

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09754

研究課題名(和文) 絨毛性疾患における妊娠関連胎盤特異的microRNAの臨床的意義に関する研究

研究課題名(英文) Clinical Significance of Pregnancy-Related Placental Specific MicroRNAs in Trophoblastic Disease

研究代表者

長谷川 ゆり (Hasegawa, Yuri)

長崎大学・病院(医学系)・准教授

研究者番号：70627752

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は全胞状奇胎と部分胞状奇胎を鑑別するために有用な分子マーカーを同定することを目的とした。胎盤特異的microRNAである19番染色体上にクラスターを形成するC19MC領域のmicroRNAと胎児特異的microRNAである14番染色体上にクラスターを形成するC14MC領域のmicroRNAを用いて全胞状奇胎と部分胞状奇胎を鑑別可能かどうか検討した。C19MC領域のmicroRNAは部分胞状奇胎と比較し全胞状奇胎に、C14MC領域のmicroRNAは全胞状奇胎と比較し部分胞状奇胎に有意に患者血漿中の流入量が高値であった。これらのmicroRNAは両者を鑑別可能な分子マーカーになりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全胞状奇胎と部分胞状奇胎は妊娠を契機に発生する疾患である。両者の鑑別は子宮内の組織を病理学的に診断することで鑑別することが一般的だが、診断が難しく、誤った診断がなされることもある。両者を正しく診断することの重要性としては、両者の治療後の経過観察期間や続発症の発生率が異なることにある。そのため、次の妊娠を考える際にも全胞状奇胎と部分胞状奇胎の鑑別は非常に重要である。本研究は患者の血液を用いて両者を鑑別することが可能になることが示唆され、正しい診断に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to identify useful molecular markers for differentiating between complete and partial hydatidiform moles. We examined whether microRNAs in the C19MC region clustered on chromosome 19, a placenta-specific microRNA, and microRNAs in the C14MC region clustered on chromosome 14, a fetus-specific microRNA, could be used to distinguish between complete hydatidiform moles and partial hydatidiform moles. MicroRNAs in the C19MC region and C14MC region showed significantly higher plasma influx in patients with complete hydatidiform moles and partial hydatidiform moles, respectively, compared to those with partial hydatidiform moles. Therefore, these microRNAs may be molecular markers that can differentiate between complete and partial hydatidiform moles.

研究分野：Obstetrics and Gynecology

キーワード：全胞状奇胎 部分胞状奇胎 分子マーカー microRNA

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

#### (1) 胞状奇胎の診断と管理

全胞状奇胎と部分胞状奇胎は奇胎除去後の続発性侵入奇胎や絨毛癌の発生率に大きな違いがある。全胞状奇胎の10~20%、部分胞状奇胎は2~4%に侵入奇胎を、全胞状奇胎は1~2%に絨毛癌を続発する。全胞状奇胎と部分胞状奇胎を鑑別する最終診断は奇胎除去後の組織学的所見に基づくが、診断が困難な場合には p53<sup>kip2</sup> を用いた免疫染色が併用される。しかしながら組織学的に p53<sup>kip2</sup> が陽性にもかかわらず、嚢胞化絨毛組織、患者血液、配偶者血液の遺伝子診断により雄性発生であり、全胞状奇胎と診断される症例が報告されている。遺伝子型解析は全ての施設で行える検査ではなく、配偶者の血液が必要となるため、全患者の診断には使用できない。一方で患者血液のみで全胞状奇胎と部分胞状奇胎を鑑別できるバイオマーカーは存在しない。

(2) 妊娠関連 microRNA : microRNA は20 から24 塩基対の non-coding RNA であり、標的とする mRNA に結合し、その翻訳を阻害、または mRNA を分解することで遺伝子発現を抑制する (Lee RC et al. Cell 1993)。研究代表者らは網羅的解析により妊娠初期および末期の母体血漿中胎盤特異的 cell-free microRNA を約80 種類同定し、それらは主に19q13.42 および14q32.2 の染色体領域にクラスターを形成して存在している (C19MC および C14MC) ことを明らかにした (Miura K et al. Clin Chem 2010)。これまで研究代表者らは妊娠経過に伴う母体血漿中胎盤特異的 microRNA 流入量の推移を報告した (Miura K et al. Clin Chem 2010)。First trimester、Third trimester、分娩後の microRNA 流入量を比較したところ、miR-515-3p、miR-517a、miR-517c、miR-518b、miR-526b は有意差を持って First trimester と比較し Third trimester で流入量が増加し、分娩後には減少していた。これら5 種類の microRNA は全て19q13.42 の染色体領域にクラスターを形成して存在していた。一方で C14MC (miR-323-3p) は First trimester と Third trimester では有意差を認めなかったが、Third trimester と分娩後とでは有意差を持って減少していた。よって、C19MC ならびに C14MC microRNA は妊娠関連胎盤特異的 microRNA であることが明らかになった。C19MC は父性アレルのみからの発現パターンを呈し、C14MC は胎児組織において母性アレルのみの発現パターンを呈している (Morales-Prieto DM et al. J Reprod Immunol 2013)。そこで、C19MC 領域の妊娠関連胎盤特異的 microRNA は父性アレル特異的な発現パターンを有する分子マーカーであり、C14MC 領域の miR-323-3p は母性アレル特異的な発現パターンを有する分子マーカーであるため、両者は絨毛性疾患の新たな分子マーカーの候補となり得る。

