

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15956

研究課題名(和文)尿中長鎖ノンコーディングRNAによる無侵襲大腸癌早期診断バイオマーカーの開発

研究課題名(英文)Development of non-invasive biomarker to detect colorectal cancer using urinary long non-coding RNA

研究代表者

岩崎 弘靖 (Iwasaki, Hiroyasu)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：30867627

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文):尿中long noncoding RNA(lncRNA)による大腸癌診断バイオマーカーの樹立を目指し、まずは、RNAシーケンスによる網羅的解析をおこない、正常組織と比較し大腸癌組織で異常発現をきたすlncRNAを複数抽出した。しかしながら、尿中で検出可能なlncRNAは限定的であり、最終的に大腸癌早期診断のバイオマーカー候補となる3種類の尿中lncRNAを抽出したが、多数例コホートにおける解析では、バイオマーカーとして実用化可能な尿中lncRNAを見出すことはできなかった。しかしながら、本研究の副産物として、尿中lncRNA以外の別の尿中バイオマーカーを同定しその有意性を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

尿中long noncoding RNA(lncRNA)をパネル化することによる大腸癌診断バイオマーカーの樹立を目指し、本研究をすすめた。大腸癌患者の尿中で異常発現をきたす複数のlncRNAは同定したものの、残念ながら実用化にいたるような高い水準の尿中lncRNAバイオマーカーを樹立するに至らなかった。しかしながら、本研究の副産物として、大腸癌診断を可能とする別の尿中バイオマーカー因子を見出したため、今後の実用化が期待される。

研究成果の概要(英文): In order to establish diagnostic biomarkers using urinary long noncoding RNA (lncRNA) for colorectal cancer (CRC), we performed comprehensive analysis with RNA sequence, which identified several lncRNAs with aberrant expression between normal tissues and CRC tissues. Since urinary expression levels of lncRNAs were relatively low, only 3 urinary lncRNAs were finally selected as biomarker candidates for early diagnosis of CRC. However, the significance of these biomarkers were limited in a large sample cohort.

On the other hand, another urinary biomarker instead of urinary lncRNA was identified as a potential biomarker in the present study, and we confirmed the significance in another independent cohort.

研究分野：消化器内科

キーワード：バイオマーカー 大腸癌 尿

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、大腸癌検診の現場で使用される便潜血法は、早期癌の感度が低いこと、偽陽性率が高いこと、および検体の扱いが煩雑であることが問題である。さらに、臨床現場でしばしば使用されるCEAやCA19-9などの血清腫瘍マーカーは、感度が極めて低く大腸がんの診断マーカーとしての使用は推奨されていない。申請者は、自宅で無侵襲に採取可能な尿検体を使用し、ノンコーディングRNAであるmicroRNA(miRNA)を用いた、複数の消化器癌の早期診断を可能とする尿中バイオマーカーを開発し、特許出願を行ってきたが、その精度にはまだ改善の余地がある。本研究は、miRNA以上に多様な遺伝子調節機能をもつ長鎖ノンコーディングRNA (lncRNA) を用いた、尿中lncRNAによる早期大腸癌診断バイオマーカーの開発を目指した斬新な研究である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、無侵襲に採取可能な尿検体を使用し、尿中のlncRNAの発現を解析することにより大腸癌診断を可能にする非侵襲バイオマーカーを樹立することである。過去に大腸癌組織あるいは血清中のlncRNAを使用し、予後予測あるいは診断バイオマーカーを樹立する試みはなされているが、尿中のlncRNAを使用したものは存在せず、新規性は極めて高い。

3. 研究の方法

本研究では、年齢・性別をランダムにマッチさせた健常者・ステージ0-III大腸癌患者：376例を抽出、それらをランダムに RNAシーケンスによる網羅的解析コホート40例（健常者：20例、大腸癌患者：20例）、定量PCRによるトレーニングセット226例（各群：113例）、定量PCRによるバリデーションセット110例（各群：55例）の3群に分類し解析を行った。

