



背景

口腔扁平上皮癌(OSCC)の有用な腫瘍マーカーは未だ見出されておらず、癌検出や再発転移などの予後不良イベントを高精度に予測する強力なバイオマーカーの開発が待たれている。microRNA(miRNA)は標的mRNAを分解し、翻訳を阻害する。その発現異常は多くの悪性腫瘍で報告され、**血清中miRNAを利用した診断の試み**が報告されているが、いまだ実用化に至っていない。

目的

- OSCCに**特異的なmiRNA**を検索する。
- 口腔癌**診断ツール**としての有用性を検討する。

対象と方法

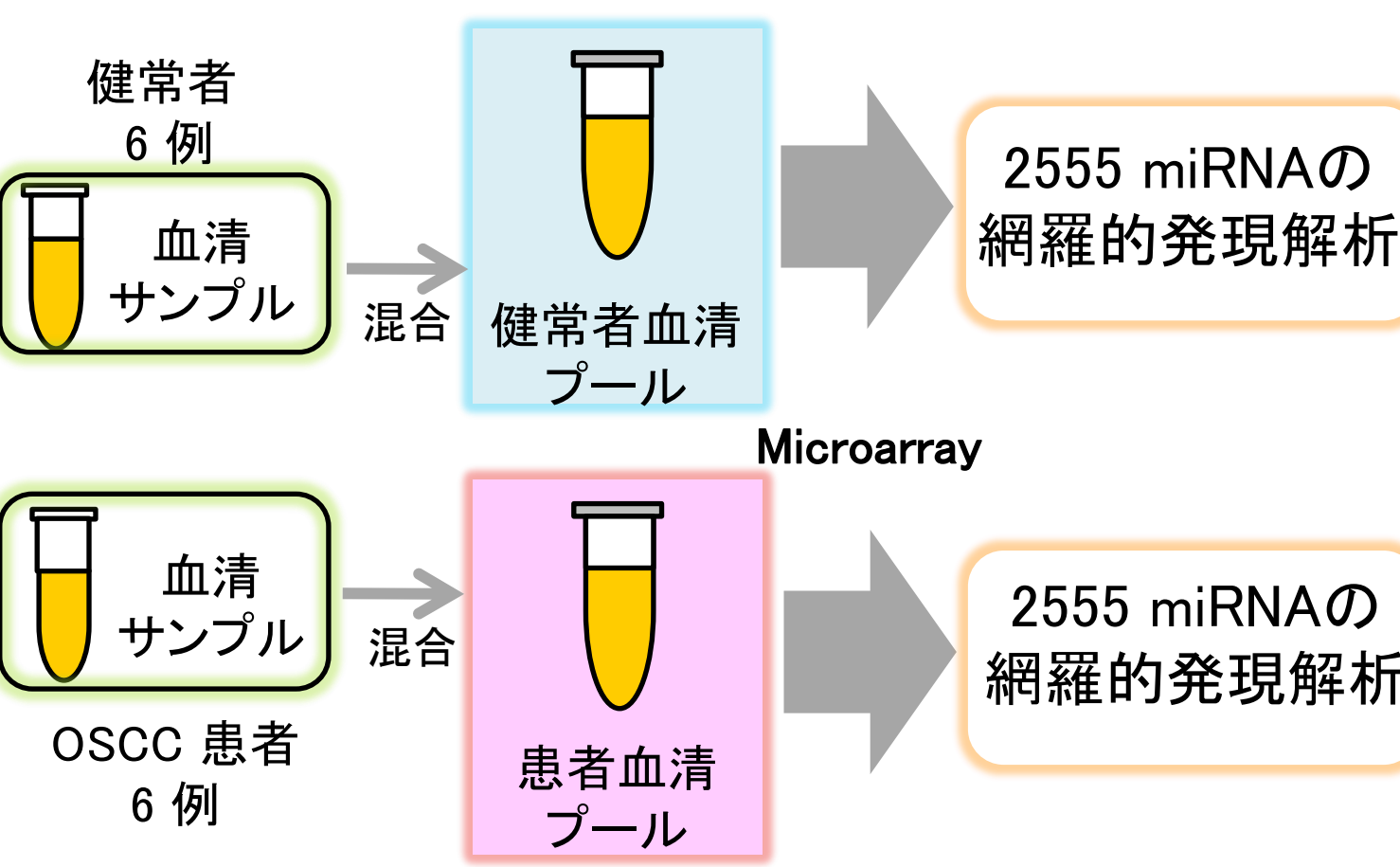
《対象》

2014年から2015年に病理組織学的検査により口腔扁平上皮癌と診断された治療前のOSCC患者42例 健常者20例
