

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791387

研究課題名(和文) エストロゲンレセプター陽性乳癌の生物学的特性に関するマイクロRNAの解析

研究課題名(英文) MicroRNAs and their potential targets associated with characteristics of estrogen receptor-positive breast cancer

研究代表者

遠藤 友美 (Endo, Yumi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20566228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではエストロゲンレセプター陽性乳癌におけるマイクロRNAの発現を解析し、エストロゲンレセプター陽性乳癌のLuminal AとLuminal Bサブタイプの生物学的特性に関するマイクロRNAとその標的遺伝子候補の機能の解析とバイオマーカー、治療への応用を検討することが目的であったが、Luminal Aサブタイプに優位に低発現であるマイクロRNA、miR-1290とその標的遺伝子候補であるNAT1, FOXA1, MAPT, BCL2を選出、さらに細胞実験により、NAT1がmiR-1290のターゲット遺伝子であること、免疫組織学的検討によりNAT1が乳癌の予後に関与していることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Recent analyses have identified heterogeneity in ER-positive breast cancer. Subtypes called luminal A and luminal B have been identified, and the tumor characteristics are different in these subtypes. In this study, expression profiles of microRNAs and mRNAs in ER-positive breast cancer tissue were compared between luminal A tumors and luminal B tumors by miRNA and mRNA microarrays. Unsupervised hierarchical clustering analyses revealed distinct expression patterns of miRNAs and mRNAs. We identified a down-regulation of miR-1290 in luminal A tumors. We picked up 11 genes that were potential target genes of the selected miRNAs. Protein expression patterns of the selected target genes were analyzed in ER-positive breast cancer samples by immunohistochemistry: miR-1290 and its 4 putative targets, BCL2, FOXA1, MAPT and NAT1 were identified. Transfection experiments revealed that introduction of miR-1290 into ER-positive breast cancer cells decreased mRNA and protein expression of NAT1.

研究分野：外科

科研費の分科・細目：乳腺外科

キーワード：マイクロRNA

1. 研究開始当初の背景

乳癌は、日本人女性の癌の罹患率の第 1 位であり、女性 20 人に 1 人が罹患している。日本人女性においては 40 歳台に好発するのが特徴で、罹患率は増加の一途をたどっている。現在、乳癌は 5 つのサブタイプ(エストロゲンレセプター (ER) 陽性の Luminal A と Luminal B、ER 陰性の HER2, Basal-like, Claudin-low)が存在することが、乳癌組織におけるメッセンジャー RNA の遺伝子発現プロファイル解析により解明されており、個々のサブタイプの生物学的特性に応じた治療法、予防法の確立が必要であると考えられている。

2. 研究の目的

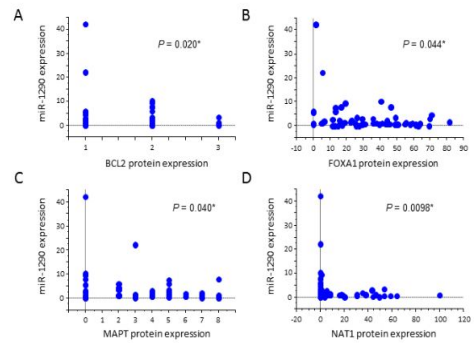
エストロゲンレセプター陽性乳癌におけるマイクロ RNA の発現を解析し、下記を明らかにする。1, エストロゲンレセプター陽性乳癌の Luminal A と Luminal B サブタイプの生物学的特性に關するマイクロ RNA の同定とその標的遺伝子候補の同定。2, 同定したマイクロ RNA と、その標的遺伝子蛋白の機能の解析と、バイオマーカー、治療への応用の可能性の検討

