

論文内容の要旨

論文提出者氏名 川口 耕

論文題目

Clinical impact of circulating miR-221 in plasma of patients with pancreatic cancer.

論文内容の要旨

近年の早期診断技術、治療技術の進歩により様々な癌種において治療成績が著しく改善している。しかし進行癌の治療成績向上は未だ克服すべき重要な課題である。特に膵癌等の難治癌に対しては、外科的切除術や化学放射線療法を含めた集学的治療を効率よく過不足のないように実施することが予後改善に極めて重要である。しかしながら、膵癌においては既存の術前画像診断による正確な進行度診断が未だ困難であり(Gress FG et al. *Gastrointest Endosc.* 1999, DeWitt J et al. *Ann Intern Med.* 2004, Soriano A et al. *Am J Gastroenterol.* 2004, John TG et al. *World J Surg.* 1999), 開腹所見で非切除因子が同定される症例や術後早期に遠隔転移再発を来す症例も少なからず存在する。従って膵癌診療において正確な術前診断、特に切除・非切除の判断が可能となれば、患者個々の病態に応じたより適切な集学的治療計画が可能となる。しかし、膵癌の悪性度や病期診断の指標となる臨床応用可能なバイオマーカーは未だ同定されていない。

申請者らは、担癌患者の末梢血液中に腫瘍組織から遊離した癌細胞以外に、遊離した核酸も比較的安定した状態で存在していることに注目した。そして、この分野での臨床応用を目指して血中遊離核酸を指標としたバイオマーカー探索を行い、その有用性を報告してきた (Takeshita H et al. *Br J Cancer.* 2010 他)。最近では、ヒトゲノムでは 4000 種類以上同定されている短鎖型 non-coding RNA である microRNA に注目した(He L et al. *Nature.* 2005)。microRNA は長さ 20~25 程度のヌクレオチドからなる短鎖 RNA で、転写・翻訳レベルで遺伝子発現を制御し、正常な細胞増殖の制御と癌の発生・進展両方において重要な役割を果たしていると考えられている。様々な癌種での発現解析から、癌特異的な microRNA の発現異常も報告されている。また、最近では、microRNA は血清・血漿中でエクソソームなどのマイクロベジクルに封入され、或いは、Ago2、HDL に代表される血中のタンパク質と結合して極めて安定した状態で存在することも明らかとなっている。われわれは、胃癌・食道癌・膵癌等の消化器癌患者血漿中での腫瘍由来の遊離 microRNA の定量的解析が安定して可能であることを報告してきた (Tsujiura M et al. *Br J Cancer.* 2010, Komatsu S et al. *Br J Cancer.* 2011, Morimura R et al. *Br J Cancer.* 2011)。また、一部の癌関連 microRNA が癌存在診断、モニタリング診断、再発時診断、悪性度・予後予測診

断に有用であることを報告してきた (Ichikawa D et al. *Gastroenterology* 2012, Komatsu S et al. *Expert Opin Biol Ther* 2012, Konoshi H et al. *Br J Cancer* 2012, Kawaguchi T et al. *Br J Cancer* 2013, Hirajima S et al. *Br J Cancer* 2013)。今回、これまでわれわれが蓄積してきたバイオリソース、解析技術を基盤に、特に膵癌血中の新規バイオマーカーとしての microRNA-221 (miR-221)を同定したので報告する。

癌関連 microRNA としての報告がある microRNA の中で、膵癌組織および膵癌細胞株で高頻度に高発現の報告を認める miR-221 (PNAS 2006, *Int J Cancer* 2009, *Oncogene* 2007, *JAMA* 2007) に注目した。まず、14 症例の膵癌切除組織、6 種類の膵癌細胞株で正常膵組織に比べて miR-221 が有意に高発現していることを確認した ($p=0.0053, 0.0194$)。つぎに膵癌治療患者 47 症例と健常人 30 例の血漿中の miR-221 の定量的発現解析を行ったところ、膵癌患者血漿中の miR-221 濃度は、健常人と比べ有意に高値であった ($p<0.0001$)。ROC 曲線で AUC は 0.758 であった。同時に、膵癌組織中で低発現の報告がある miR-375 の膵癌患者血漿中濃度を測定したところ、膵癌患者血漿中の miR-375 濃度は健常人と比較し低い傾向であった ($p=0.092$)。さらに miR-221/miR-375 比を併用すると、膵癌患者 miR-221/miR-375 比は健常人のそれと比較し有意に高値であることが明らかとなった ($p<0.0001, AUC=0.762$)。また膵癌患者血漿中 miR-221 高発現症例では膵癌組織でも miR-221 高発現を認め、膵癌術後患者の血漿中 miR-221 濃度は、術前に比べ有意に低下していた ($p=0.0183$)。臨床病理学的因子との相関解析では、術前血漿中 miR-221 高濃度症例で有意に遠隔転移 ($p=0.041$)、肉眼的非治癒切除症例 ($p=0.021$) が多かった。以上の結果より、膵癌患者血漿中の miR-221 は、遠隔転移の有無、切除の可否予測を非侵襲的に可能とし、予後不良な膵癌患者の治療方針決定に寄与する次世代のバイオマーカーとして有望であると考えられた。