

# miRNA網羅的発現解析に基づく 直腸癌術前放射線化学療法 (CRT) 効果予測キットの開発

がん研有明病院 消化器外科 副医長 秋吉 高志

## はじめに

下部進行直腸癌は大腸癌の中でも最も治療困難であり、下部進行直腸癌の治療成績向上は世界的な課題である。現在欧米では術前放射線化学療法 (CRT) が下部進行直腸癌に対する標準治療となっている。術前CRTの効果は様々であるが、特に著効 (complete response : 約10～15%) 症例は良好な長期成績を示すことが報告されている。それゆえ、術前CRTの効果を実験することができれば、不必要な術前CRTの省略や、より強力な術前全身化学療法と組み合わせるなどの戦略をとることが可能になる。miRNAは17-24塩基の一本鎖非コードRNAで、ターゲットmRNAの翻訳や安定化を制御することで多くの重要な生物学的プロセスに関与する。本研究では術前CRT施行前に内視鏡で採取した生検癌組織を用いて、網羅的にmiRNAの発現を解析することにより術前CRTの効果良好群 (responder) と効果不良群 (non-responder) を識別するmiRNA発現profileを同定し、直腸癌術前CRTの効果を高精度に予測することが可能であるかを解析する。がん研有明病院消化器外科において術前にStage IIまたはStage IIIと診断され、術前CRT後に根治手術を施行された下部進行直腸癌症例で、同意・説明文書により研究内容を説明し理解を得た上で、本人から文書によるインフォームド・コンセントを取得することが可能な患者を対象とする。

## 結 果

2013年4月より“microRNA/mRNA網羅的発現解析及び全エクソンシーケンス解析に基づく直腸癌術前放射線化学療法効果予測法の開発”と題した研究プロジェクトをIRB及びヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査の承認の下がん研有明病院にて開始した。2004年から2011年までに当院で術前CRT後に手術を施行した症例 (StageII/III) のうち、術前内視鏡生検サンプルが凍結保存されている症例は効果良好群 (Grade 3+2b) が26例、効果不良群 (Grade 1) が79例であった。本研究では術前CRTの効果の組織学的評価として大腸癌取り扱い規約のGrade分類を用い、効果良好群をGrade 3 (=complete response) 及びGrade 2b、効果不良群をGrade 1と定義した。Relapse-free survival は効果良好群が効果不良群に比べ有意に良好 ( $p=0.0367$ ) であり、組織学的効果が再発のsurrogateとなることが示唆された。

術前CRT施行前に内視鏡で採取した凍結生検癌組織よりlaser capture microdissectionにより凍結組織中の癌細胞のみを切り出し、RNAの抽出を行った。解析可能なRNAが抽出

できた91例（効果良好群：23例、効果不良群：68例）について、癌組織中のmiRNAの発現をAffymetrix miRNA 3.0 Array（miRBase v 17に基づいた1,733種類のヒト成熟型miRNAを搭載）を用いて網羅的に解析した。現在はバイオインフォマティクスを用いて効果良好群と効果不良群の間で発現量に有意な差のあるmiRNAの絞り込みを行っている段階である。さらに、Affymetrix PrimeView Human Gene Expression Arrayを用いて前述の生検癌組織中のmRNAの網羅的発現解析を行っているところである。

## 考 察

これまで直腸癌における術前CRTの効果を予測するバイオマーカーとしてのmiRNAの有用性を報告した論文は非常に少ない<sup>1,2,3</sup>。われわれの研究は①対象症例が非常に多いこと（約100例）、②効果良好群と効果不良群で発現差のあるmiRNAをより効果的に抽出するため、効果中間群（Grade2a）を解析対象から除外したこと、③laser capture microdissectionにより癌組織をpurifyするため、データの信頼性が高くなること、④miRNAとmRNAの統合解析により、効果良好群で有意に発現の多いmiRNAが特異的に制御しているmRNAを予測できること、といったこれまでの直腸癌の術前CRT効果予測のための研究にはない特徴があり、質の高いデータが得られることが期待される。

## 要 約

2013年4月より“microRNA/mRNA網羅的発現解析及び全エクソンシーケンス解析に基づく直腸癌術前放射線化学療法効果予測法の開発”と題した研究プロジェクトをIRB及びヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査の承認の下開始した。2004年から2011年までに当院で術前放射線化学療法（CRT）後に手術を施行した症例（StageII/III）のうち、術前内視鏡凍結生検組織を用いて、laser capture microdissectionにより凍結組織中の癌細胞よりRNAの抽出を行い、91例について癌組織中のmiRNAの発現を網羅的に解析した。

## 文 献

1. Della Vittoria Scarpati G et al. A specific miRNA signature correlates with complete pathological response to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 15;83 (4) :1113-9, 2012
2. Svoboda M et al. MicroRNA expression profile associated with response to neoadjuvant chemoradiotherapy in locally advanced rectal cancer patients. *Radiat Oncol.* 20;7:195, 2012.
3. Akiyoshi T et al. Predicting the response to preoperative radiation or chemoradiation by a microarray analysis of the gene expression profiles in rectal cancer. *Surg Today.* 42 (8) :713-9, 2012.