

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659286

研究課題名（和文）血中の microRNA 測定による腎癌及び前立腺癌患者の鋭敏かつ簡潔な診断法の確立

研究課題名（英文） Establishment of diagnosis of renal and prostate cancer by analysis of the expression of microRNAs in blood.

研究代表者 大庭 成喜 (SHIGEYOSHI OBA)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80361492

研究成果の概要（和文）：

当所属機関・部局に入院された腎癌患者様 20 名と正常対照者 20 名の血液中の microRNA の発現量を網羅的に測定し 2 群間の比較を行った結果、20 種類の microRNA が 2 群間で有意な発現量の差が認められた。上記で得られた 20 種類の microRNA 中でも 9 個の microRNA に関しては 2 群間での発現量の差が際立っていた。その 9 つの microRNA のそれぞれの cut off 値を設定してスコアリングすることで感度、特異度ともに 70 から 80% を超える診断基準の設定に成功した。さらに新たに正常対照者 3 名と腎癌患者 3 名の血液中の microRNA を分析した結果、特に有意差にえられた 9 個の microRNA のうちの一つの microRNA に関しては腎癌患者で低下している傾向が確認出来た。

研究成果の概要（英文）：

We compared the expression of microRNAs in blood of normal control and renal carcinoma patients. The result is that 20 microRNAs were predominantly dysregulated in renal carcinoma patients. Among 20 microRNAs, 9 microRNAs were more predominantly dysregulated. By scoring the expression of 9 microRNAs, we could establish new diagnosis method with over 70%-80% sensitivity and specificity. Then we compared the expression of 9 microRNAs between new 3 normal control and 3 renal carcinoma patients. One microRNA tent to decrease in renal cell carcinoma patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	0	1,500,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	390,000	3,190,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科

キーワード：腫瘍学、microRNA

1. 研究開始当初の背景
 現在腎癌を診断出来る腫瘍マーカーは有意

なもの無く、前立腺癌の腫瘍マーカーとして使用されている PSA についても特異性に

問題がある。

2. 研究の目的

上記のような背景の中でより簡便で正確に腎癌、前立腺癌の診断が出来る診断法の開発が望まれている。本研究では、最新の研究で存在が明らかとなった microRNA を用いた腎癌及び前立腺癌の新しい診断法の開発を目的としている。

3. 研究の方法

東京大学医学部附属病院泌尿器科に腎癌、前立腺癌の疑いで入院された患者のうち、手術あるいは生検検査で確定診断が得られた患者と、性別、年齢を合致させた対照者から血液検体 2.5ml をバックスジーン RNA 採血管(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社製)を用いて採取し、total RNA を抽出する。採取した RNA を microarray のシステムを使用して microRNA の microarray 分析を行い、各群の患者で特異的に発現亢進あるいは減弱している microRNA の検出を行う。腎癌、前立腺癌患者での microRNA データベースは匿名化の後、febit 社と共同で組織管理している疾患発現 microRNA データベースへ追加するとともに、腎癌、前立腺癌患者以外の悪性疾患患者様で発現亢進あるいは減弱している microRNA との比較検討を行っていく。

4. 研究成果

当所属機関・部局に入院された腎癌患者様 20 名と正常対照者 20 名から血液を日本ベクトン・ディッキンソン社のバックスジーン RNA 採血管に採取し、キアーゲン社の miRNeasy Kit を用いて RNA の抽出を行った。2 群間では性別、年齢で出来るだけ有意な差が出ないように配慮した。それぞれの患者、正常対照者から採取した RNA 検体を Febit 社の microRNA microarray システムを利用

して microRNA の発現量を網羅的に測定し 2 群間の比較を行った。その結果、20 種類の microRNA (miR-1182, miR-1224-5p, miR-1250, miR-1268, miR-1275, miR-1293, miR-20a, miR-2861, miR-296-3p, miR-3141, miR-3147, miR-3154, miR-3652, miR-3679-5p, miR-3689a-3p, miR-423-5p, miR-4258, miR-595, miR-608, miR-658, miR-765) が 2 群間で有意な発現量の差が認められた。この 20 種類の microRNA に関して、microRNA microarray 分析で使用した残りの RNA を使用して real-time PCR 法の変法である Applied biosystems 社の microRNA assays 法を行うことで microRNA の発現量の有意差が確認出来た。上記で得られた 20 種類の microRNA 中でも 9 個の microRNA (miR-1268, miR-1275, miR-3147, miR-3652, miR-3689a-3p, miR-4258, miR-608, miR-765) に関しては $p < 0.01$ と 2 群間での発現量の差が際立っていた。その 9 つの microRNA のそれぞれの cut off 値を設定してスコアリングすることで感度、特異度ともに 70 から 80% を超える診断基準の設定に成功した。腎癌患者の進行度や組織型と microRNA の発現量の関連の分析を行ったが、検体数の問題から相関が見られる microRNA の同定には至らなかった。またこれまでの英文論文報告から特に有意差の大きかった 9 種類の microRNA と癌に関連において標的蛋白質の報告がないかどうか検索を行ったが、明確な標的蛋白質の報告は無かった。確立した診断法の有効性を評価する目的で、新たに正常対照者 5 名と腎癌患者 6 名の血液検体を採取した。採取した検体から RNA を採取したところ 0.1mg/ml 以上の濃度で回収できた検体が正常対照者 3 名、腎癌患者 3 名であった。この 6 検体に関して新たに microRNA microarray 分析を行った。その結果、特に有意差にえられた 9 個の microRNA のうちの 8 個の microRNA (miR-1268, miR-3147, miR-3652, miR-3689a-3p, miR-4258, miR-608, miR-765) に関しては腎癌患者で減少する傾向も

確認出来なかったが、miR-1275 に関しては有意差までは得られなかったが腎癌患者で低下している傾向が確認出来た。

5. 主な発表論文等
無

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

〔その他〕

無

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大庭 成喜 (SHIGEYOSHI OBA)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 : 80361492

(2) 研究分担者 無

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者 無

()

研究者番号 :