



Title	Fragmentation of cell-free DNA is induced by upper-tract urothelial carcinoma-associated systemic inflammation
Author(s)	中野, 剛佑
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82094
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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	中野 剛佑
論文題名 Title	Fragmentation of cell-free DNA is induced by upper-tract urothelial carcinoma-associated systemic inflammation (上部尿路上皮癌に伴う全身性炎症によって血中遊離DNAの断片化が誘導される)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 上部尿路上皮癌 (upper tract urothelial carcinoma : UTUC) は診断時に筋層浸潤性であることが多く、予後不良な疾患である。診断においてはCT-urographyや逆行性腎盂造影、尿管鏡等が用いられており、確立した血液バイオマーカーは存在しない。近年では、血中遊離DNA (cell-free DNA : cfDNA) が、癌患者における低侵襲バイオマーカーとして注目されている。これまでに複数の癌種で、断片長が短小化したcfDNAが増加していることが報告されている。本研究では、UTUC患者におけるcfDNAの臨床的有用性を評価するとともに、癌患者で短小化cfDNAが増加する生物学的意義を検討することを目的とした。 〔方法(Methods)〕 2016年1月から2019年12月までに当院で診断されたUTUC患者50例を対象とした。全例病理組織学的に尿路上皮癌と診断した。未治療時に採取した血漿からcfDNAを抽出し、断片長、濃度を測定し健常者と比較した。cfDNAの断片長は、マイクロチップ型電気泳動装置にて測定し、cfDNAの濃度として血漿1ml中のACTBのコピー数を定量的リアルタイムPCR法で評価した。cfDNAの断片長と濃度それぞれのUTUC診断能をロジスティック解析とROC曲線解析で評価した。予後はカプランマイヤー法にて生存曲線を算出し、ログランク検定を行った。さらに、健常者から採取した末梢血単核細胞(PBMCs)を炎症性サイトカイン (TNFα、IL-6、IL-1ra) を添加した培養液中で培養し、培養上清中のcfDNAの断片長を評価した。 〔成績(Results)〕 UTUC患者では健常者と比較して、有意にcfDNAの断片長が短く (p=0.007)、濃度が高かった (p=0.042)。cfDNAの断片長によるUTUCの診断精度は中程度 (AUC=0.72) であった。また、多変量解析により、cfDNAの断片長は独立したUTUC診断予測因子であることが示された (オッズ比=0.807, 95%CI 0.653~0.955, p=0.024)。さらに、cfDNAの断片長は、疾患の進行に伴って短くなる傾向を示し (p<0.001)、断片長の短い群では長い群と比較して予後不良の傾向を認めた (p=0.083)。また、cfDNAの断片長と相関する因子を探索するため、種々の血液マーカーとの比較を行った結果、cfDNAの断片長は炎症系マーカーとの相関を認めた (CRP [r=-0.612]、NLR [r=-0.530]、Alb [r=0.618])。さらに、cfDNAの断片長と、膀胱癌において予後不良と関連すると報告されている炎症性サイトカインの血清レベルとの間に強い負の相関を認めた (TNFα [r=-0.837]、IL-6 [r=-0.964]、IL-1ra [r=-0.911])。これらの結果から短小化cfDNAの増加に全身性炎症が関連していることが示唆された。また、TNFαを添加した培地で培養したPBMCsの培養上清中では、未処理のPBMCs培養上清中と比較して、短小化cfDNA断片の割合が有意に増加していた。IL-6、IL-1raでは短小化cfDNAの増加は認めなかった。さらに、短小化cfDNAの増加はTNFαの濃度依存的に亢進し、TNFα阻害剤 (R-7050) により減弱したことから、TNFαによる直接作用であることが示唆された。 〔総 括(Conclusion)〕 cfDNAの断片長は上部尿路上皮癌のバイオマーカーとして有用であり、TNFαによって短小化しており、全身性炎症を反映している。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中野 剛佑		
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 土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授 森 東一
論文審査の結果の要旨 上部尿路上皮癌（UTUC）は診断時に筋層浸潤性であることが多く予後不良な疾患である。予後の改善のため、簡便、低侵襲なバイオマーカーが求められている。血中遊離DNA（cfDNA）は、様々な癌種で低侵襲バイオマーカーとして臨床応用に向けた動きが進んでいる。我々はUTUC患者における血漿cfDNAの血液バイオマーカーとしての有用性を検討した。 UTUC患者では、健常者と比較して有意に血漿cfDNAの断片長が短く、濃度が高かった。血漿cfDNAの断片長によるUTUCの診断能はAUC 0.72であり、多変量解析の結果、血漿cfDNAの断片長は独立したUTUCの予測因子であった。さらに、血漿cfDNAの断片長は、癌の進行に伴って短くなることが明らかになった。また我々は、血漿cfDNAの断片化と、尿路上皮癌の予後との関連が報告されている3つの炎症性サイトカイン（TNFα、IL-6、IL-1ra）の血清濃度との間に高い相関関係があることを示し、TNFαを含む培地で培養した健常者の末梢血単核球（PBMCs）上清において、cfDNAの短い断片の割合が有意に増加していることを明らかにした。これらの結果から、UTUC患者の血漿cfDNAの断片長は、UTUCの診断に有用である可能性があり、血漿cfDNAの断片化には、癌に伴う全身性炎症、特にTNFαが関与している可能性が示唆された。UTUCにおいてcfDNAの断片長が有用な血液バイオマーカーとなり、また、短小化したcfDNAの増加と全身性炎症が関連しているという報告はこれまでになく、学位の授与に値すると考えられる。		