

論 文 内 容 要 旨

題目 miR-144-3p/miR-451a promotes lymphovascular invasion through repression of PTEN/p19 in rectal neuroendocrine tumors

(直腸神経内分泌腫瘍において、miR-144-3p/miR-451a は PTEN/p19 を介して脈管侵襲を促進する)

著者 Noriaki Murayama, Koichi Okamoto, Tadahiko Nakagawa, Jinsei Miyoshi, Kensei Nishida, Tomoyuki Kawaguchi, Kaizo Kagemoto, Shinji Kitamura, Beibei Ma, Hiroshi Miyamoto, Naoki Muguruma, Mitsuyasu Yano, Koichi Tsuneyama, Takahiro Fujimori, Yasushi Sato, Tetsuji Takayama

令和 4 年 5 月 発行 Journal of Gastroenterology and Hepatology 第 37 巻第 5 号 919 から 927 ページに掲載済

内容要旨

一般に直腸神経内分泌腫瘍 (Neuroendocrine tumor-grade 1; NET-G1) は低悪性度であることから、以前は直腸カルチノイドと呼ばれており、大きさ 10mm 以下の腫瘍は内視鏡的切除の適応とされてきた。しかし、10mm 以下の NET-G1 においても、病理組織学的に脈管侵襲のある例や切除後に転移・再発をきたす例が報告され、転移・浸潤機序の解明と有効なバイオマーカーの開発が必要である。一方、non-coding small RNA の一つである microRNA (miRNA) は標的遺伝子を制御することにより癌の発生、増殖、転移に関与することが報告されている。そこで本研究では、内視鏡的に切除した大きさ 10mm 以下の直腸 NET G1 を脈管侵襲陽性群と陰性群に分けて miRNA アレイ解析を行い、転移・浸潤に関わる miRNA を網羅的に解析した。また、転移・浸潤に関わる miRNA の標的遺伝子を同定した。次いで、NET 培養細胞株を用いて miRNA 導入や標的遺伝子のノックダウン実験を行い、これらの細胞の転移・浸潤能の変化を調べることにより、NET-G1 の転移・浸潤の分子機序を検討した。

まず内視鏡的に切除した直腸 NET-G1 33 例のうち、年齢と腫瘍径をほぼ一致させた脈管侵襲陽性 7 例と陰性 7 例より RNA を抽出し、miRNA アレイ解析を行った。その結果、脈管侵襲陽性群では陰性群に比べて 5 つの miRNA (miR-144-3p, miR-451a, miR-551b-3p, miR-486-5p, miR-10b-5p) が有意に高い発現を示した。新たな NET-G1 症例の脈管侵襲陽性群及び陰性群の腫瘍組織を用

様式(8)

いて real-time PCR を行い、陽性群では miR-144-3p と miR-451a 発現がいずれも有意に高いことを確認するとともに、これらは miRNA cluster として過剰発現していることを見出した。次いで、TargetScan 及び IPA によりこれらの miRNA の標的遺伝子を調べ、miR-144-3p は PTEN 遺伝子を、miR-451a は p19 遺伝子を標的としていることを見出した。脈管侵襲陽性群の腫瘍組織を用いた免疫染色では、PTEN 及び p19 の発現はいずれも著明に低下していた。以上の結果を基に、NET 腫瘍由来培養細胞株 (H727 細胞) に miR-144-3p mimic または miR-451a mimic を導入しところ、それぞれ PTEN と p19 の発現は有意に低下した。また、wound healing assay により細胞遊走能を、invasion assay により浸潤能を評価したところ、いずれも有意な低下を認めた。さらに、H727 細胞における PTEN と p19 遺伝子の発現を siRNA によりノックダウンしたところ、いずれも遊走能及び浸潤能は有意に亢進した。

以上より、直腸 NET-G1 細胞の脈管侵襲に関わる miRNA として、miR-144-3p/miR-451a が同定された。miR-144-3p は PTEN を、miR-451a は p19 を標的遺伝子として発現を抑制することにより遊走能、浸潤能を亢進させることが示された。NET-G1 組織における miR-144-3p/miR-451a 発現は浸潤・転移のバイオマーカーに成り得ることが示唆された。今後これらの miRNA の血清診断への応用を検討している。