

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461603

研究課題名(和文) 血中分泌型microRNAを用いた横紋筋肉腫転移メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism underlying rhabdomyosarcoma metastasis via circulating microRNA

研究代表者

土屋 邦彦 (TSUCHIYA, kunihiko)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90381938

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は筋特異的に発現するmicroRNAであるmiR-206を用いた横紋筋肉腫の新規血清診断法を開発した。本研究では、予後との相関の解析を行い、転移性横紋筋肉腫の治療戦略の構築を行うことを目的とした。横紋筋肉腫症例の血清中のmiR-206コピー数は有意に増加しており、カットオフ値を164.1コピーとした場合、感度0.714、特異度0.938、ROC曲線下面積0.8705と高い診断精度を示した。血清miR-206高発現群の2.5年無再発生存率は10.7%と、低発現群の77.9%と比較して有意に低かった。血清miR-206コピー数は治療層別化バイオマーカーとなりうることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：miR-206 is a muscle-specific microRNA and is much more strongly expressed in sera of patients with rhabdomyosarcoma (RMS) than in sera of patients with non-RMS tumors. Here, we analyzed the prognostic significance of circulating miR-206 values in serum specimens of RMS patients. Serum miR-206 expression levels were higher in RMS patients than in non-RMS patients with an area under the ROC curve of 0.8705, sensitivity of 0.714 and specificity of 0.938. The cut-off value was 164.1 copies/ μ l serum. Progression free survival (PFS) was negatively influenced by a high serum miR-206 expression level (2.5-year PFS; 10.7 % vs 77.9 %). miR-206 can be a novel biomarker for treatment stratification of RMS. The limitations of our study include a retrospective design, small sample size and non-uniform treatment. The Japan Rhabdomyosarcoma Study Group will prospectively validate its prognostic significance in a large cohort of uniformly-treated patients.

研究分野：小児腫瘍学

キーワード：横紋筋肉腫 microRNA liquid biopsy バイオマーカー 腫瘍マーカー miR-206

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は筋特異的に発現する microRNA である *miR-206* を用いた横紋筋肉腫の新規血清診断法を開発した。これは、腫瘍に発現している microRNA が、腫瘍から分泌され、循環血中に移行することを利用したものである。

(2) さらに、転移例では限局例に比べて、腫瘍特異的 microRNA が多量に血中に存在することが判明した。

2. 研究の目的

(1) 腫瘍特異的 microRNA の血清中の発現の診断的意義を明らかにする。

(2) 腫瘍特異的 microRNA の血清中の発現と予後との相関を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象

小児がん血清検体 60 検体 (横紋筋肉腫 28 例、非横紋筋肉腫 32 例) を用いた。

(2) 血清 microRNA の抽出

血清 200 μ l を用いて、microRNA を含む total RNA として抽出した。

(3) 血清中 microRNA の定量

逆転写反応の後、定量的リアルタイム PCR により血清 1 μ l 当たりのコピー数を測定した。

4. 研究成果

(1) 血清中の *miR-206* コピー数は横紋筋肉腫の診断的バイオマーカーとなる。

横紋筋肉腫症例の血清中の *miR-206* コピー数は有意に増加 ($p < 0.001$) しており、カットオフ値を 164.1 コピーとした場合、感度 0.714、特異度 0.938、ROC 曲線下面積 0.8705 と高い診断精度を示した (図 1, 2)。

(2) 横紋筋肉腫転移例において、血清中の *miR-206* コピー数は上昇している。

血清中の *miR-206* コピー数は、転移例 (N1、M1) においては、限局例 (N0) と比較して有意に上昇していた ($p < 0.001$) (図 3)。

(3) 横紋筋肉腫転移例において、血清中の *miR-206* コピー数は上昇している。

血清 *miR-206* 高発現群の 2.5 年無再発生存率は 10.7% と、低発現群の 77.9% と比較して有意に低かった ($p = 0.0081$) (図 4)。血清 *miR-206* 発現は、横紋筋肉腫症例において有意に高値であり、新規診断的バイオマーカーとして有用であることが証明された。また、血清 *miR-206* 発現は、転移例において高値を示し、かつ、高発現群の生存期間中央値が有

