

機関番号：13401  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20591853  
 研究課題名（和文） microRNAの発現解析による前立腺癌診断・治療への応用  
 研究課題名（英文） Expression of microRNAs in prostate cancer  
 研究代表者：伊藤 秀明（ITO HIDEAKI）  
 福井大学・医学部・助教  
 研究者番号：00345620

研究成果の概要（和文）：前立腺癌においてはmiR-31, -205, -221, 222の発現が正常組織と比較して癌組織で有意に低下していたが、Gleason grade間での発現差は認められなかった。同じGleason 4の組織でも、miR-183, -205の発現はGleason scoreと相関して発現量が増加していた。

研究成果の概要（英文）：Although the expression levels of miR-31, -205, -221, -222 were significantly suppressed in cancer cells comparing with normal prostatic cells in prostate cancer samples, the expression levels were not different between each Gleason grade. The expression levels of miR-183 and -205 in Gleason grade 4 samples increased with increasing Gleason score of the patient.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺癌、miRNA、Gleason grade

#### 1. 研究開始当初の背景

(1) MicroRNA(miR)は21-25塩基のnoncoding RNAで、標的となるmRNAに結合して翻訳を抑制することで、タンパク質の発現を抑制している。B cell chronic lymphocytic leukemiaでmiR-15/-16の発現が低下していることが報告されて以来、種々の癌で発癌とmiRの関連性が報告されている。

Microarray, q-PCRを用いた網羅的なmiRの発現解析の結果癌組織で増加するmiRとしてmiR-96, -182, -183などが、癌組織で減少するmiRとしてmiR-31, -149, -181b, -205, -221, -222などが報告されている。

(2) 前立腺癌においてはmiR-31, -205はGleason scoreと負の相関が、miR-96はGleason scoreと正の相関があるとの報告がある。

#### 2. 研究の目的

過去の報告ではGleason scoreやpathological stageとmiRの関連性についての報告が散見されるが、Gleason grade自体による変化に関しての報告は少ない。

Gleason gradeとmiRの発現に関連性があるかどうかを検討することで診断や予後予測の一助となる可能性を示す。

### 3. 研究の方法

(1) 2002年4月～2011年3月に福井大学附属病院とその関連施設にて前立腺全摘除術を受けた患者のうち、解析が可能であった計29例。術前内分泌療法施行例は除外した。

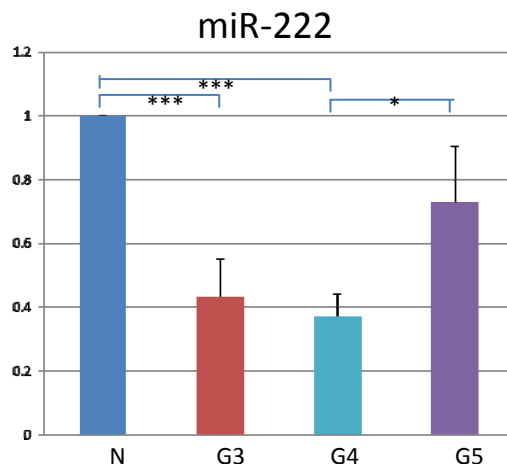
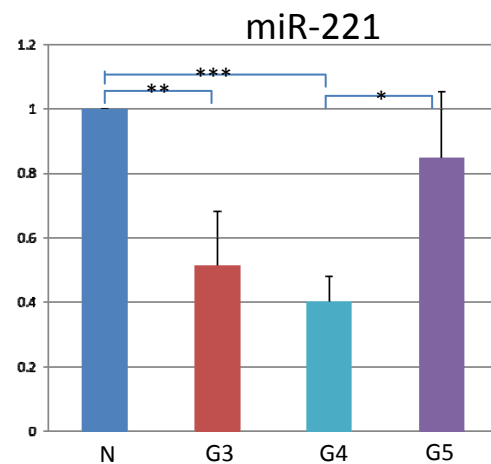
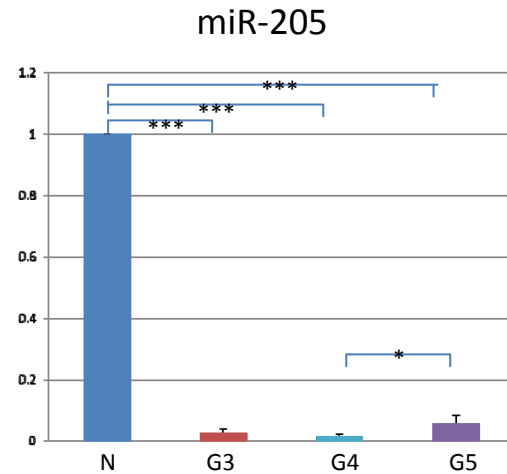
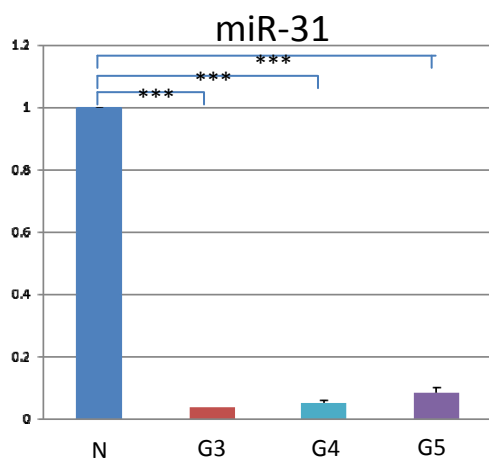
(2) ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 切片から Laser-captured Microdissection (LMD)法を用いて正常組織、Gleason grade 3-5を個別に回収した。RNAを抽出し逆転写(miRNA isolation Kit, Taqman MicroRNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems)を施行した。