研究代表者らは上記の学術的背景を踏まえて、父性発現する C19MC microRNA ならびに母性発現する C14MC microRNA の嚢胞化絨毛組織における発現量を比較することにより、細胞遺伝学的には雄性発生である全胞状奇胎と胎児成分が存在することの多い部分胞状奇胎との鑑別診断が可能になるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では絨毛性疾患の診断・管理における妊娠関連胎盤特異的 microRNA (C19MC と C14MC) の臨床的意義を明らかにするため、全胞状奇胎と部分胞状奇胎を鑑別診断しうる妊娠関連胎盤特異的 microRNA を同定し、全胞状奇胎と部分胞状奇胎とで発現量の異なる microRNA について患者血漿中の循環量を定量化することで血液検査による両者の鑑別診断法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 全胞状奇胎および部分胞状奇胎を疑われ、子宮内掻爬術を行い、病理学的・免疫組織学的診断により全胞状奇胎および部分胞状奇胎と診断された例を対象とした。

(2) 絨毛組織、患者血液および配偶者の血液を採取した。

(3) 病理学的診断に加え、絨毛組織、患者血液および配偶者血液を用いて遺伝子型検査を行い、絨毛組織の遺伝子型が全胞状奇胎では父親アレル由来のみであること、部分胞状奇胎では父親及び母親アレル由来であることを確認することで全胞状奇胎と部分胞状奇胎を確定診断した。

(4) 現在まで当教室で報告してきた胎盤特異的 microRNA である C19MC 領域の microRNA、hsa-miR-520b、-520f、520c-3p、および胎児由来 microRNA である C14MC 領域の microRNA、hsa-miR-323-3p を用いて、全胞状奇胎患者血漿中および部分胞状奇胎患者血漿中 microRNA の流入量を比較し、両者を鑑別可能か検討した。

### 4. 研究成果

(1) 全胞状奇胎は11 例、部分胞状奇胎は4 例であった。いずれも病理学的診断および p53<sup>kip2</sup> を用いた免疫組織学的診断により全胞状奇胎、部分胞状奇胎と診断された。

(2) 15 例全て掻爬術前の患者血液および配偶者血液を採取可能であった。

(3)15 例全てにおいて、絨毛組織、患者血液および配偶者血液から DNA を抽出し、DNA 多型解析を行い、病理学的診断と多型解析の結果が一致したことを確認した。

