現在も臨床応用を視野に入れたトランスレショナルリサーチを続行中である。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：膵臓外科学

## 1. 研究開始当初の背景

microRNA は 20 数個の塩基から構成される non-coding RNA であり、およそ 600 種類以上存在するとされている。1 つのマイク

ロ RNA は数百の mRNA に結合して翻訳を抑制し、細胞の増殖、分化、細胞死に重要な役割を果たしていることが明らかになった。microRNA と発癌の関連については、一部は癌において microRNA の発現が低下し、逆に

一部は発現上昇しており、microRNA は癌抑制遺伝子或いは癌遺伝子として機能することが示唆されている。しかし、従来 microRNA 解析にはノーザンブロット等の非常に煩雑な手技が必要で、発癌における microRNA の働きは多くが未解明のままである。

## 2. 研究の目的

(1). 膵癌の浸潤・転移能、膵癌患者の予後を左右する膵癌 microRNA、膵癌の発癌に関わる microRNA を同定する。

(2). 膵液による膵癌診断への microRNA の臨床応用を検討する。

(3). microRNA を標的とした個別化治療の可能性を探る。

## 3. 研究の方法

(1). マイクロアレイを用いた膵癌細胞株の microRNA の網羅的発現解析と、リアルタイム PCR を応用した新規の定量解析法による microRNA 網羅的解析結果の検証。

(2). microdissection で得られた膵癌前癌病変である PanIN 病変、IPMN 病変に対する microRNA の発現解析。

(3). 予後の判明している膵癌患者のホルマリン包埋組織(FFPE)からの microRNA 抽出並びに解析。

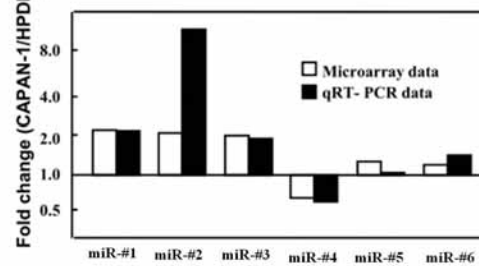
(4). 膵液の microRNA 発現解析

(5). 分子標的として有望と考えられる microRNA に対して inhibitor や precursor 分子を膵癌細胞内に導入し機能評価(増殖能・浸潤能)を行う。

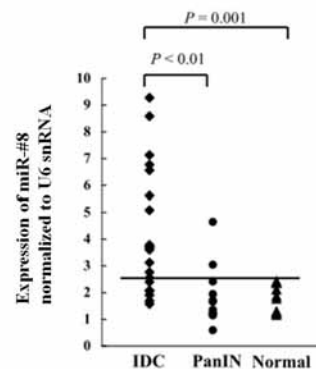
## 4. 研究成果

(1). 膵管上皮細胞株と比べ膵癌細胞株で発現が亢進、もしくは低下している複数の microRNA を同定した。また、gemcitabin 耐性膵癌細胞株、放射線耐性膵癌細胞株を作成し親株と microRNA の発現レベルを比較することで抗がん剤や放射線治療に抵抗性の原因となっている複数の microRNA を同定した。

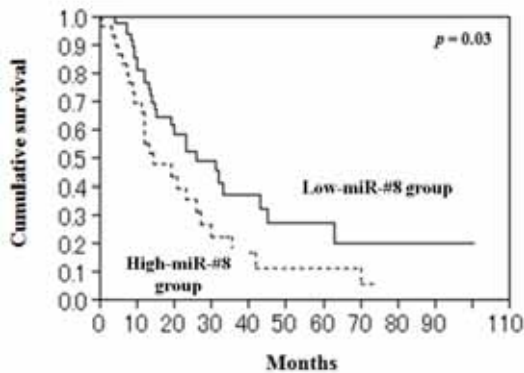
Figure 1A



(2). 正常膵管上皮細胞、膵癌前癌病変 (PanIN) と比べ、浸潤性膵癌で発現が亢進している microRNA を同定した。この microRNA に関しては正常膵管上皮細胞と膵癌前駆細胞との間の発現レベルに差を認めないため、後期発癌の過程に関与していると考えられる。