臨床研究倫理審査委員会承認(許可番号:26-306) 採血前に全症例でインフォームドコンセントを行い、同意書を取得した。

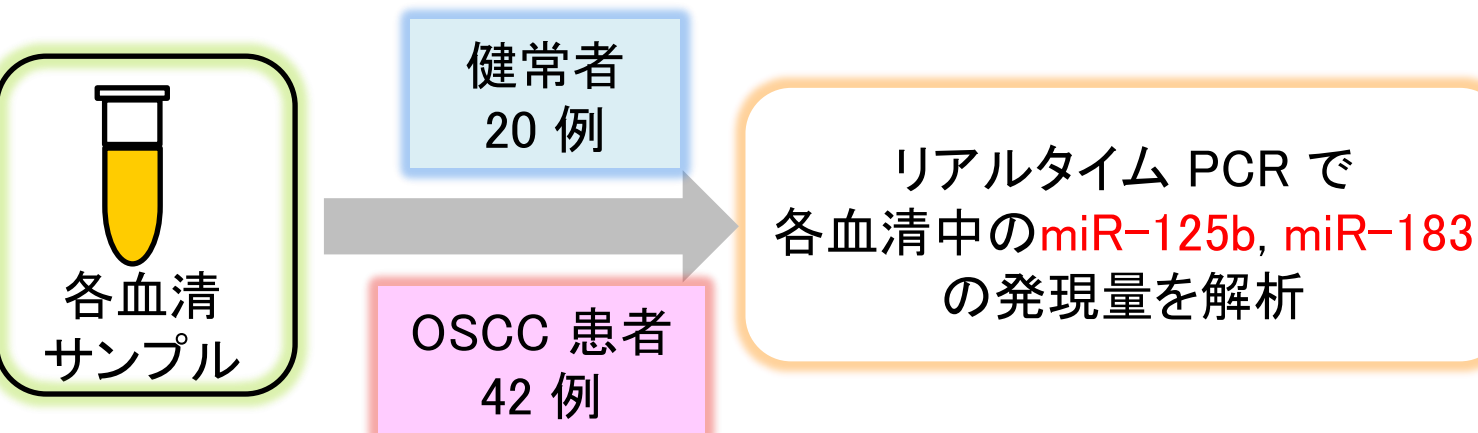
《血清サンプル採取》

OSCCの血清サンプルは治療開始約2週間前に採取し、そのうち9例は術後約半年でも同様にサンプルを採取した。全症例で血液10mlを採取し遠心分離により上清を採取し、解析まで-80℃で保存した。

《血清中miRNAの網羅的発現解析》



《リアルタイムPCR法》



リアルタイムPCR法に用いた患者群、健常者群の臨床的背景

	平均年齢	性別		TNM分類				舌	歯肉	口腔底	頬粘膜	口唇
		男	女	I	II	III	IV					
OSCC患者群 (n=42)	68	23	19	9	19	3	11	16	13	5	6	2
健常者群 (n=20)	27.8	11	9									

