

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

薄場 渉

専攻分野：腎泌尿器外科学

コース：

指導教授：力石 辰也

主論文の題目：

Circulating miRNA Panels for Specific and Early Detection in Bladder Cancer

(血清マイクロRNAを用いた判別式は膀胱癌を特異的かつ早期診断可能である)

共著者：

Fumihiko Urabe, Yusuke Yamamoto, Juntaro Matsuzaki, Hideo Sasaki, Makiko Ichikawa, Satoko Takizawa, Yoshiaki Aoki, Shumpei Niida, Ken Kato, Shin Egawa, Tatsuya Chikaraishi, Hiroyuki Fujimoto, Takahiro Ochiya

緒言

膀胱癌は世界で第9位の死亡率を占めるがんである。大きな問題点は再発率の高さであり、その発見には膀胱鏡、尿細胞診、超音波検査が用いられるが、侵襲度が大きい、精度が低いなどの欠点がある。そこで我々はリキッドバイオプシーとして近年がんのスクリーニングで有用性が報告がされている体液中microRNA (miRNA) に着目し、膀胱癌患者、健常者、他癌患者の血清を用いた新たな診断マーカーを探索する検討を行った。

方法・対象

392人の膀胱癌患者、100人の健常者、480人の膀胱癌以外の12個の癌腫の患者の血清を用いた。それぞれを2つのコホート(学習群、

検証群)に分けて解析の対象とした。miRNAの発現は2565のmiRNAを検出可能な3D-Gene® Human miRNA Oligo Chip(東レ株式会社)を用い、内因性コントロールとしてmiR-149-3p、miR-2861、miR-4463の平均値で補正し、標的とするmiRNAの発現量を求めた。本解析は主としてケース・コントロール研究デザインを用いており、ケース群を膀胱癌、コントロール群を膀胱癌以外とした。学習群にてそれぞれの集団内で50%以上のサンプルでシグナル値が安定している386個のmiRNAを選択し、ケース群とコントロール群でStudent's t-testにて有意差($p < 0.01$)のあるmiRNAを検出し、フィッシャーの判別分析を用いて膀胱癌とそれ以外を判別するのに有用な式の構築を求めた。検証群で求めた判別式の有用性を検証した。

なお本研究は国立がん研究センター(以下、NCC)(21-074, 2013-111)、国立長寿医療研究センター(以下、NCGG)(754)、東レ株式会社(HC2014-41, 44, HC2015-2, and 30)、横浜みのるクリニック(6019-18-3772)以上の生命倫理委員会の承認を得、包括的同意またはインフォームド・コンセントを得て血液を採取した。

結果

我々はフィッシャーの判別分析にて膀胱癌とその他を分ける判別式を見出した。その中でmiR-6087単独の発現を用いた判別式(diagnostic index = $(-2.47083) * \text{miR-6087} + 29.1765$)が膀胱癌を高い精度で検出できた(AUC: 0.88、感度: 93%、特異度: 79%)。また、miR-6087を含む7つのmiRNAを組み合わせる事でより高い精度を持った判別式(7-miRNA panel; diagnostic index = $(-2.21832) * \text{miR-6087} + (2.17809) * \text{miR-6724-5p} + (-1.04605) * \text{miR-3960} + (-1.57609) * \text{miR-1343-5p} + (0.202966) * \text{miR-1185-1-3p} + (0.203839) * \text{miR-6831-5p} + (-0.411172) * \text{miR-4695-5p} + 34.7121$)を見出した(AUC: 0.98、感度: 91%、特異度: 98%)。7つのmiRNAの発

現は miR-6087、miR-3960、miR-1343-5p は膀胱癌患者の血清で有意に低下し ($p < 0.01$)、miR-6724-5p、miR-1185-1-3p、miR-6831-5p は有意に上昇し ($p < 0.01$)、miR-4695-5p は発現に差はなかった。これら 7 つ miRNA の発現を検証するために 5 つの miRNA の発現を qRT-PCR 法でも確認をした。miR-6087、miR-1343-5p、miR-4695-5p は今回用いたマイクロアレイと同じ傾向を示した。膀胱癌とそれ以外で発現に差のある miR-6087 及び miR-1343-5p をマイクロアレイデータを用いて行った解析でも精度の高い判別式を見出した (the 2 confirmed miRNA panel ; diagnostic index = $(-2.49199) * \text{miR-6087} + (-1.14124) * \text{miR-1343-5p} + 40.6986$) (AUC : 0.88、感度 : 93%、特異度 : 79%)。更に膀胱癌患者のみで解析をすると、3 つの判別式は低悪性度の膀胱癌及び筋層非浸潤性膀胱癌を検出でき、早期診断が可能である事が分かった。

考察

今回我々は血清サンプルを用いて、膀胱癌を高い精度で特異的かつ早期診断可能な判別式を見出した。しかし、今回用いたサンプルはがん患者は全て NCC であるのに対し、健常者は NCGG であり、採取時期、施設間の違いから miRNA の発現量に差が出る可能性があり、統一した方法で前向き研究を行う必要がある。

結論

今回我々は血清 miRNA を用いて、侵襲度が少なく膀胱癌を特異的かつ早期に診断出来る判別式を構築した。