

学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 臨床医学系講座 消化器内科学分野	氏 名	よしざわ なおひこ 吉澤 尚彦
-----	--	-----	--------------------

主論文の題名

miR-3940-5p/miR-8069 ratio in urine exosomes is a novel diagnostic biomarker for pancreatic ductal adenocarcinoma

主論文の要旨

膵癌は早期診断が困難な癌で未だ予後不良な疾患である。膵癌の診断バイオマーカーとしては carbohydrate antigen (CA) 19-9 が最も一般的に使用されているが、無症状の患者では陽性的中率は非常に低く、他の消化器癌、卵巣腫瘍、閉塞性黄疸などで上昇するとの報告があり、診断に有用とは言えない。

最近の研究では多くの種類の癌細胞がそれぞれ固有の microRNA(miRNA)を産生していることが明らかになってきており、癌のバイオマーカーとしての miRNA の有用性が広く研究されている。膵癌においても血液、膵組織、膵液でも miRNA の発現パターンが特異的に変化していることが示されている。

miRNA をバイオマーカーとして用いる利点の一つは安定性である。miRNA はエクソソームに包埋され細胞外に放出されるため、内因性 ribonuclease 活性に耐性を有する。またエクソソームはドナー細胞と比較して miRNA の含有量が数百倍に濃縮されているとされる。尿エクソソーム中の miRNA は特に泌尿器癌のバイオマーカーとして研究されているが、泌尿器以外の疾患にも関与する可能性が指摘されている。

今回我々は低侵襲で簡便に採取できる尿検体を用いて尿中エクソソームに含まれる膵癌の新規診断バイオマーカーとして有用な miRNA を探索した。

2015 年 10 月～2017 年 2 月の三重大学医学部附属病院に入院した膵癌および慢性膵炎患者を本研究の対象とした。重複癌患者は除外した。また膵疾患および癌既往歴のない患者をコントロールとした。

尿検体からエクソソームを単離し、miRNA を抽出した。先行研究として膵癌 9 例および年齢・性別をマッチさせたコントロール 7 例を用いてマイクロアレイにより miRNA 発現の網羅的発現解析を行い、尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比を膵癌の新規バイオマーカー候補として同定した。尿中に排泄されるエクソソーム中の miRNA の発現量は非常に低く、従来の Reverse Transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR) 法では正確な定量が困難であったため、以下の検討は 3D デジタル PCR 法を用いて施行した。

培養細胞では、培養上清のエクソソーム中の miR-3940-5p/miR-8069 比は、他の非

膵癌細胞株 (HuH-7, HepG2, SW480, HuCCT1, KATOIII) と比較して 2 つの膵癌株 (PANC-1, MIA PaCa-2) で有意に高かった ($p < 0.001$)。

また膵癌患者の尿中、血中エクソソームの miR-3940-5p/miR-8069 比は尿中でより高かった。さらに尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比の検討を膵癌 43 名、慢性膵炎 12 名、コントロール 25 名を対象に行った。ステージ IV 患者は膵癌患者全体の 46.5% で、tumor, nodes, metastasis (TNM) 分類上の Tumor size (T) 4 患者は 44.2% で、本研究の膵癌患者には進行例が多く含まれていた。膵癌群における尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比は、コントロール群 ($p < 0.001$) および慢性膵炎群 ($p < 0.001$) のいずれと比較しても有意に高かった。膵癌の進行度別の分析では、T4 およびステージ IV 患者の尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比は、コントロール群および慢性膵炎群と比較して有意に高かったが、統計的には有意でないものの T1 およびステージ I 患者でも尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比が上昇する傾向にあった。膵癌の比較的早期から尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比の発現量が増加する可能性が示唆された。

尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比を CA19-9 と組み合わせて膵癌の診断を行ったところ、いずれかが陽性の場合感度は 93.0%、陽性的中率は 78.4% に向上した。さらに両者とも陽性であれば陽性的中率は 100% に上昇した。また両者が陰性の場合陰性的中率も 89.7% に改善した。よって尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比は、単独で使用するより特に CA19-9 と組み合わせることで膵癌診断に有効なツールとなりうる可能性が示唆された。

miR-3940-5p の発現量増加の生物学的関連性、尿エクソソーム中の miR-3940-5p/miR-8069 比と膵癌の予後との関係や膵癌治療後の変化については今後の更なる検討が必要であるが、膵癌患者では尿エクソソーム中 miR-3940-5p/miR-8069 比が上昇し、特に CA19-9 と併用することで膵癌診断ツールとして有効である可能性が示唆された。