意に低値であることより、新規予後因子となりうることを示唆された。今回の解析は後方視的な検討であり、今後、臨床研究グループの前向き試験において、多数例で検証予定である。

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)

[学会発表] (計 1 件)

Miyachi M, Tsuchiya K, Nitta Y, Ohuchi K, Yoshida H, Kikuchi K, Kuwahara Y, Iehara T, Hosoi H. Diagnostic and prognostic role of circulating miR-206 in rhabdomyosarcoma patients. 2015 American Society of Clinical Oncology annual meeting. 2015 年 5 月 29 日 ~ 6 月 2 日; Chicago, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土屋 邦彦 (TSUCHIYA, kunihiko)

京都府立医科大学・大学院医学研究科小児発達医学・講師

研究者番号: 90381938

(2) 研究分担者

細井 創 (HOSOI, hajime)

京都府立医科大学・大学院医学研究科小児発達医学・教授

研究者番号: 20238744

家原 知子 (IEHARA, tomoko)

京都府立医科大学・大学院医学研究科小児発達医学・准教授

研究者番号: 20285266

宮地 充 (MIYACHI, mitsuru)

京都府立医科大学・大学院医学研究科小児発達医学・助教

研究者番号: 40584983

図1．横紋筋肉腫血清中の *miR-206* コピー数は増加している。

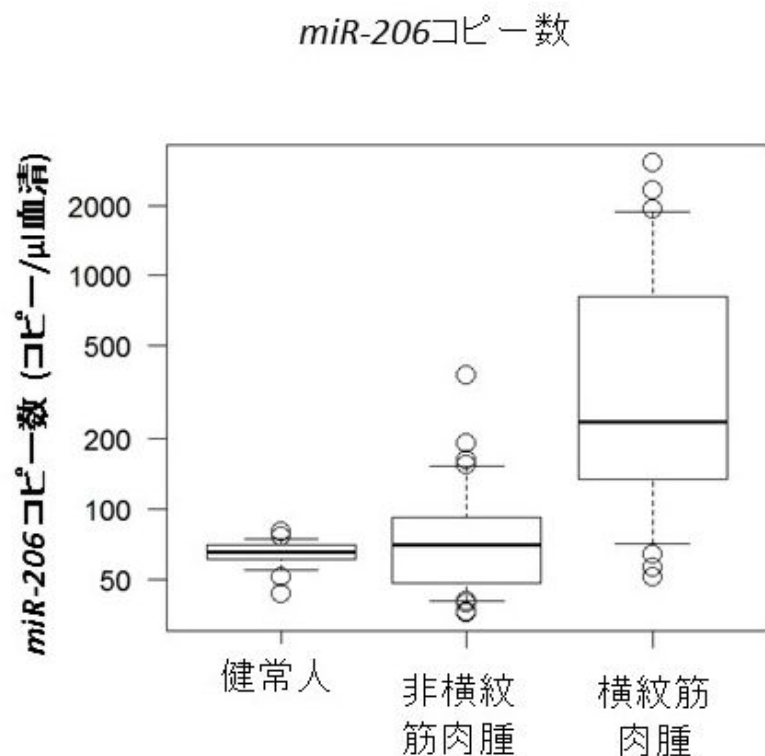


図2．カットオフ値を 164.1 コピーとした場合、感度 0.714、特異度 0.938、ROC 曲線下面積 0.8705 と高い診断精度を示した。

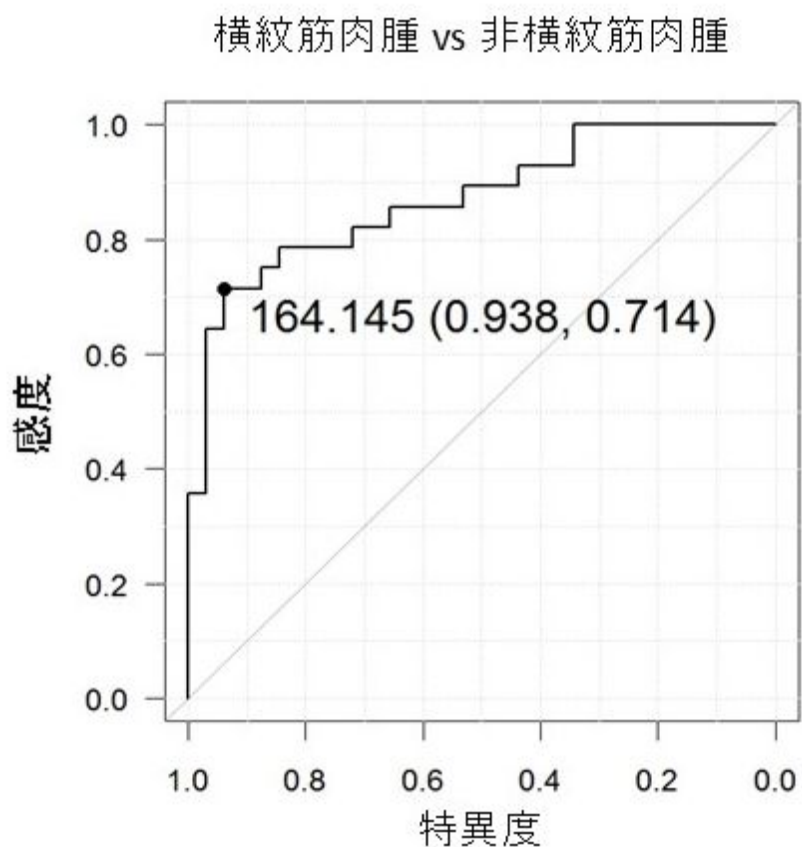


図3 . 血清 *miR-206* コピー数は、転移例において増加している。

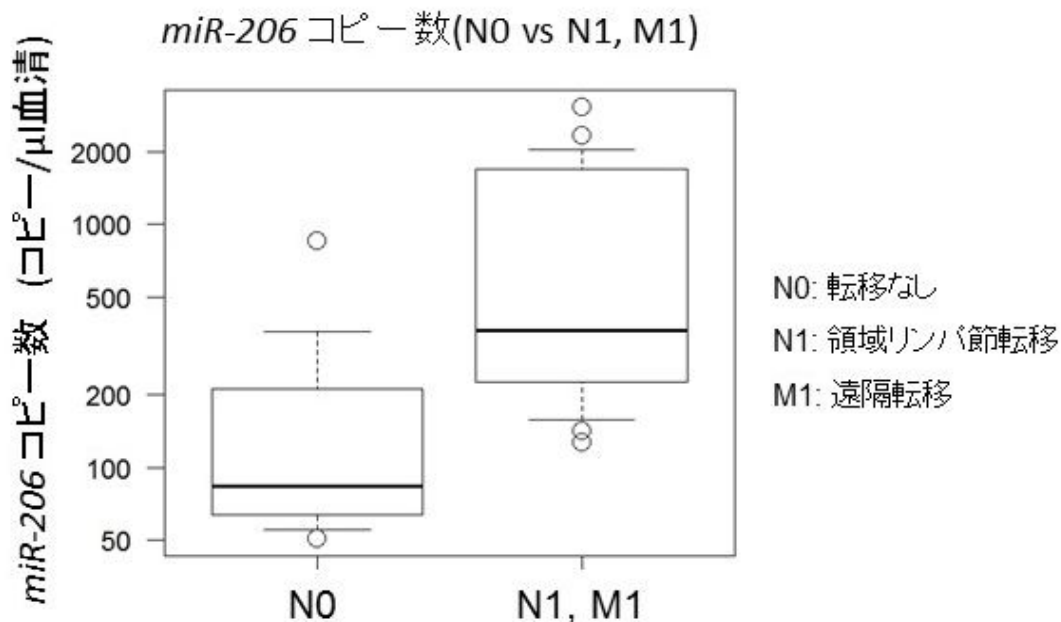


図4 . 血清 *miR-206* コピー数高値群は有意に治療成績が不良である。

