

井上 直樹 論文内容の要旨

主 論 文

Down-regulation of microRNA 10a expression in esophageal squamous cell carcinoma cells

食道扁平上皮癌細胞における microRNA-10a の発現低下

井上 直樹, 磯本 一, 松島 加代子, 林 徳眞吉, 國崎 真己, 日高 重和, 町田 治久, 光武 範吏, 七島 篤志, 竹島 史直, 中山 敏幸, 大津留 晶, 中島 正洋, 永安 武, 山下 俊一, 中尾 一彦, 河野 茂

(ONCOLOGY LETTERS 第1号, 527-531, 2010年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員: 河野 茂 教授)

緒 言

microRNA (miR) は 18~25 塩基からなる小さな non-coding RNA であり、翻訳抑制やメッセンジャーRNA の制御など、遺伝子発現を抑制的に制御する役割を持っているとされている。現在までヒトで 700 種類以上の miR が発見され、分化、増殖、アポトーシス、代謝など様々な生命現象に関わっており、また発癌や癌の進展における関与も明らかになってきているが、食道扁平上皮癌と miR の関連性について述べている報告は少ない。本研究では、食道扁平上皮癌と miR の病原的な関連性について、特に発現低下を呈する miRNA を同定することを目的とした。

対象と方法、結果

【研究1】ヒト高分化型食道扁平上皮癌株である OE21、TE10 とヒト不死化正常食道扁平上皮由来細胞株 Het1A から抽出した small RNA を用い、micro RNA array and analysis を用い、miR 発現の相違を網羅的に解析した。その結果、Het1A と比較して OE21 と TE10 とで共通して有意に (2 倍以上) 発現低下していた miR は順に miR-153、-100、-125b、-10a、-99a、-376a、-379、-651、-146b であった。

【研究2】5 種類のヒト食道扁平上皮癌細胞株 (OE21、TE5、TE8、TE10、TE11)、Het1A、2 種類のヒト食道バレット腺癌細胞株 (Bic1, Seg1)、3 種類のヒト胃腺癌株 (AGS, AZ521、KATOIII)、2 種類の大腸腺癌細胞株 (Caco-2、DLD1)、1 種類の頸部扁

平上皮癌細胞株 (HeLa)、1 種類のヒト肺腺癌細胞株 (A549)、血液学的な悪性細胞株 (HL-60、Jurkat、U937) から total RNA を抽出し、上述の、有意に発現低下を示した miR を RT-PCR にて解析した。食道扁平上皮癌細胞群と Het1A との比較では、特異的に発現低下がみられた miRNA は miR-10a のみであった。また、miR-10a についてはバレット腺癌との比較でも有意な発現低下が認められた。しかしながら、他の癌細胞株との比較では、ばらつきが見られた。

【研究 3】2007 年 6 月から 2009 年 5 月にかけて 20 人の患者 (食道扁平上皮癌、高度異形成) を対象にして、内視鏡観察下に食道正常組織ならびに病変部より生検し、total を抽出した後、miR-10a をターゲットとして同様に RT-PCR にて解析した。正常組織と高度異形成、食道上皮内癌との比較では miR-10a の発現低下が認められたが、浸潤癌との比較では逆に発現上昇が認められた。

【研究 4】DNA のエピジェネティックな異常である DNA メチル化やヒストン脱アセチル化との関連を調べるため、OE21、TE10 を対象として脱メチル化剤である 5-Aza-2'-deoxycytidine (DAC) やヒストン脱アセチル化阻害剤である trichostatin A (TSA) で処理した後、total RNA を抽出し、同様に miR-10a をターゲットに RT-PCR にて解析した。OE21 では DAC の存在下において miR-10a の発現上昇を認めたが、TE10 では TSA の作用が少なかったのか、そのような変化は認められなかった。

考 察

今回の研究の結果から、miR-10a が食道扁平上皮癌の発生に関与している可能性が示唆される。今後さらに機能解析を進めることで癌の診断や治療に役立つ可能性がある。また、miR-10a の遺伝子配列の上流には DNA メチル化の対象となる CpG 配列があり、今回の結果から、DNA メチル化が miR-10a の発現を制御している可能性が考えられる。