3. 研究の方法

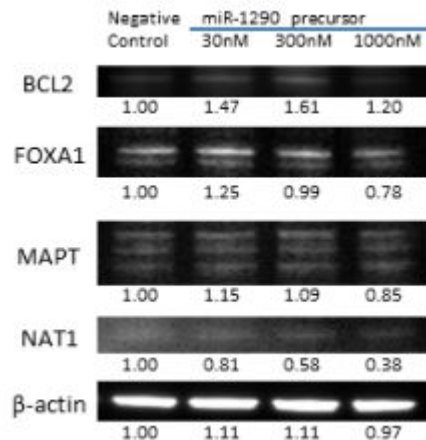
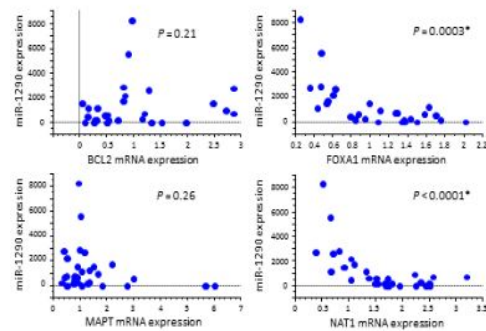
エストロゲンレセプター (ER) 高発現 / ER 低発現乳癌の凍結乳癌組織から RNA を抽出し、乳癌組織のマイクロ RNA の発現解析 (マイクロアレイ、定量 RT-PCR) を行う。その後、ER 陽性乳癌の生物学的特性に關するマイクロ RNA、その標的遺伝子候補を同定する。それらを他の ER 陽性乳癌患者において発現解析、免疫染色などを行い、絞り込む。また、予後や治療効果との相関を検討する。候補となるマイクロ RNA を乳癌細胞株に導入し、細胞実験を行うことで、真の標的となるか確認する。

4. 研究成果

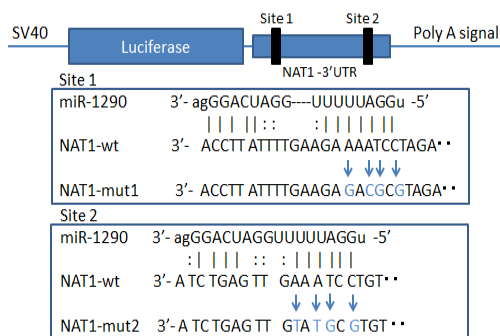
マイクロアレイ解析、定量的 RT-PCR 解析、免疫組織学的検討から Luminal A サブタイプで有意に低発現であるマイクロ RNA、miR-1290 とその標的遺伝子候補である NAT1, FOXA1, MAPT, BCL2 を同定した。



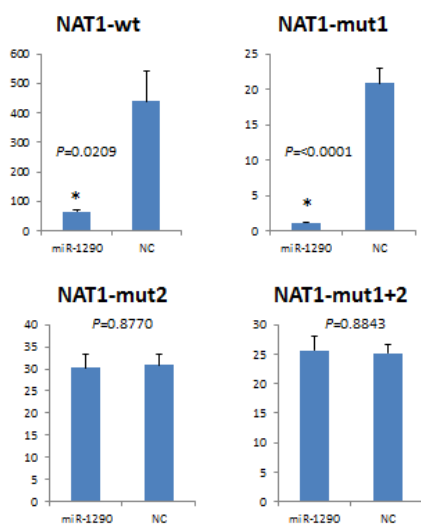
細胞実験により、miR-1290 の発現量と、NAT1, FOXA1, MAPT, BCL2 のメッセンジャー RNA の発現量の相関を検討、ウェスタンブロット解析により、miR-1290 の標的遺伝子候補として NAT1 に絞り込んだ。



