

## 子宮内膜症における microRNA の発現異常：病態形成における役割

大分大学医学部地域医療支援システム・産婦人科分野

奈須 家栄

## はじめに

子宮内膜症は生殖年齢の女性の3~10%に発生するエストロゲン依存性の疾患であり[1, 2], 慢性骨盤痛, 月経痛, 性交痛, 不妊などの症状を呈し, 患者の quality of life を著しく損なう[2, 3]. 類腫瘍性疾患, 類炎症性疾患と位置付けられており, 内分泌学的要因, 遺伝性素因, 免疫学的要因などのさまざまな病因が考えられているが, その本態はいまだ不明である.

これまでの研究から, 子宮内膜症細胞は正所性子宮内膜細胞と比較して, 増殖能, アポトーシス耐性能, 細胞接着能, 細胞外マトリックス収縮能, 免疫応答能などのさまざまな細胞機能において特異性を有することがわかってきた. しかし, 単一の遺伝子異常が病態形成に関与しているという知見は得られていない.

近年, 癌や炎症性疾患などさまざまな疾患の発症にエピジェネティクスの異常が関与していることが明らかとなっている. 子宮内膜症においても, その発症と関連性が深いと考えられている遺伝子のメチル化やヒストン修飾による発現の異常, microRNA (miRNA) の発現異常が報告され, 病態解明の手掛かりとなることが期待されている.

本稿では, 子宮内膜症におけるエピジェネティクス異常の1つとして「miRNA の発現異常」を取り上げ, 子宮内膜症の病態形成における役割と新しい薬物療法の可能性について概説する.

## miRNA

miRNA は約22塩基の内因性の non-coding RNA で, エピジェネティクス機構の1つとし

て最近確立された概念である[4]. miRNA は mRNA に結合して mRNA の分解や蛋白質の翻訳を調節することにより, DNA の塩基配列の改変を伴わずに遺伝情報の発現制御を行う. 現在, ヒトの全遺伝子の50~60%, 蛋白質をコードする遺伝子の約30%が miRNA による転写後調節を受けていると考えられている[5, 6]. 1つの miRNA は数十の遺伝子を標的としており, 発生, 分化, 増殖, 代謝, 免疫, 癌化などのさまざまな細胞機能を調節することが近年明らかとなっている[4, 6].

miRNA を含むエピジェネティクスによる遺伝子発現の調節機構は, 加齢やストレス, 炎症, 癌化などの外界からの刺激によって変化し得る脆弱なものであり, その異常が多くの疾患の発生とかかわっているのではないかと推測されている. したがって, 慢性炎症性疾患, 類腫瘍性疾患である子宮内膜症の発症においても, エピジェネティクス異常が生じることは十分に予測される.

子宮内膜症における miRNA の  
発現異常に関する報告

表1にマイクロアレイを用いた網羅的解析法により, 子宮内膜症において発現異常を認める miRNA を同定したこれまでの報告をまとめた[7-12]. これらの報告のほとんどは, 子宮内膜症病変, 子宮内膜症患者の正所性子宮内膜, 子宮内膜症のない症例の正所性子宮内膜における miRNA の発現について比較したものであるが, いずれの検討においても子宮内膜症における miRNA の発現異常が認められている. しかし,

