

膵癌早期診断を目的とした膵液中 microRNA の解析

九州大学大学院 医学研究院 臨床・腫瘍外科

池永 直樹

はじめに

膵癌は高齢者に多く、治癒切除が唯一の根治治療であるが発見時には切除不能な状態であることがほとんどであり、その早期診断法の開発は社会的要請度・緊急性・重要度が高い。microRNAは、タンパク質をコードしない小さな機能性RNA分子であり、生物の発生や分化、増殖、さらには発癌に密接に関与することが明らかとなっている。本研究は、FFPEサンプルや凍結切片マイクロダイセクションサンプルからmicroRNAを抽出して定量解析を行い、膵癌の発生過程や予後を規定するmicroRNAを評価する。更に、ERCP下に膵癌患者から採取した膵液中を対象として、microRNAの定量解析を行い、術前の早期診断マーカーを同定し、その診断的価値を評価する。

結 果

凍結保存した100検体以上の癌組織からクライオスタットにてスライドを作成し、膵癌細胞を同定する。マイクロダイセクションで標的細胞のみを収集してRNAを抽出しmicroRNAの定量解析を行い、癌細胞において発現異常を示すmicroRNAを選別した。また、FFPEサンプルを用いた解析もおこなった。細胞株を用いてAmbion社が新しく開発したmicroRNAの網羅的解析ツールを利用し、数百の候補microRNAから、より異常値を示すmicroRNA群を同定した。膵発癌モデルとして、Pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) 病変が前癌病変として定着しているが、PanIN病変は臨床的には病変として認められず、偶然膵癌などに付随して存在するサンプルを用いるため解析数に制限がある。一方、膵癌にはintraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) と呼称される前癌病変から進行癌まで示す疾患がある。これらPanIN病変、IPMN病変の解析より、特定のmiRNAが発癌過程におけるどの時期に発現異常を起こしてくるかを検討し、その発現が浸潤癌markerなのか前癌病変markerなのかを明らかにした(現在投稿中)。癌細胞において、発現異常が同定された新規のmiRNA及び、そのmiRNAが標的すると想定される遺伝子をdata base上より選択し、microRNAに対しては、そのinhibitorとprecursor分子の導入により、標的の遺伝子に関しては、siRNAを用いて、機能評価を行った。上記の解析から選択したmicroRNAの解析を現在進めている。

考 察

我々の検討によって、複数のmiRNAが膵癌に対して癌抑制遺伝子あるいは癌遺伝子としての作用を持っていることが明らかになった。また、miRNAの発現が予後に関与していることも明らかになり、将来これらのmiRNAが膵癌の悪性度や予後の膵液マーカーとして利用できる可能性が示唆された。また、miRNAを増強あるいは抑制することにより、抗癌剤感受性に変化がみられたことから、将来的に治療薬としての応用にもつながる可能性が示唆された。

要 約

FFPEサンプルや凍結切片からのLMDサンプルのmicroRNA発現解析をすすめた。網羅的な解析により複数の膵癌特異的なmicroRNAを同定した。膵液など臨床サンプルにおけるmicroRNAの解析を今後さらに進め、早期診断や個別化治療に応用していく予定である。