

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 22 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23790403

研究課題名（和文）分泌型 microRNA を介した胃癌間質相互作用と上皮間葉転換(EMT)

研究課題名（英文） Tumor-stromal cell interaction and epithelial-mesenchymal transition by secreted-microRNA

研究代表者

坂本 直也 (SAKAMOTO NAOYA)

広島大学・大学院 医歯薬保健学研究院・特任助教

研究者番号：20571798

研究成果の概要（和文）：

癌細胞の遺伝子異常のみならず、腫瘍組織内における癌細胞周囲の微小環境の重要性が指摘され、また癌細胞の間葉系への形質転換が浸潤転移に深く関与することが知られている。一方 microRNA(miRNA)による遺伝子発現制御が癌細胞の生物学的特性に大きな影響を及ぼすことが明らかとなってきた。近年、小胞を介して細胞外に分泌された分泌型 miRNA が体液中においても安定して存在していることが報告され、その生物学的意義が注目されている。本検討では癌間質における miRNA 発現情報を網羅的、体系的に解析し、分泌型 miRNA の胃癌間質相互作用と上皮間葉転換(EMT)における役割を明らかにする。

研究成果の概要（英文）：

It has been reported that micro-environment in cancer tissue plays important roles in cancer development in addition to genetic abnormalities in cancer cell. Moreover, it is generally accepted that epithelial-mesenchymal transition of cancer cell contributes to tumor invasion and metastasis. On the other hands, it is revealed that microRNA can regulate hundreds of genes and affect biological characteristics of cancer cell. In recent year, it was confirmed that secreted-microRNA which is released through small vesicle into extra-cellular space is stably present, and many researchers focused on its biological significance. In this present study, we perform comprehensive and systematic microRNA expression analysis in cancer stromal tissue and aim to elucidate the role of secreted-microRNA in tumor-stromal cell interaction and epithelial-mesenchymal transition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000 円	990,000 円	4,290,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：消化器・唾液腺、microRNA

1. 研究開始当初の背景

胃癌の罹患数はアジア地域が世界の 50%以上を占めており、わが国における研究の推進が求められている。近年、癌細胞の遺伝子異常のみならず、腫瘍組織内における癌細胞周囲の微小環境の重要性が注目されている。癌

細胞は周囲の微小環境を規定する間質細胞を積極的にリモデリングし、浸潤、転移、増殖等の癌の進展を促進させる。浸潤転移の過程において、上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) が重要な役割を果たしており、また EMT の誘導に微小環境が大きな影響を与えるこ

とが知られている。しかし、癌細胞による間質細胞のリモデリングや、EMTをはじめとする間質細胞が癌細胞に与える影響など、癌間質相互作用に関わる分子機構の全貌は明らかになっていない。

microRNA(miRNA)は、遺伝子発現制御に関与しており、種々の癌における異常と、その生物学的重要性が指摘されている。miRNAは、exosomeと呼ばれる小胞を介して細胞外に分泌され、体液中で安定して存在していることも知られており、そのような分泌されるmiRNAを exosomal shuttle RNA(ここでは「分泌型 miRNA」と略す)と呼ばれている。癌においては、分泌型 miRNA があたかもパラクリン増殖因子/サイトカインのように、癌細胞と間質細胞の相互に働き、細胞の増殖・浸潤、間質・血管新生、EMT を制御する可能性が考えられる。しかし、癌間質に焦点を当てたmiRNA解析は少なく、癌微小環境におけるmiRNAの作用に関する解析は、国内ではなされておらず、国外では癌における低酸素との相関を中心とした5報のみである。

2. 研究の目的

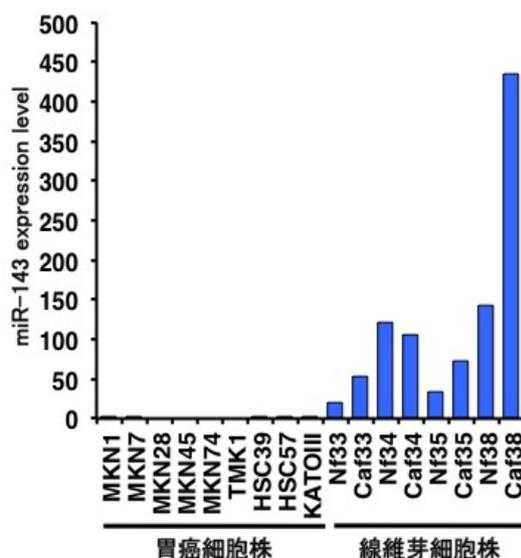
本検討では癌間質におけるmiRNA発現情報を網羅的、体系的に解析し、分泌型miRNAの胃癌間質相互作用と上皮間葉転換(EMT)における役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

無作為に抽出した胃癌切除症例20例の腫瘍部および5例の正常胃粘膜を材料にマイクロアレイを用いて188種のmiRNAの発現レベルを解析し、両者の発現プロファイルと比較した。発現変化の見られたmiRNAに関する生物学的機能の解析も含めた詳細な解析には9種の胃癌細胞株、正常胃粘膜由来線維芽細胞株(Nf)、胃癌部由来線維芽細胞株(Caf)を用いた。