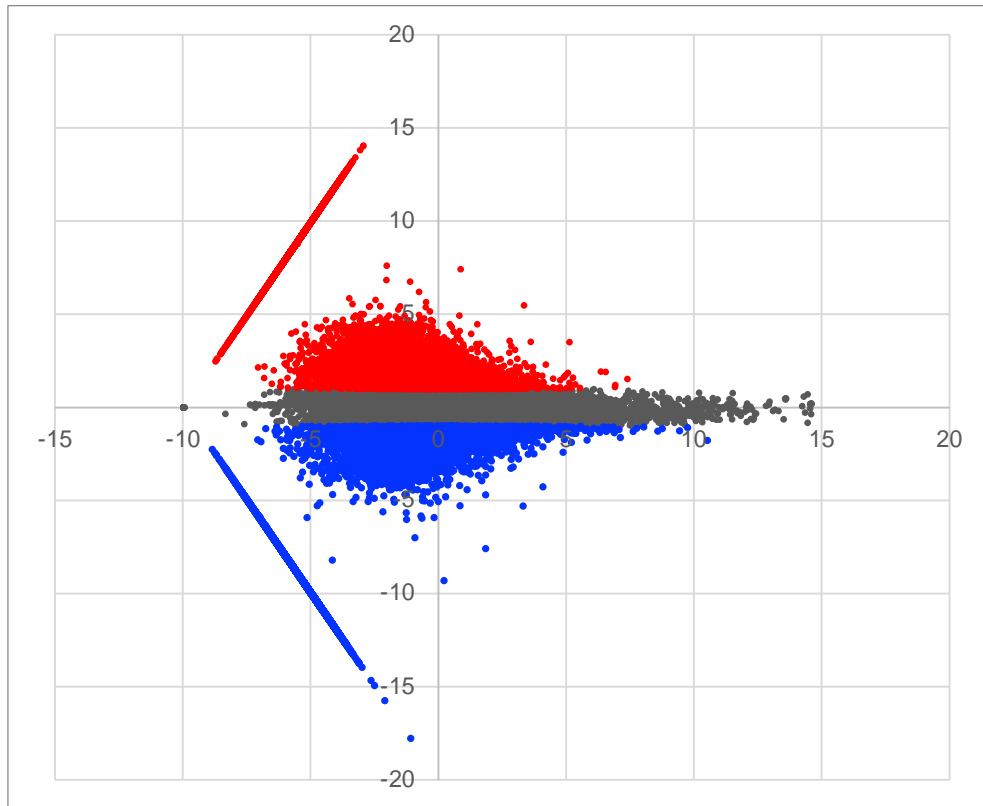
4. 研究成果

尿中からRNAを抽出し、網羅的解析を複数回施行したが、検体による尿中lncRNA発現の安定性に差があるため、網羅的解析の質が担保できない状況であったため、網羅的解析においては、正常組織と大腸癌組織からRNAを抽出し、RNAシーケンスを行い大腸癌組織で異常発現をきたすlncRNAの同定をこころみた。RNAシーケンスにより、正常組織と比較し、大腸癌組織中で異常発現をきたす多数のlncRNAを同定した（図1）。そのなかからデータベースサーチ等によりバイオマーカー候補lncRNAの絞り込みをおこなった。lncRNAは尿中発現が少量であるために、尿中lncRNAの抽出方法や解析方法の条件の最適化に多くの時間を費やしたが、最適な条件設定を完了した後に24種類のバイオマーカー候補の尿中lncRNA発現をトレーニングコホートにおいておこなった。それらのうち、3種類のlncRNAがバイオマーカー候補として残ったが、その後の大規模コホートでの解析ではそれらの有意性は示すことができなかった。

しかしながら、本研究解析を通じた副産物として、別の尿中因子がバイオマーカーとして有用であることを見出すことができた。そのバイオマーカーはトレーニングコホート・バリデーションコホートのいずれのコホートにおいても健常者と比較し、有

意に大腸癌患者の尿中で異常発現をきたしていることから今後のバイオマーカーとしての展開が期待される。

図1. RNAシーケンスデータ



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Fukusada Shigeki, Shimura Takaya, Natsume Makoto, Nishigaki Ruriko, Okuda Yusuke, Iwasaki Hiroyasu, Sugimura Naomi, Kitagawa Mika, Katano Takahito, Tanaka Mamoru, Ozeki Keiji, Kubota Eiji, Hayashi Kazuki, Kataoka Hiromi	4. 巻 47
2. 論文標題 Osteopontin secreted from obese adipocytes enhances angiogenesis and promotes progression of pancreatic ductal adenocarcinoma in obesity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cellular Oncology	6. 最初と最後の頁 229 ~ 244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13402-023-00865-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ozeki Takanori, Shimura Takaya, Ozeki Tomonori, Ebi Masahide, Iwasaki Hiroyasu, Kato Hiroyuki, Inaguma Shingo, Okuda Yusuke, Katano Takahito, Nishie Hirotada, Takahashi Satoru, Kataoka Hiromi	4. 巻 14
2. 論文標題 The Risk Analyses of Lymph Node Metastasis and Recurrence for Submucosal Invasive Colorectal Cancer: Novel Criteria to Skip Completion Surgery	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 822 ~ 822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14030822	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iwasaki Hiroyasu, Shimura Takaya, Kitagawa Mika, Yamada Tamaki, Nishigaki Ruriko, Fukusada Shigeki, Okuda Yusuke, Katano Takahito, Horike Shin-ichi, Kataoka Hiromi	4. 巻 14
2. 論文標題 A Novel Urinary miRNA Biomarker for Early Detection of Colorectal Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 461 ~ 461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14020461	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------