表1 miRNA マイクロアレイにより抽出された miRNA の発現異常に関する報告

報告者	対象	子宮内膜症で増加	子宮内膜症で減少
Burney et al. [7]	子宮内膜症患者の子宮内膜組織 正常子宮内膜組織	miR-9, miR-9*, miR-34b*, miR-34c-3p, miR-34c-5p, miRPlus_42 780	なし
Ohlsson Teague et al. [8]	卵巣子宮内膜症性嚢胞組織 同一症例の正所性子宮内膜組織	miR-1, miR-29c, miR-99a, miR-99b, miR-100, miR-125a, miR-125b, miR-126, miR-143, miR-145, miR-150, miR-194, miR-223, miR-365	miR-20a, miR-34c, miR-141, miR-142-3p, miR-196b, miR- 200a, miR-200b, miR-424
Filigheddu et al. [9]	卵巣子宮内膜症性嚢胞組織 同一症例の正所性子宮内膜組織	miR-1, miR-28, miR-29b/c, miR-30e-3p, miR-30e-5p, miR-34a, miR-99a, miR-100, miR-101, miR-126, miR-130a, miR-143, miR-145, miR-148a, miR-150, miR-186, miR-199a, miR-202, miR-221, miR-299-5p, miR-365, miR-368, miR-376a, miR-379, miR-411, miR-493-5p	miR-17-5p, miR-20a, miR-25, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-130b, miR-182, miR-132, miR-183, miR-196b, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-375, miR-425-5p, miR-486, miR-503, miR-638, miR-663, miR-671, miR-768-3p, miR-768-5p
Hawkins et al. [10]	卵巣子宮内膜症性嚢胞組織 正所性子宮内膜組織	miR-29c, miR-100, miR-193a-3p, miR-193a-5p, miR-202, miR-485-3p, miR-509-3-5p, miR-574-3p, miR-708, miR-720	miR-10a, miR-34c-5p, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-375, miR-429, miR-449b, miR-504, miR-873
Abe et al. [11]	卵巣子宮内膜症性嚢胞間質細胞 正常子宮内膜間質細胞	miR-100, miR-132*, miR-210, miR-181a	miR-29b, miR-196b, miR-199 a-3p, miR-199b-5p, miR-214, miR-424, miR-503, miR-455-3p
Braza-Boils et al. [12]	卵巣子宮内膜症性嚢胞組織 子宮内膜症腹膜病変 同一症例の正所性子宮内膜組織 正常子宮内膜組織	miR-29c, miR-138, miR-202, miR-411, miR-411*, miR-424	miR-16, miR-373*, miR-449b*, miR-556-3p, miR-556-3p, miR-636, miR-935

それぞれの報告で抽出された miRNA は一致しておらず、個々の miRNA に関する詳細な検討が必要である。

われわれは、正常子宮内膜間質細胞と比較して子宮内膜症間質細胞で発現量の差が認められる miRNA について、miRNA マイクロアレイを用いた網羅的解析により抽出した [11]。その結果、子宮内膜症間質細胞において発現が減少している 8 つの miRNA と発現が増加している 4 つの miRNA を同定した (表 2)。

#### 子宮内膜症において発現異常を認める

##### miRNA の機能に関する報告

表 3 に子宮内膜症において発現異常を認める miRNA の病態形成における役割についての報告をまとめた [11, 13-19]。おのおのの miRNA

に特有の機能が報告されており、子宮内膜症の病態形成への関与が示唆される。

われわれは、子宮内膜症間質細胞で発現が抑制されている miR-196b について、子宮内膜症間質細胞に miR-196b を強制発現させることにより機能解析を行った [11]。その結果、c-myc および Bcl-2 は miR-196b の標的因子であり、子宮内膜症間質細胞における c-myc および Bcl-2 の発現増加は miR-196b の減少によると考えられた。また miR-196b の発現減少により、子宮内膜症間質細胞の細胞増殖は亢進し、アポトーシス抵抗性になると考えられた。さらに、子宮内膜症間質細胞における miR-196b の発現減少は miR-196b 遺伝子のメチル化により生じていることがわかった。

次に、子宮内膜症間質細胞で発現が増強して

表2 子宮内膜症間質細胞と正常子宮内膜間質細胞の間で発現量の差が認められる miRNA 群 [11]