DNA 多型解析の結果の 1 例を図 1 に示す。

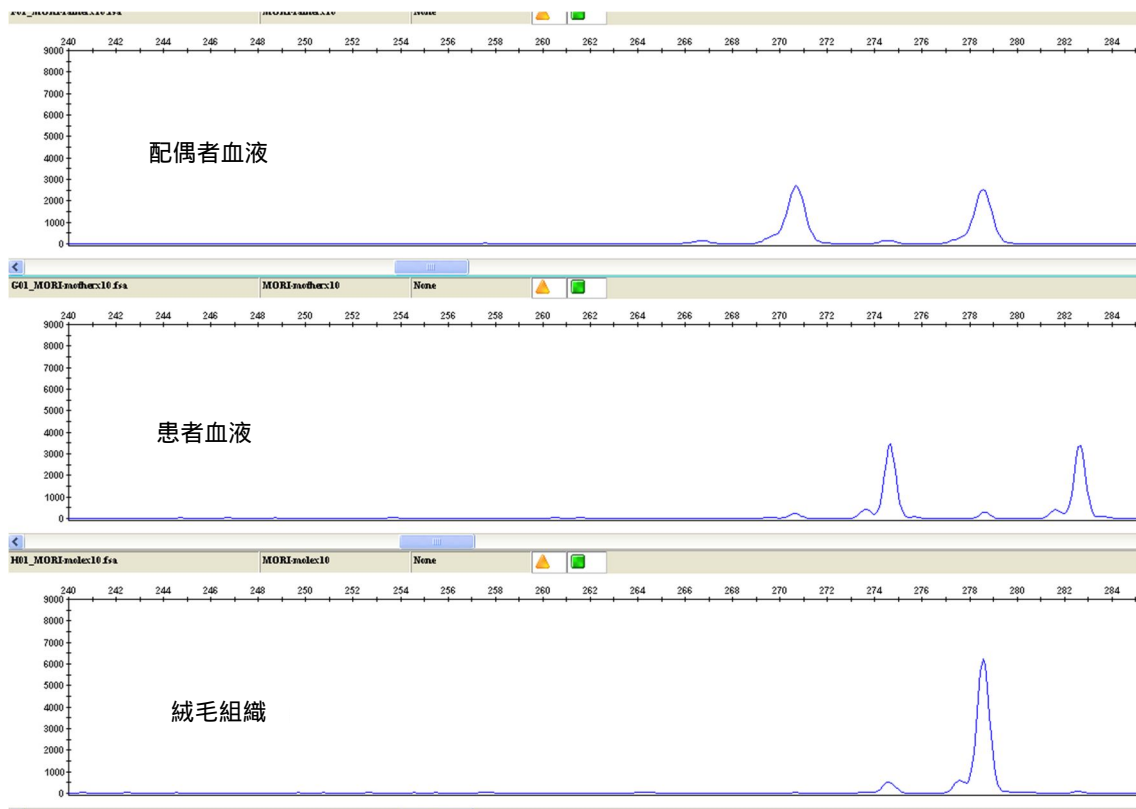


図 1 : DNA 多型解析の結果 (D7S820) : 絨毛組織は配偶者(父親)アレルのみを有しており、患者である母親のアレルを有していない。

(4)結果を表 1 に示す。C19MC 領域の microRNA、hsa-miR-520b, -520f, 520c-3p では部分胞状奇胎と比較し、全胞状奇胎患者血漿中への流入量が有意に高値であった(3 例全てで  $p < 0.01$ )。一方、C14MC 領域の microRNA、hsa-miR-323-3p では全胞状奇胎と比較し、部分胞状奇胎患者血漿中への流入量が有意に高値であった( $p = 0.024$ )。

表 1 : 患者血漿中に流入する microRNA 全胞状奇胎と部分胞状奇胎の比較

microRNA	Chromosomal localization	全胞状奇胎	部分胞状奇胎	p値
		平均値 ± 標準偏差 (copies)	平均値 ± 標準偏差 (copies)	
miR-518b	19q13.42	7,237,222 ± 299,630	5,197 ± 1,736	$p < 0.01$
miR-520f	19q13.42	1,429 ± 703	38 ± 2	$p < 0.01$
miR-520c-3p	19q13.42	24,138 ± 12,563	13 ± 6	$p < 0.01$
miR-323-3p	14q32.31	190 ± 179	832 ± 414	$p = 0.024$

