

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670690

研究課題名(和文) 子宮体癌における発癌microRNAとその標的分子の同定

研究課題名(英文) oncomir and its target gene in endometrial carcinogenesis

研究代表者

渡利 英道 (Watarai, Hidemichi)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：10344508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：microRNA(miR)-31は子宮体癌における癌遺伝子として機能し、その作用機構として癌抑制遺伝子LATS2の発現抑制を介してhippo pathwayのkey factorであるYAPの核内移行の促進によるサイクリンD1の転写亢進に起因することが推察された。また、miR-31の発現は子宮体癌の再発リスクの高い例で有意に上昇しており、予後不良因子であることが示され、miR-31は子宮体癌の新しい予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The overexpression of microRNA-31 (miR-31) significantly promoted anchorage-independent growth in vitro and significantly increased the tumor forming potential in vivo in endometrial cancer cells. miR-31 significantly suppressed the luciferase activity of mRNA combined with the LATS2 3'-UTR and consequently promoted the translocation of YAP1, a key molecule in the Hippo pathway, into the nucleus. Meanwhile, the nuclear localization of YAP1 increased the transcription of cyclinD1. Furthermore, the expression levels of miR-31 were significantly increased in the patients (n = 27) with a high risk of recurrence compared to that observed in the low-risk patients (n = 7), and this higher expression correlated with a poor survival.

We conclude that miR-31 functions as an oncogene in endometrial cancer by repressing the hippo pathway. miR-31 is a potential new molecular marker for predicting the risk of recurrence and prognosis of endometrial cancer.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：endometrial cancer micro RNA miR-31 LATS2 hippo pathway

1. 研究開始当初の背景

近年、子宮体癌の罹患率は増加傾向にあり、子宮体癌の危険因子と考えられる肥満、糖尿病、食生活の欧米化、晩婚化、出産回数の低下、さらには高齢化などの社会的背景を考慮すると、今後もさらにその罹患率が増加することも予測されている。子宮体癌の治療に関しては手術療法が根治的な治療として選択される。また、多くの子宮体癌症例は早期癌として診断されることから比較的予後良好の癌と認識される傾向にある。実際に早期子宮体癌の多くは手術療法単独あるいは術後療法との併用により治癒に至っていることから、現在の治療戦略が奏功している患者群が多い疾患といえる。しかしながら、子宮体癌全症例数の増加に伴い、若年体癌(40歳未満)症例数も増加しており、近年の晩婚化に伴い、妊孕性(子宮)の温存を強く希望する未産婦症例を治療する機会が増加しているという現状がある。現在、妊孕性温存療法として行われているホルモン療法については、再発率が高いことが報告されており、最終的には子宮摘出をせざるを得ない症例も多く存在する。さらに、進行・再発子宮体癌の予後は不良であることから早期発見が重要であるが、有効な検診方法は現時点では確立していないといえる。

miRNAは20塩基程度のnon-coding RNAであり、標的mRNAに結合してタンパクへの翻訳を抑制する。miRNAの中には細胞内に普遍的に存在するものから組織特異的に発現するものまで様々な存在様式が認められ、細胞分化や増殖、さらに発癌に至るまで広範囲な生命現象に関与すると考えられている。子宮体癌を対象にしたmiRNAに関する研究の報告は未だ少なく、その生物学的意義についても解明されていない。さらに報告の多くは腫瘍抑制的に機能するmiRNAに関するものであり、発癌に伴ってそれらの発現が減少することになり、発癌の分子マーカーとしてはあまり

有効ではない。したがって、子宮内膜の悪性化に直接関与する、あるいは悪性化を反映する新規の分子マーカーを検索し、子宮内膜の発癌を促進するmiRNA(oncomir)を同定することができれば、miRNAが血液中に分泌されることを利用して新規の子宮内膜発癌マーカーとして活用できる可能性がある。さらに、その標的分子あるいは標的分子が関与する細胞内情報伝達系を明らかにすることで、それらを標的とした分子標的治療に関する検討によって現在の補助療法をさらに効果的に施行しうる可能性も考えられ、今後増加が見込まれる子宮体癌の中でも予後不良である進行・再発子宮体癌の治療成績の向上、ひいては子宮体癌全体の予後改善に寄与することも期待される。