## A. 子宮内膜症間質細胞で発現が減少している miRNA 群

Systemic name	Raw <i>p</i> value	FDR-adjusted <i>p</i> value	Fold change
hsa-miR-199b-5p	0.00195	0.107397	0.08
hsa-miR-503	0.000778	0.107397	0.22
hsa-miR-424	0.00232	0.107397	0.26
hsa-miR-196b	0.00777	0.200067	0.29
hsa-miR-199a-3p	0.0209	0.227034	0.41
hsa-miR-214	0.0209	0.227034	0.46
hsa-miR-29b	0.0117	0.216796	0.48
hsa-miR-455-3p	0.0209	0.227034	0.49

## B. 子宮内膜症間質細胞で発現が増加している miRNA 群

Systemic name	Raw <i>p</i> value	FDR-adjusted <i>p</i> value	Fold change
hsa-miR-210	0.00865	0.200067	4.30
hsa-miR-100	0.0274	0.241585	3.57
hsa-miR-132*	0.0206	0.227034	2.17
hsa-miR-181a	0.00232	0.107397	2.16

表3 子宮内膜症において発現異常を認める miRNA の機能に関する報告

miRNA	発現	標的遺伝子の発現調節	細胞機能の変化	文献
miR-20a	子宮内膜症間質細胞で発現増強	DUSP2 の発現抑制	PGE2 による FGF-9 発現の増強 持続的な ERK のリン酸化の誘導 EGR-1, CYR61, osteopontin の 発現誘導	[13]
miR-23a/b	子宮内膜症病変および子宮内膜症 患者の正所性子宮内膜で発現抑制	Steroidogenic factor-1 の発現抑制	エストロゲン合成の抑制	[15]
miR-145	子宮内膜症病変で発現抑制 KLF4, podocalyxin, JAM-A, PAI-1 の発現抑制 ACTG2, transgelin の発現増強	Fascin-1, SOX2, MSI2, OCT4, Side population の 減少 Aldehyde dehydrogenase-1 活性の抑制	細胞増殖抑制, 浸潤能の誘導	[14]
miR-183	子宮内膜症病変で発現抑制	記載なし	アポトーシス誘導, 浸潤能の抑制	[18]
miR-196b	子宮内膜症間質細胞で発現抑制	c-myc, bcl-2 の発現抑制	細胞増殖抑制, アポトーシス誘導	[11]
miR-199a-5p	子宮内膜症患者の血清で低下	VEGFA の発現抑制	細胞増殖, 細胞運動, 血管新生の 抑制	[16]
miR-210	子宮内膜症間質細胞で発現増強	STAT3 の発現抑制	細胞増殖促進, アポトーシス耐性 VEGF の産生増強	[19]
miR-302a	子宮内膜症間質細胞で発現増強	COUP-TFII の発現抑制	COX-2 の発現誘導	[17]

ACTG2, smooth-muscle actin isoform  $\gamma$ 2; COUP-TFII, chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor II; COX-2, cyclooxygenase-2; CYR61, cysteine-rich angiogenic inducer 61; DUSP2, dual-specificity phosphatase-2; EGR-1, early growth response protein-1; ESCs, endometrial stromal cells; FGF-9, fibroblast growth factor-9; JAM-A, junctional adhesion molecule A; KLF4, Kruppel-like-factor 4; MSI2, Musashi-2; OCT4, octamer 4; PAI-1, plasminogen activator inhibitor 1; PGE2, prostaglandin E2; SOX2, SRY-box 2; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; VEGFA, vascular endothelial growth factor-A.

いる miR-210 の役割について検討した [19]. 正常子宮内膜間質細胞に miR-210 を強制発現させ, gene expression microarray および Ingenuity Pathway Analysis を用いて, miR-210 によって発現調節を受ける標的遺伝子群の網羅的解析を行ったところ, protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 1 (PTPN1), signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 を介して, vascular endothelial growth factor (VEGF) をはじめとする因子を制御する signal pathway が抽出された. miR-210 の強制発現により, 正常子宮内膜間質細胞の細胞増殖と VEGF 産生は促進され, アポトーシスは抑制された. また STAT3 阻害剤は子宮内膜症間質細胞の細胞増殖と VEGF 産生を抑制し, アポトーシスを誘導した.