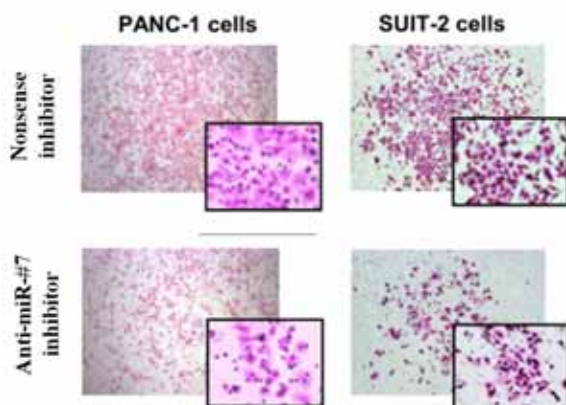


(3). 120 例の FFPE サンプルより独自のプロトコルを用いて microRNA を抽出した。microRNA はもともとサイズが小さいため分解の進んだ RNA からの解析に対する忍容性が高い。研究(1)により同定した複数の microRNA を対象として発現解析を行い、膵癌患者の予後や臨床病理学的因子と関連する microRNA を同定した。



(4). ERCP にて採取した膵液サンプルを用いて microRNA の発現定量を行った。また、サンプル数は少ないが正確に発現定量できることを確認した。内視鏡的エコー下穿刺吸引細胞診により得られた微量サンプルを用いた microRNA 解析も行い、膵癌の術前診断や、予後予測に応用できないか検討を行う予定である。

(5). 癌の増殖や浸潤に関わる複数の microRNA を同定した。またその microRNA のターゲットとなる RNA を同定し、蛋白発現への影響も検証した。siRNA の手法によりある microRNA の発現を抑制することで癌の浸潤、増殖、抗ガン剤耐性を低減できることを発見した。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

1. Taiki Moriyama, Kenoki Ohuchida, Kazuhiro Mizumoto, Jun Yu, Norihiro Sato, Toshinaga Nabae, Shunichi Takahata, Hiroki Toma, Eishi Nagai, Masao Tanaka. MicroRNA-21 modulates biologic functions of pancreatic cancer cells including their proliferation, invasion and chemoresistance. *Molecular Cancer Therapeutics* 2009 in press

[学会発表](計5件)

1. 森山大樹、大内田研宙、水元一博、余俊、佐藤典宏、当間宏樹、永井英司、田中雅夫：ヒト膵癌細胞株におけるマイクロ RNA の過剰発現 第 107 回日本外科学会定期学術集会(大阪)2007 年 4 月

2. 森山大樹、大内田研宙、水元一博、余俊、佐藤典宏、当間宏樹、永井英司、田中雅夫：ヒト膵癌細胞におけるマイクロ RNA・miR-21 の発現解析と増殖・浸潤促進作用 第 38 回日本膵臓学会(福岡)2007 年 6 月

3. 余俊、森山大樹、大内田研宙、崔林、佐藤典宏、当間宏樹、高畑俊一、永井英司、水元一博、田中雅夫：膵癌におけるマイクロ RNA-17-5p の発現解析と発現増強による増殖・浸潤促進効果 第 108 回日本外科学会(長崎)2008 年 4 月

4. Jun Yu, Taiki Moriyama, Kenoki Ohuchida, Lin Cui, Norihiro Sato, Masafumi Nakamura, Shunichi Takahata, Eishi Nagai, Kazuhiro Mizumoto, Masao Tanaka. Micro RNA (miR-17-5p) is overexpressed in pancreatic cancer, and upregulation of miR-17-5p enhanced cancer cell proliferation and invasion in vitro. *Digestive Disease Week*, May 17-22, 2008.

5. Kenoki Ohuchida, Kazuhiro Mizumoto, Taiki Moriyama, Shunichi Takahata, Hiroki Toma, Norihiro Sato, Eishi Nagai, and Masao Tanaka, *MicroRNA-10a* is Overexpressed in Human Pancreatic Cancer and Involved in its Invasiveness possibly via Suppression of the *HOXA1* gene *American Pancreatic Association* 2008

6 . 研究組織

(1)研究代表者

高畑 俊一 ( SHUNICHI TAKAHATA )  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号 : 50437779

(2)研究分担者

永井 英司 ( EISHI NAGAI )  
九州大学・大学院医学研究院・准教授  
研究者番号 : 30264021

水元 一博 ( KAZUHIRO MIZUMOTO )  
九州大学・大学病院・准教授  
研究者番号 : 90253418

大内田 研宙 ( KENOKI OHUCHIDA )  
九州大学・大学院医学研究院・特任助教  
研究者番号 : 20452708

(3)連携研究者

なし