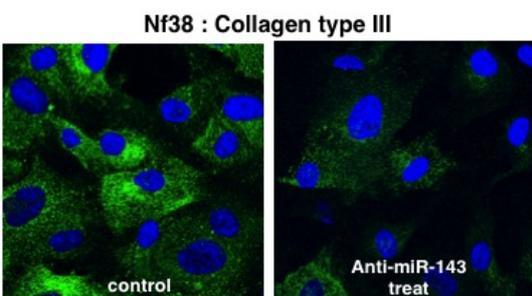
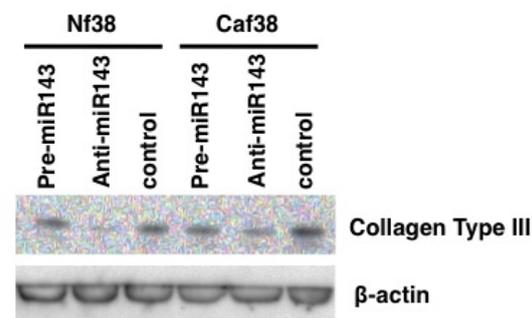
4. 研究成果

マイクロアレイによるmiRNAの発現プロファイル、様々な臨床病理学的因子との相関を検討した結果、スキルス胃癌におけるmiR-143、miR-145の発現亢進を確認した。9種の胃癌細胞株、正常胃粘膜由来線維芽細胞株(Nf)、胃癌部由来線維芽細胞株(Caf)におけるmiR-143、miR-145の発現を検討したところ、胃癌細胞株と比較して線維芽細胞株では著明に発現が亢進しており、またNfと比較してCafでの発現が亢進していた。細胞培養液中のmiR-143の発現も細胞内の発現と一致して、線維芽細胞株のみで検出された。



胃癌細胞株にmiR-143を強制発現させると、形態学的には著変は認められず、細胞生物学的機能としては増殖能に変化は無いものの、浸潤能が著明に抑制された。

加えてmiR-143はCafにおいて、TGF-βシグナル経路を介してcollagen type 3の発現を制御していることを明らかにした。



miR-143の発現と臨床病理学的因子、予後との相関に関して検討したところ、その発現の亢進はstageの進行と有意に相関し、独立した予後予測因子となることが明らかとなった。

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10件、すべて査読あり)

1. Yuta Wakamatsu et al. Expression of cancer stem cell markers ALDH1, CD44 and CD133 in primary tumor and lymph node metastasis of gastric cancer. *Pathology International*, 62, 2012, 112-119
 2. Hokuto Takami et al. Cytokeratin expression profiling in gastric carcinoma: clinicopathologic significance and comparison with tumor-associated molecules. *Pathobiology*, 79, 2012, 154-161
 3. Naohide Oue et al. Cytokeratin is a Predictive Marker for Survival in Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Annals of Surgical Oncology*, 19(6), 2012, 1902-1910
 4. Naito Y, et al. Reg IV is a direct target of intestinal transcriptional factor CDX2 in gastric cancer. *PLoS One*, 7 (11) 2012, e47545.
 5. Shinmei S, et al. MicroRNA-155 is a predictive marker for survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Int J Urology*, 2012, e-pub
 6. Sakamoto N, et al Liver-intestine cadherin induction by epidermal growth factor receptor is associated with intestinal differentiation of gastric cancer *Cancer Sci.* 103(9) 2012, 1744-50
 7. Sentani K, et al. Upregulation of HOXA10 in gastric cancer with the intestinal mucin phenotype: reduction during tumor progression and favorable prognosis. *Carcinogenesis* 33 (5) 2012, 1081-8
 8. Tetsutaro Hayashi et al. Identification of transmembrane protein in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: expression of CDON is involved in tumor cell growth and invasion. *Pathobiology*, 78, 2011, 277-284
 9. Wataru Yasui et al. Molecular pathology of gastric cancer: research and practice. *Pathology Research and Practice*, 207, 2011, 608-612
 10. Tetsutaro Hayashi et al. Desmocollin 2 is a new immunohistochemical marker indicative of squamous differentiation in urothelial carcinoma. *Histopathology*, 59, 2011, 710-721
- [学会発表] (計9件)
1. 坂本直也 胃癌で発現が低下している miR-148a は MMP7 を標的とし、浸潤に関与する 第71回日本癌学会 2012年9月19日 札幌
 2. 坂本直也 MiR-148a の胃癌における発現低下と MMP7 を介した浸潤への関与 第21回日本癌転移学会 2012年7月13日 広島
 3. 坂本直也 胃癌における DNA メチル化による miR-148a の低下と MMP7 を介した浸潤への関与 第101回日本病理学会 2012年4月27日 東京
 4. 坂本直也 胃癌における miR-148a の発現低下と MMP7 を介した浸潤への関与 第22回消化器癌発生学会 2011年11月25日 佐賀
 5. 坂本直也 MIR-148A, DOWN-REGULATED IN GASTRIC CANCER, TARGETS MMP7 AND PARTICIPATES IN TUMOR INVASION The 21th International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar 2011年11月6日 広島
 6. 坂本直也 胃癌で発現低下している miR-148a は MMP7 を標的とし、浸潤に関与する 第70回日本癌学会学術総会 2011年10月3日、名古屋
 7. 坂本直也 スキルス胃癌組織を用いた CAST 法による解析: 新規マーカーTM9SF3 の同定 第20回がん転移学会学術集会 2011年6月30日
 8. 坂本直也 胃癌における microRNA 発現解析 第100回日本病理学会総会 2011年4月28日 横浜
 9. 坂本直也 microRNA expression profiles in gastric cancer: miR-148a is down-regulated in gastric cancer and involved in gastric cancer invasion by repression of MMP7 expression. 9th International Gastric Cancer Congress, Seoul (Korea), April 22, 2011
- [その他]
ホームページ等
<http://home.hiroshima-uc.jp/byouril/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本 直也 (SAKAMOTO NAOYA)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・特任
助教

研究者番号：20571798

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：