#### 終わりに

子宮内膜症における miRNA の研究は端緒にすぎたばかりである. しかし, これまでの研究から, miRNA の発現異常は子宮内膜症に特徴的な形質の獲得に深く関与していると考えられる. miRNA に関する研究は, 新たな視点から子宮内膜症の病態を解明する一助となると思われる. 現在, miRNA の機能を阻害する薬剤の開発が進んでいるが, 子宮内膜症の治療薬としても応用されることが期待される.

#### 文 献

- [1] Giudice LC et al. Endometriosis. *Lancet* 2004 ; 364 : 1789–1799
- [2] Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Endometriosis and infertility. *Fertil Steril* 2004 ; 81 : 1441–1446
- [3] Farquhar CM. Extracts from the “clinical evidence”. *Endometriosis*. *BMJ* 2000 ; 32 : 1449–1452
- [4] Bartel DP. MicroRNAs : genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004 ; 116 : 281–297
- [5] Pillai RS. MicroRNA function : multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA* 2005 ; 11 : 1753–1761
- [6] Engels BM et al. Principles and effects of microRNA-mediated post-transcriptional gene regulation. *Oncogene* 2006 ; 25 : 6163–6169
- [7] Burney RO et al. MicroRNA expression profiling of eutopic secretory endometrium in women with versus without endometriosis. *Mol Hum Reprod* 2009 ; 15 : 625–631
- [8] Ohlsson Teague EMC et al. MicroRNA-regulated pathways associated with endometriosis. *Mol Endocrinol* 2009 ; 23 : 265–275
- [9] Filigheddu N et al. Differential expression of microRNAs between eutopic and ectopic endometrium in ovarian endometriosis. *J Biomed Biotech* 2010 ; 2010 : 369549
- [10] Hawkins SM et al. Functional MicroRNA Involved in Endometriosis. *Mol Endocrinol* 2011 ; 25 : 821–832
- [11] Abe W et al. miR-196b targets c-myc and Bcl-2 expression, inhibits proliferation and induces apoptosis in endometriotic stromal cells. *Hum Reprod* 2013 ; 28 : 750–761
- [12] Braza-Boils A et al. MicroRNA expression profile in endometriosis : its relation to angiogenesis and fibrinolytic factors. *Hum Reprod* 2014 ; 29 : 978–988
- [13] Lin SC et al. Hypoxia-induced microRNA-20a expression increases ERK phosphorylation and angiogenic gene expression in endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; 97 : E1515–1523
- [14] Adammek M et al. MicroRNA miR-145 inhibits proliferation, invasiveness, and stem cell phenotype of an in vitro endometriosis model by targeting multiple cytoskeletal elements and pluripotency factors. *Fertil Steril* 2013 ; 99 : 1346–1355. e5
- [15] Shen L et al. MicroRNA23a and microRNA23b deregulation derepresses SF-1 and upregulates estrogen signaling in ovarian endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 ; 98 : 1575–1582
- [16] Hsu CY et al. miRNA-199a-5p regulates VEGFA in endometrial mesenchymal stem cells and contributes to the pathogenesis of endometriosis. *J Pathol* 2014 ; 232 : 330–343
- [17] Lin S-C et al. Suppression of COUP-TFII by Proinflammatory Cytokines Contributes to the Pathogenesis of Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 ; 99 : E427–437
- [18] Shi XY et al. Downregulation of miR-183 inhibits apoptosis and enhances the invasive potential of endometrial stromal cells in endometriosis. *Int J Mol Med* 2014 ; 33 : 59–67
- [19] Okamoto M et al. Enhanced miR-210 expression promotes the pathogenesis of endometriosis through activation of signal transducer and activator of transcription 3. *Hum Reprod* 2015 ; 30 : 632–641