

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 宮前 真人

### 論文題目

Plasma microRNA profiles: identification of miR-744 as a novel diagnostic and prognostic biomarker in pancreatic cancer.

### 論文内容の要旨

膵癌は本邦において癌関連死の5位を占め、既存の術前画像診断による早期診断、正確な進行度診断が困難であるため未だ極めて予後不良の癌種である。膵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、膵癌において臨床応用の可能性の高い新規 biomarker 候補を開発するために血漿中のmicroRNAのマイクロアレイを用いた網羅的解析を行い、血漿中 miR-744 を膵癌におけるスクリーニング、病勢診断、予後予測、化学療法感受性診断における臨床応用可能な新規バイオマーカーとして同定した。

まず、microRNA マイクロアレイによる膵癌患者血漿と健康人血漿の比較を行った。検出可能であった1719個の血漿中microRNAにおいて、膵癌患者において発現上昇を認めたものは262個であり、発現上昇割合が上位20位以内でかつ癌遺伝子的作用が報告されている6つの新規血漿microRNA候補(miR-615-5p, -744, -575, 675, -550a)を同定した。次に小規模コホートで候補microRNAを定量的RT-PCRにより解析し、膵癌患者血漿中で発現が上昇していたmiR-744を最終候補とした。miR-744は、膵癌組織および膵癌細胞株で発現が上昇し、膵癌術後患者の血漿中miR-744発現は術前に比べ有意に低下していた。また、血漿中miR-744発現レベルは上皮内癌から浸潤癌へと段階的に上昇する傾向が見られた。膵癌患者94症例と非膵癌患者68症例の比較では、膵癌患者血漿でのmiR-744発現の有意な上昇を認め、ROC曲線を用いた解析における診断精度の解析ではAUCは0.8307であり、感度59.3%/特異度89.6%、正診率72.2%と既存の血液腫瘍マーカーに比して極めて良好であった。

臨床病理学的因子との相関解析において、血漿中miR-744発現レベルは壁深達度および不良な予後と相関した。特に、根治的切除を行った膵癌症例においては、独立した予後規定因子として選択され、そのハザード比は21.1倍となった。また、血漿中miR-744発現レベルの上昇は、Gemcitabine ベースの化学療法を行った切除不能進行膵癌における不良な無増悪生存期間と相関する傾向も認めた。膵癌細胞株 KP4-1

でmiR-744と抗癌剤耐性の関連を評価したところ、Gemcitabine存在下での細胞生存率はコントロール群と比較しmiR-744の過剰発現により上昇した。

近年、いくつかの研究グループから膵癌患者における診断バイオマーカーとして血漿中microRNAの有用性が報告されているが、膵癌患者予後との相関を報告されているものはmiR-21, miR-1290, miR-486, and miR-196aの4報しか存在せず、化学療法抵抗性に関連した報告はmiR-21の1報のみである。今回申請者らが、microRNAマイクロアレイを用いたGenome-wideな網羅的探索により候補として同定した血漿中miR-744発現レベルは、膵癌患者と健康人の比較において既存の血液腫瘍マーカーに比して良好な診断精度を示した。そのうえ膵癌組織や膵癌細胞株での上昇や膵癌患者術後血漿での発現低下を示し、臨床において極めて有望な新規バイオマーカー候補と考えられた。膵癌の早期診断に関しては、当教室で同定したmiR-18aのように早期の診断感度の極めて高いものが報告されているが、miR-744はより進行した症例で上昇する傾向を認めるという点において既報のmicroRNAと異なる特徴を有しており、これら既報のmicroRNAとの組み合わせで診断精度の向上が期待できると考えられた。さらに、血漿中miR-744の高発現は膵癌切除症例における独立した予後規定因子となるとともに、Gemcitabine ベースの化学療法を行った非切除症例における無増悪生存期間との相関関係が示唆され、手術適応の決定や抗がん剤の選択といった臨床的な治療選択において、極めて有望なバイオマーカー候補と考えられた。最後に、少数例での解析ではあるものの血漿中miR-744発現は、膵IPMNにおいて上皮内癌から浸潤癌にいたる悪性度の上昇と相関する可能性が示唆され、この分野におけるバイオマーカーとしても有望性が示唆された。

以上より、血中遊離miR-744は膵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。