本研究結果の成果は 2022 年 11 月に行われた第 40 回絨毛性疾患研究会においてワークショップ「絨毛性疾患研究の最前線」に選出され、報告した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kitajima Michio, Kajimura Itsuki, Kitajima Yuriko, Murakami Naoko, Matsumura Asako, Matsumoto Kanako, Harada Ayumi, Hasegawa Yuri, Miura Kiyonori	4. 巻 16
2. 論文標題 AMH producing purely cystic virilizing adult granulosa cell tumor in 17 years old girl: a case report and review of literatures	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Ovarian Research	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13048-023-01134-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Komatsu Nahoko, Iwanaga Masako, Hasegawa Yuri, Miura Shoko, Fuchi Naoki, Moriuchi Hiroyuki, Yanagihara Katsunori, Miura Kiyonori	4. 巻 13
2. 論文標題 Frequency of HTLV-1 seroconversion between pregnancies in Nagasaki, Japan, 2011-2018	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2022.1036955	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nogami Y, Komatsu H, Makabe T, Hasegawa Y, Yokoyama Y, Kawana K, Okamoto A, Mikami M, Katabuchi H.	4. 巻 33
2. 論文標題 Impact of COVID-19 on gynecologic cancer treatment in Japan: a nationwide survey by the Japan Society of Gynecologic Oncology (JSGO).; COVID-19 Task Force of the Japan Society of Gynecologic Oncology.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Gynecol Oncol	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3802/jgo.2022.33.e8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 OHASHI KAZUAKI, LI TAO-SHENG, MIURA SHOKO, HASEGAWA YURI, MIURA KIYONORI	4. 巻 42
2. 論文標題 Biological Differences Between Ovarian Cancer-associated Fibroblasts and Contralateral Normal Ovary-derived Mesenchymal Stem Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1729~1737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Riyoko Shigeno, Ichiro Horie, Masaki Miwa, Ayako Ito, Ai Haraguchi, Shoko Natsuda, Satoru Akazawa, Ai Nagata, Yuri Hasegawa, Shoko Miura, Kiyonori Miura, Atsushi Kawakami, Norio Abiru	4. 巻 68
2. 論文標題 Bihormonal dysregulation of insulin and glucagon contributes to glucose intolerance development at one year post-delivery in women with gestational diabetes: a prospective cohort study using an early postpartum 75-g glucose tolerance test.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine journal	6. 最初と最後の頁 919-931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ20-0795	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Acharya Ganesh, Bartolomei Marisa, Carter Anthony M., Chamley Larry, Cotton Charles F., Hasegawa Junichi, Hasegawa Yuri, Hayakawa Satoshi, Kawaguchi Mari, Konwar Chaini, Magawa Shoichi, Miura Kiyonori, Nishi Hirofumi, Salomon Carlos, et al	4. 巻 84
2. 論文標題 IFPA meeting 2018 workshop report I: Reproduction and placentation among ocean-living species; placental imaging; epigenetics and extracellular vesicles in pregnancy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 4~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2019.02.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tezuka Kenta, Fuchi Naoki, Okuma Kazu, Tsukiyama Takashi, Miura Shoko, Hasegawa Yuri, Nagata Ai, Komatsu Nahoko, Hasegawa Hiroo, Sasaki Daisuke, Sasaki Eita, Mizukami Takuo, Kuramitsu Madoka, Matsuoka Sahoko, Yanagihara Katsunori, Miura Kiyonori, Hamaguchi Isao	4. 巻 130
2. 論文標題 HTLV-1 targets human placental trophoblasts in seropositive pregnant women	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 6171~6186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/JCI135525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Horie Ichiro, Haraguchi Ai, Ito Ayako, Nozaki Aya, Natsuda Shoko, Akazawa Satoru, Mori Yoshitaka, Ando Takao, Higashijima Ai, Hasegawa Yuri, Yoshida Atsushi, Miura Kiyonori, Masuzaki Hideaki, Kawakami Atsushi, Abiru Norio	4. 巻 11
2. 論文標題 Impaired early phase suppression of glucagon secretion after glucose load is associated with insulin requirement during pregnancy in gestational diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 232~240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13096	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawashita Sayaka, Matsuda Katsuya, Kondo Hisayoshi, Kitajima Yuriko, Hasegawa Yuri, Shimada Takako, Kitajima Michio, Miura Kiyonori, Nakashima Masahiro, Masuzaki Hideaki	4. 巻 27
2. 論文標題 Significance of p53-Binding Protein 1 Nuclear Foci in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions: Association With High-Risk Human Papillomavirus Infection and P16INK4a Expression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Control	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1073274819901170	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimada Takako, Higashijima Ai, Fukushima Ai, Komatsu Nahoko, Noguchi Masashi, Ohashi Kazuaki, Hasegawa Yuri, Miura Kiyonori	4. 巻 45
2. 論文標題 Malignant transformation from mature cystic teratoma of the ovary	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 1957 ~ 1960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 長谷川ゆり、朝永千春、北島百合子、重富典子、村上亨、重松祐輔、江石千明、三浦清徳
2. 発表標題 胞状奇胎における嚢胞化絨毛の遺伝子診断および胎盤特異的microRNAの発現量の検討
3. 学会等名 第40回 絨毛性疾患研究会 ワークショップ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長谷川ゆり、三浦清徳
2. 発表標題 X連鎖性遺伝性疾患の保因者母体におけるcell-free DNAを用いた胎児性別判定の臨床的応用
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第67回大会 シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 村上亨、長谷川ゆり、三浦生子、三浦清徳
2. 発表標題 Confined placental mosaicism(CPM)およびtrue fetal mosaicismの3例
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 重富典子、長谷川ゆり、三浦清徳他
2. 発表標題 5番染色体長腕と11番染色体長腕の不均衡型転座を認め、Jacobsen 症候群の表現型を呈した1例
3. 学会等名 第6回日本産科婦人科遺伝診療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川ゆり
2. 発表標題 胞状奇胎における遺伝子診断
3. 学会等名 胎盤学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川ゆり, 永田典子, 大橋和明, 淵直樹, 三浦清徳
2. 発表標題 ワークショップ「絨毛性疾患の新たな管理を目指して」胞状奇胎における遺伝子診断の有用性
3. 学会等名 日本絨毛性疾患研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷川ゆり, 宮田海香子, 三浦生子, 吉浦孝一郎, 三浦清徳
2. 発表標題 シンポジウム6 「周産期における遺伝医療の最前線」 周産期領域における遺伝カウンセリング
3. 学会等名 日本人類遺伝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hasegawa Yuri, Miyata Mikako, Miura Shoko, Higashijima Ai, Ohashi Kazuaki, Nagata Noriko, Komatsu Nahoko, Watanabe Akari, Miura Kiyonori
2. 発表標題 The genetic counseling to the result of 47,XXX by amniocentesis
3. 学会等名 International conference on prenatal diagnosis and therapy
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	三浦 清徳  (Miura Kiyonori)  (00363490)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授   (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------