RT-q-PCR法を用いて各組織でのmiRの発現量を比較した。(Taqman MicroRNA Assays, Applied Biosystems)

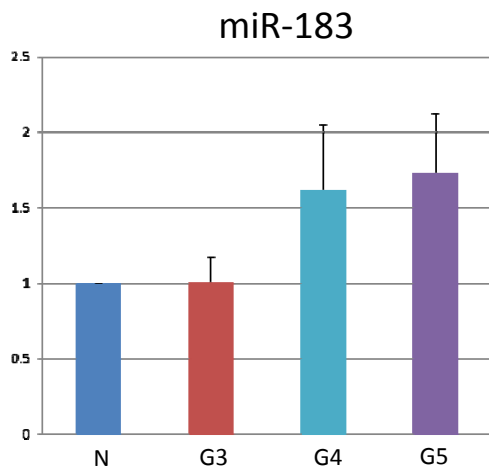
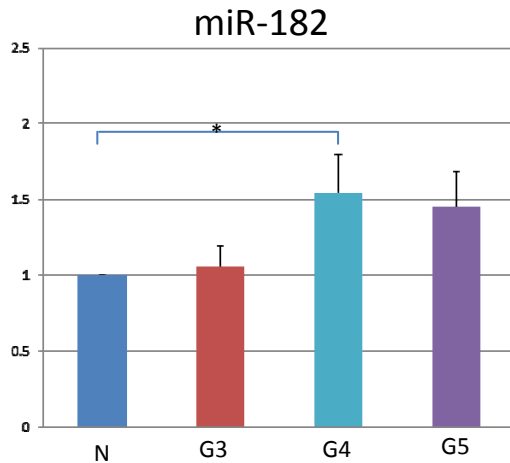
(3) PrimerはmiR-31, -34c, -96, -182, -183, -205, -221, -222とinternal controlとしてRNU48を使用した。正常組織での発現量を1と仮定し、 $\Delta\Delta Ct$ 法を用いて相対定量を行った。

### 4. 研究成果

(1)過去の報告のとおり、miR-31, -205, -221, 222は癌組織において有意に発現が低下していた。しかし、Gleason grade間での発現差は認められなかった。



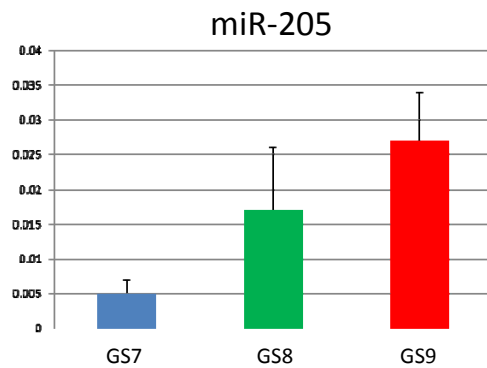
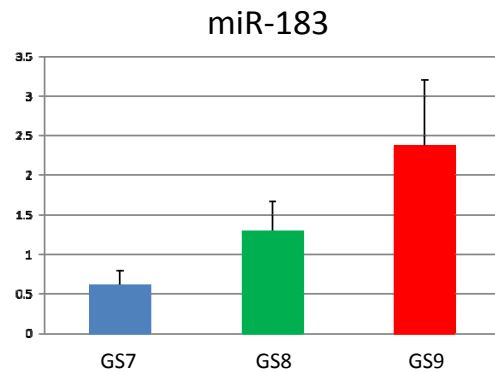
(2) miR-182, -183 は癌組織において発現が増加していた。



(3) Gleason grade 間で miR の発現差を認めたとする過去の報告と比較して、今回の miR 発現量の癌組織/正常組織比は著明に低値であった。このことは、サンプル採取法の違いに起因すると考察する。すなわち、われわれの用いたマイクロダイセクション法では確実に癌の腺管のみを採取できるのに対して、他の報告では癌の多く含まれる組織をブロックとして解析している。われわれの検討では間質組織はほぼ正常組織と同程度の miR 発現が認められたことから、サンプルに含まれる間質組織の多寡に発現比が左右された可能性があると考えられる。

(4) Gleason grade 4 のサンプルについてその患者の Gleason score 別の miR-183, -205 発現量を比較した。同じ Gleason 4 の組織でも、miR-183, -205 の発現は Gleason score と相関して発現量が増加していた。このことは前立腺癌における miR の発現は

個々の Gleason grade ではなく、全体としての悪性度 (Gleason score) によって変化している可能性を示唆した。



## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

①土山克樹、伊藤秀明、伊藤浩史、横山修 前立腺癌における microRNA の発現解析、第 99 回日本泌尿器科学会総会、名古屋、2011 年 4 月 23 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊藤 秀明 (ITO HIDEAKI)  
福井大学・医学部・助教  
研究者番号：00345620

### (2) 研究分担者

横山 修 (YOKOYAMA OSAMU)  
福井大学・医学部・教授  
研究者番号：90242552

大山 伸幸 (OYAMA NOBUYUKI)  
福井大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号 : 20223977

連携研究者

伊藤 浩史 (ITO HIROSHI)  
福井大学・医学部・教授  
研究者番号 : 80253847