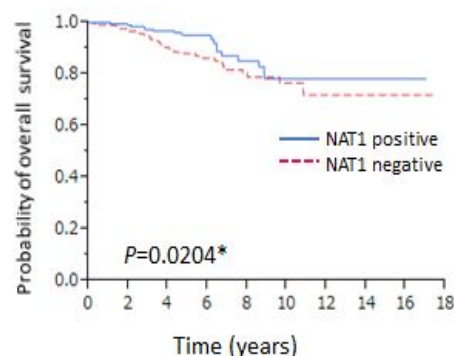
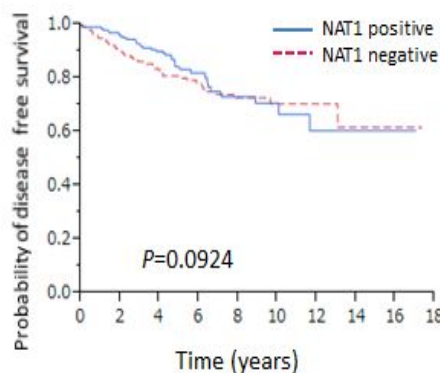
細胞実験により、miR-1290 の標的遺伝子候補として NAT1 に絞り込んだ。また、miR-1290 のターゲット領域を含む NAT1 の 3'-UTR 領域をルシフェラーゼレポーターアッセイ用のベクターに導入、さらにターゲット領域に mutation を入れたものを作成した。



ルシフェラーゼアッセイをおこない、NAT1 が miR-1290 の標的遺伝子の下の高性を高いことを確認した。



また、NAT1 を他の多くの乳癌患者の組織において免疫染色し、臨床病理学的因子との相関を検討することで、NAT1 が乳癌患者の予後予測因子となりうることを見出した。



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)

Endo Y, Toyama T, Takahashi S, Yoshimoto N, Iwasa M, Asano T, Fujii Y, Yamashita H: miR-1290 and its potential targets are associated with characteristics of estrogen receptor -positive breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 18;20(1): 91-102, 2013 DOI: 10.1530/ERC-12-0207 (査読あり)

[学会発表](計 6件)

第 70 回日本癌学会学術総会
2011/10/04 (名古屋)

microRNAs and their target proteins associated with characteristics of estrogen receptor-positive breast

cancer

Yumi Endo, Satoru Takahashi²,
Tatsuya Toyama, Nobuyasu Yoshimoto,
Mai Iwasa, Yoshitaka Fujii, Hiroko
Yamashita

第 20 回日本乳癌学会学術総会
2012/06/28-30 (熊本)

エストロゲンレセプター陽性乳癌の
生物学的特性に関する microRNA と
その標的遺伝子の解析

遠藤友美、高橋智、遠山竜也、吉本信
保、岩佐麻衣、浅野倫子、山下啓子

第 71 回日本癌学会学術総会
2012/09/19-21 (札幌)

MicroRNAs and their potential
targets associated with
characteristics of estrogen
receptor-positive breast cancer

Yumi Endo, Tatsuya Toyama, Satoru
Takahashi, Nobuyasu Yoshimoto, Mai
Iwasa, Tomoko Asano, Yoshitaka
Fujii and Hiroko Yamashita

St. Gallen International Breast
Cancer Conference 2013/3/13-16
(3/14) (St. Gallen, Switzerland)

MicroRNAs and their potential
targets associated with
characteristics of estrogen
receptor-positive breast cancer

Yumi Endo, Tatsuya Toyama, Satoru
Takahashi, Nobuyasu Yoshimoto, Mai
Iwasa, Tomoko Asano, Yoshitaka
Fujii and Hiroko Yamashita

ASCO 2013/05/31-06/04 (6/1)
(Chicago, USA)

MiR-1290 and its potential targets
are associated with characteristics
of estrogen receptor -positive
breast cancer

Yumi Endo, Tatsuya Toyama, Satoru
Takahashi, Nobuyasu Yoshimoto, Mai
Iwasa, Tomoko Asano, Yoshitaka
Fujii and Hiroko Yamashita

第 114 回 日本外科学会学術総会
2014/04/03-05 (4/5) (京都)

Arylamine N-acetyltransferase 1
(NAT1) は miR-1290 の標的遺伝子で
あり、乳癌の予後因子である

遠藤友美、山下啓子、高橋智、佐藤慎
哉、吉本信保、浅野倫子、波戸ゆかり、
董宇、藤井義敬、遠山竜也

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤友美 (Endo Yumi)

研究者番号 : 20566228

研究機関名 : 名古屋市立大学大学院医学研
究科

部局名 : 腫瘍・免疫外科

職名 : 助教