miRNAの発癌への関与については、様々な癌種において報告がなされてきているが、子宮体癌におけるmiRNAの役割については、未だ報告は少ない。また、主に腫瘍抑制型のmiRNAとして、miR-152¹、miR-34b²、miR-204³、miR-145⁴などが報告されている。われわれは、浸潤、転移などの高悪性形質に関与する上皮間葉移行(EMT; epithelial mesenchymal transition)に着目し、子宮体癌細胞においてEMTに関与するmiRNAとしてmiR-194⁵、miR-130b⁶を同定し、それぞれの標的分子がBMI-1、ZEB1であることを明らかにしてきた。しかしながら、子宮体癌の発癌機構を直接促進するmiRNA(oncomir)についての報告は存在しないのが現状である。

近年の子宮体癌全症例数の増加による若年子宮体癌症例の増加に伴い、妊孕性(子宮)の温存を希望する症例に遭遇する機会が増加している。この場合には6か月間の高用量黄体ホルモン(MPA: medroxy progesterone acetate)療法と投与期間中に行う数回におよぶ腫瘍の除去(子宮内膜搔爬術)の組み合わせによって治療を行うが、(1)高用量MPA療法が終了したのちに約60%に再発が認めら

れること、(2)仮に子宮の温存が可能であっても、数度におよぶ子宮内膜掻爬術に伴う子宮内腔の物理的なダメージによる不妊の問題、も看過できない。したがって、高用量MPA療法よりも治療効果が高く、さらに子宮内膜掻爬術を行うことなく治癒可能な治療法が開発されることが理想的である。本研究によって子宮内膜の発癌過程を促進する miRNA (oncomir) が同定された場合には、以下のような利益がもたらされることが期待される。すなわち、(1)正常な子宮内膜から内膜増殖症を経て子宮内膜癌に至る発癌過程においてそれを促進する miRNA が明らかとなることで発癌のマーカー分子となりうること、(2)内膜組織の悪性化の過程で生じている miRNA の発現変化が患者血液中でも同様に起こっていることが確認された場合には、血液中の循環 miRNA を定量するシステムを構築することで、子宮体癌に対する新規の腫瘍マーカーとして臨床応用できる可能性があることから、現在主に子宮体癌のスクリーニングに用いられている子宮内膜細胞診よりも侵襲が少なく簡便で感度の高い子宮体癌の検診方法が確立されることが大いに期待される。さらに、同定された oncomir によって発現が調節される標的分子や影響を与える細胞内情報伝達機構が明らかになることにより、それらを標的とした新規治療薬開発の基礎となる知見を得ることにつながるものと考えられる。

2. 研究の目的

microRNA (miR) の発癌過程における関与が多数報告されている。本研究では、(1)miR-31 が子宮体癌における癌遺伝子として機能するか、(2)miR-31 の標的分子を同定すること、を目的とした。

3. 研究の方法

子宮体癌細胞株である HEC-50B を用いて miR-31 過剰発現株を作成し、in vitro、in-vivo での増殖能を対照株との間で比較検討した。miR-31 の標的分子を同定するため、luciferase reporter assay を行うとともに、下流の細胞シグナルの解析を行うために、子宮体癌組織を用いてその発現を免疫組織学的に検討した。さらに、miR-31 の発現と予後の関連を検討した。

4. 研究成果

microRNA (miR) -31 は子宮体癌における癌遺伝子として機能し、その作用機構として癌抑制遺伝子 LATS2 の発現抑制を介して hippo pathway の key factor である YAP の核内移行の促進と cyclinD1 の転写が亢進することによると推察された。また、miR-31 の発現は子宮体癌の再発リスクの高い例で有意に上昇しており、予後不良因子であることが示され、miR-31 は子宮体癌の新しい予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

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. Mitamura T, Watari H, 他 9 名 (2 番目), microRNA-31 functions as an endometrial cancer oncogene by suppressing hippo tumor suppressor pathway. *Molecular Cancer* 13; 97. 2014, doi:10.1186/1476-4598-13-97, 査読有

[学会発表] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡利 英道 (WATARI HIDEMICHI)

北海道大学・北海道大学病院・講師

研究者番号：10344508

(2) 研究分担者

なし