

論文内容の要旨

論文提出者氏名 岡島 航

論文題目

Circulating microRNA profiles in plasma: identification of miR-224 as a novel diagnostic biomarker in hepatocellular carcinoma independent of hepatic function.

論文内容の要旨

肝細胞癌（肝癌）は全世界で主要な癌死の原因であるが、未だその予後は不良である。従来、発癌素因として肝炎ウイルスの持続感染が知られており、肝癌の予防として、肝炎ウイルスの感染予防、持続感染者の発癌予防が行われてきた。しかし近年では発癌原因として、過剰な飲酒、肥満や糖尿病といった生活習慣病による慢性肝炎が増加しており、リスク因子を有する患者は増加し、スクリーニング対象とする患者の絞り込みが困難となっている。現在、肝癌診療において早期診断や病期診断の指標となる臨床応用可能な非侵襲的バイオマーカー候補の同定が望まれている。

microRNAは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。今回申請者らは、肝癌において臨床応用の可能性の高い新規バイオマーカー候補を開発するため、NCBIデータベースのbig dataよりsystematic reviewの手法により血漿中miR-224を同定し、多様化する背景肝において、肝機能に拠らず鋭敏な診断能を有することを示した。

まずNCBIデータベースより、肝癌、microRNAに関連する報告を狩猟し、124個の候補microRNAを同定した。その上で、癌組織での高発現が充分検証されており、oncogenicな働きを有し、体液中での既報がなく、報告頻度の高い4つの新規血漿microRNA候補(miR-151, 155, 191, 224)を選出した。次に小規模コホート(肝癌患者20症例、健常人20症例)において、候補microRNAを定量的RT-PCRにより解析した結果、全ての候補microRNAが肝癌患者血漿中で健常人と比し有意に高い発現を示し、背景肝の影響を受けず、最も大きな差を認めたmiR-224を最終候補とした。肝癌組織および肝癌細胞株におけるmiR-224の発現上昇を確認した上で、大規模コホートによる検証を行った。肝癌患者87症例と健常人55症例を比較すると、肝癌患者血漿でのmiR-224発現は健常人に比し有意な上昇を認め、ROC曲線を用いた解析における診断精度の解析ではAUCは0.908であり、感度93.1%、特異度80.0%、正診率88.0%と、既存の血清血液腫瘍マーカーに比し極めて良好であった。大規模コホートの症例はハイボリュームセンター2施設からサンプルを収集しており、施設毎の解析でも同様の結果を示し、極めて高い信頼性が得られているものと考えられた。

次に、臨床病理学的因子との相関解析を行った。血漿中miR-224の発現は既存の血清腫瘍マーカーと相関を認めず、肝癌の診断において相補的な使用が可能と考えられた。また、肝機能を示唆する種々の臨床指標と相関を認めず、血漿中miR-224発現は背景肝に拠らず健常人より有意に高値であった。さらに肝疾患を有し肝臓内科通院中で、既存のmodalityにより肝癌が確認されていない27症例と、肝癌症例において、肝機能を揃え血漿中miR-224の発現を比較すると、軽度の肝機能異常、重度の肝機能異常のいずれにおい

ても、鋭敏な診断能を有することが示された。以上より、血漿中 miR-224 は、肝機能から独立し、あらゆる背景肝において診断に有用なバイオマーカー候補であることが明らかとなった。

更に、ペアサンプルにより血漿中と組織中の miR-224 の発現を比較すると、両者は有意に相関し、肝癌術後患者の血漿中 miR-224 発現は術前血漿に比べ有意に低下しており、血漿 miR-224 は肝癌の組織量及び腫瘍動態を鋭敏に反映することが明らかとなった。一方、血漿中 miR-224 は、腫瘍径、再発率と相関を認め、肝癌の進行度、悪性度との関連が示唆された。しかし、早期の癌（本邦の規約でのステージ I）に限定した解析でも、鋭敏な診断能（AUC=0.888）を有し、微小な癌の存在診断にも有望であると考えられた。そこで、経皮的エタノール注入療法や、肝動脈化学塞栓療法等の非手術治療を先行した後に肝切除を施行した症例において、肝切除前の血漿を収集した。切除標本で病理学的な癌遺残を認める症例では、病理学的に癌を認めない症例に比し、血漿中 miR-224 発現が有意に高値であった。現在、肝癌診療において、非手術療法の治療効果判定は、画像診断や既存のマーカーを用いても比較的困難な場合が多いが、血漿中 miR-224 の発現を評価することで、残存腫瘍の量や遺残を評価できる可能性がある。少数での解析であり、更に症例を蓄積する必要があるものの、今後、臨床的な治療選択において、血漿 miR-224 は治療の効果判定や補助診断を可能とする新たなバイオマーカー候補である可能性が示唆された。

以上より血中遊離 miR-224 は、肝癌診療において今後の臨床応用の可能性は高いと考えられる。