

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：13802  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23790788  
 研究課題名（和文）大腸がんにおける糞便と血清マイクロ RNA の変化の検討とその診断への応用  
 研究課題名（英文） MicroRNA expressions in stool and serum of patients with colorectal cancer and its application to diagnosis  
 研究代表者  
 栗山 茂（KURIYAMA SHIGERU）  
 浜松医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：90596446

研究成果の概要（和文）：miR-19a、miR-20a、miR-21、miR-92a、miR-106a について糞便中の発現を検討した。対象は 138 人の大腸がん と 26 人の進行腺腫、126 人の健常者で、また同一便で単回の免疫学的便潜血法と比較をした。5 つの miRNA において大腸がん群と進行腺腫でそれぞれ健常群より有意に発現が亢進していた。糞便中の 5 つの miRNA マーカーを組み合わせた感度は、大腸がん全体では便潜血検査より低かったが (60.9% vs. 66.7%,  $P=0.32$ )、進行腺腫と Stage 0 と I を合わせた早期の腫瘍群では便潜血検査を上回った (51.4% vs. 33.3%,  $P=0.03$ )。糞便中の miRNA 検査は早期大腸がんスクリーニング検査としての可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the fecal expression of miR-19a, miR-20a, miR-21, miR-92a and miR-106a for 138 patients with colorectal cancer (CRC), 26 patients with advanced adenoma (AA) and 126 control subjects, and compared fecal miRNA assay with a single FIT on same stool samples. Fecal miR-19a, miR-20a, miR-21, miR-92a and miR-106a expressions were significantly higher in CRC and AA than in control. The overall sensitivity of the multi-panel of fecal miRNAs was lower than that of FIT in CRC (60.9% vs. 66.7%,  $P=0.32$ ). However among subjects with AA, stage 0 and stage I, the sensitivity of the multi-panel of fecal miRNAs was significantly higher than that of FIT (51.4% vs. 33.3%,  $P=0.03$ ). Fecal multi-markers miRNA panel may be useful for screening of colorectal early tumors.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：マイクロ RNA、大腸がん、糞便

## 1. 研究開始当初の背景

近年、蛋白質をコードしない non-coding RNA が遺伝子発現の様々な段階で機能、制御していることが判明し、その一種である microRNA (miRNA) による転写後制御あるいは翻訳制御機構が急速に明らかにされている。またがんにおいて miRNA が発がん・進展あるいは予後との関連を示唆する報告が急増している。また研究協力者らは、糞便から抽出した RNA を用い COX-2, MMP-7 mRNA 発現を解析する大腸がん診断法 (糞便 RNA 検査) を開発し、その有用性を報告してきたが、方法の改良で miRNA の抽出も可能となった。またこれまで同一症例を用いて血清や糞便での miRNA 発現の解析及び便潜血検査と比較検討した報告はなかった。

## 2. 研究の目的

大腸がんにおいて様々な miRNA の調節異常を認め、血清や糞便を用いてその変化を検出するがん診断が試みられている。しかしこれまでの報告はまだ少数で、また現在の大腸がん検診の方法である便潜血検査 (FOBT) と便中 miRNA の両者を同一コホートで行った検討はない。そこで同一コホートを用いてまず糞便での miRNA の変化を検討し大腸がん診断能を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

大腸がん組織で発現亢進が報告されている miR-19a、miR-20a、miR-21、miR-92a、miR-106a について糞便中の発現を検討した。対象は大腸がん 138 人と大きさ 1 cm 以上の進行腺腫 26 人と健常者 126 人で、糞便 0.5 g より miRNA を含む total RNA を抽出し

TaqMan Micro RNA assay を用いて qRT-PCR を行った。また各合成 miRNA を用いて検量線を作成しコピー数を算出した。また同一便で単回の免疫学的便潜血法 (FOBT) と比較をした。

## 4. 研究成果

5 つの miRNA の発現は、大腸がん群と進行腺腫でそれぞれコントロール群より有意に発現が亢進していた。それぞれの miRNA のカットオフ値をコントロールの 97.5 percentile に設定すると、miR-19a の感度/特異度は 32.6%/97.6%、miR-20a は 41.3%/98.4%、miR-21 は 39.9%/96.8%、miR-92a は 44.9%/97.6%、miR-106a は 37.7%/99.2%であった。それに対して FOBT は 66.7%/98.4%でありそれぞれの miRNA の感度に比べ有意に高かった。5 つの miRNA を組み合わせると 59.8%/92.9%であった。進行腺腫と Stage 0、Stage I の早期の腫瘍群では miRNA 5 マーカーの組み合わせでは感度 51.4%に対して FOBT は 33.3%で、5 マーカーを組み合わせた miRNA の感度が有意に高かった ( $P=0.03$ )。Stage II から IV の進行群では miRNA 5 マーカーで感度 66.3%に対して FOBT 83.6%で FOBT の方が有意に高かった ( $P=0.01$ )。

以上より糞便中の便中 miRNA の発現は大腸がん全体では FOBT を上回ることが出来なかったが、FOBT の感度が比較的低い早期の腫瘍では、5 つの miRNA の組み合わせが有意に高い感度を得ることができた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 7 件）

- ① Shigeru Kuriyama, Yasushi Hamaya, Takanori Yamada, Mitsushige Sugimoto, Satoshi Osawa, Ken Sugimoto, Hiroaki Miyajima, Shigeru Kanaoka: Fecal microRNA plus COX-2 mRNA Assays as a Marker for Colorectal Cancer Screening, DDW2013, May 18. 2013, Orland
- ② 栗山 茂、金岡 繁、岩泉守哉、濱屋 寧、山田貴教、杉本光繁、大澤 恵、杉本 健：糞便中の COX-2 mRNA と microRNA の発現を組み合わせた Fecal RNAs test による大腸がん診断の可能性 第 9 回日本消化管学会総会 2013 年 1 月 25 日 東京
- ③ 栗山 茂、金岡 繁、濱屋 寧、山田貴教、杉本光繁、大澤 恵、杉本 健：糞便中の COX-2 mRNA と microRNA の発現を組み合わせた Fecal RNAs test の大腸がんスクリーニングの現状と展開にむけて 第 54 回消化器病学会大会 (JDDW2012) 2012 年 10 月 13 日 神戸
- ④ 栗山 茂 金岡 繁 濱屋 寧：糞便マイクロ RNA の大腸がんスクリーニングマーカーとしての可能性 第 51 回 日本消化器がん検診学会総会 2012 年 6 月 1 日 熊本
- ⑤ 栗山 茂、金岡 繁、濱屋 寧、山田貴教、杉本光繁、大澤 恵、杉本 健：糞便中の microRNA 発現を指標にした大腸がん診断の可能性 第 98 回日本消化器病学会総会 2012 年 4 月 19 日 東京
- ⑥ 栗山 茂、金岡 繁、濱屋 寧、山田貴教、杉本光繁、大澤 恵、杉本 健：大腸がん患者における糞便中 microRNA 発現の検討：大腸がんスクリーニング検査

を目指して 第 53 回日本消化器病学会大会 (JDDW2011) 2011 年 10 月 福岡

- ⑦ Shigeru Kuriyama, Yasushi Hamaya, Takanori Yamada, Mitsushige Sugimoto, Satoshi Osawa, Ken Sugimoto, Hiroaki Miyajima, Shigeru Kanaoka: Fecal microRNA Assays as a Marker for Colorectal Cancer Screening, DDW2012, May 22. 2012, San Diego

〔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〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

栗山 茂 (KURIYAMA SHIGERU)  
浜松医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90596446

### (2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし