OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	MiR-21-5p in urinary extracellular vesicles is a novel biomarker of urothelial carcinoma.
Author(s)	松崎, 恭介
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69444
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　松崎　恭介

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	野々村　祝夫
副　査	大阪大学教授	上中　弘一
副　査	大阪大学教授	猪阪　善隆

論文審査の結果の要旨

本論文は尿中エクソソームに着目した膀胱癌の新規診断バイオマーカーの同定を目的としており、癌患者と健常者の自然尿から超遠心法を用いてエクソソームを抽出し、内部のmiRNAに対してマイクロアレイを用いた網羅的解析を行った。癌患者で発現上昇していた5つのmiRNA(miR-155-5p, miR-15a-5p, miR-21-5p, miR-132-3p, miR-31-5p)を候補miRNAとして選定し、定量的PCRを用いて多検体で検証した。候補miRNAはいずれも癌患者の尿中エクソソーム内で有意に発現が上昇しており、癌のstageに応じて発現上昇していた。特に尿中エクソソーム内miR-21-5pを用いた癌診断能が最も高く、従来の検査法である尿細胞診の癌診断能よりも良好な結果であった。本研究は尿中エクソソーム内miR-21-5pが膀胱癌の新規バイオマーカーであることを示しており、この研究成果は博士(医学)の学位授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	松崎　恭介
論文題名 Title	MiR-21-5p in urinary extracellular vesicles is a novel biomarker of urothelial carcinoma　（尿中エクソソーム内miR-21-5pは膀胱癌の新規診断バイオマーカーである）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

膀胱癌診断ではスクリーニングとして尿細胞診を行うことが一般的だが、感度が40%程度と低いという問題点がある。また膀胱鏡検査は高い診断能を有するが、侵襲性も高くスクリーニング検査には使用できず、非侵襲的で診断能の高いバイオマーカーが望まれている。近年、癌細胞が自らのmiRNAをエクソソームと呼ばれる小胞体に封入して、血液、尿などの体液中に分泌し、細胞間のcommunicationに関与していることが明らかとなってきた。この癌特異的エクソソームは非侵襲的な新規バイオマーカーへの応用に期待されている。今回我々は尿中エクソソーム内のmiRNAに対してマイクロアレイを用いた網羅的解析を行い、膀胱癌の新規診断バイオマーカーを同定した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

尿路上皮癌患者6例（非浸潤癌 3例、浸潤癌 3例）と健常者 3例の自然尿40mlから超遠心法を用いてエクソソームを抽出し、エクソソーム内miRNAに対してマイクロアレイを用いた網羅的解析を行った。①Fold-change(癌患者vs健常者)>2.5、②p-value<0.1の基準にて、5つのmiRNA (miR-155-5p, miR-15a-5p, miR-21-5p, miR-132-3p, miR-31-5p)をバイオマーカー候補として選定した。

次に尿中エクソソーム内miRNAを定量的PCRで測定する際の補正項目について検討した。尿中エクソソーム内のmiRNA発現量をエクソソームの粒子数で補正するため、粒子数と相関のある、測定が簡便な項目を探索した。18例 (健常者 11例、非浸潤癌 3例、浸潤癌 4例)の尿および尿中エクソソームを用いて、尿中エクソソームの粒子数と以下の5つの項目 (尿中クレアチニン濃度、エクソソーム内タンパク量、エクソソーム内総miRNA量、エクソソーム内RNU6B発現量、エクソソーム内CD9発現量)との関連を調べた。尿中クレアチニン濃度が尿中エクソソームの粒子数と強い相関を認め、尿中クレアチニン濃度による補正は粒子数による補正の代替となりうると考えられた。

最後に同定された候補miRNAを別の60例(健常者24例、非浸潤癌18例、浸潤癌18例)において、定量的PCRを用いた測定を行い、妥当性を検証した。候補miRNAはいずれも癌患者の尿中エクソソーム内で有意に発現が上昇しており(p-value <0.0001)、癌のstageに応じて発現上昇していた(p-value for trend <0.0001)。ROC(receiver-operator characteristics)曲線を用いた解析では特に尿中エクソソーム内miR-21-5pを用いた癌診断能が最も高く(Area under the ROC curve; AUC=0.900)、感度75.0%、特異度95.8%であり尿細胞診よりも良好な結果であった。また尿細胞診陰性の集団における尿中エクソソーム内miR-21-5pを用いた癌診断能も、感度90.0%、特異度87.5%であった。

また、尿路上皮癌細胞株(UMUC3、5637、J82、RT4)と正常尿路上皮細胞株(SV-HUC)の上清内エクソソームでも検証したが、miR-21-5pは癌細胞株上清内エクソソーム内で有意に上昇していた(p-value <0.05)。

〔総　括(Conclusion)〕

尿中エクソソーム内miR-21-5pは膀胱癌の新規診断バイオマーカーであり、尿細胞診陰性症例の癌検出にも有用であることが示された。