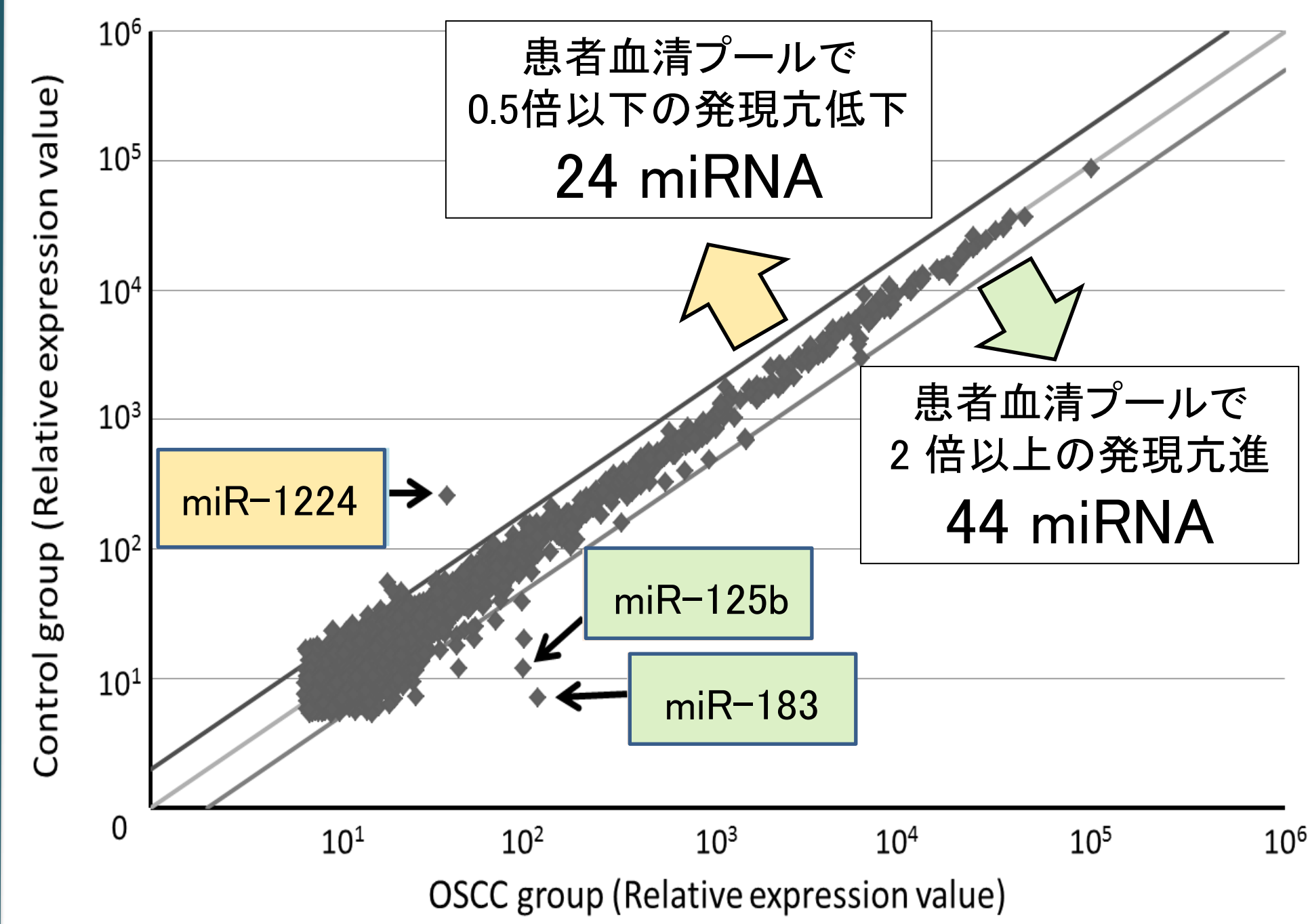
《統計学的解析》

- 血清中miRNAの患者群と健常群の比較にはWilcoxon検定を用いた。
- 受信者動作特性曲線(Receiver-operating characteristic curves, ROC曲線)から診断に用いる基準値となるカットオフ値を算出した。
- 全ての症例を**二重陽性群**(miR-125b low かつ miR-183 high)、**単独陽性群**(miR-125b low/miR-183 low 及び miR-125b high/miR-183 high)、**二重陰性群**(miR-125b high かつ miR-183 low)に分類した。
- 全ての解析において、P値が0.05以下で有意差ありとした。これらの解析はSPSS softwareを用いて行った。

結果

1. 血清miRNAの網羅的発現解析

患者群および健常群における血清miRNAの網羅的発現の比較

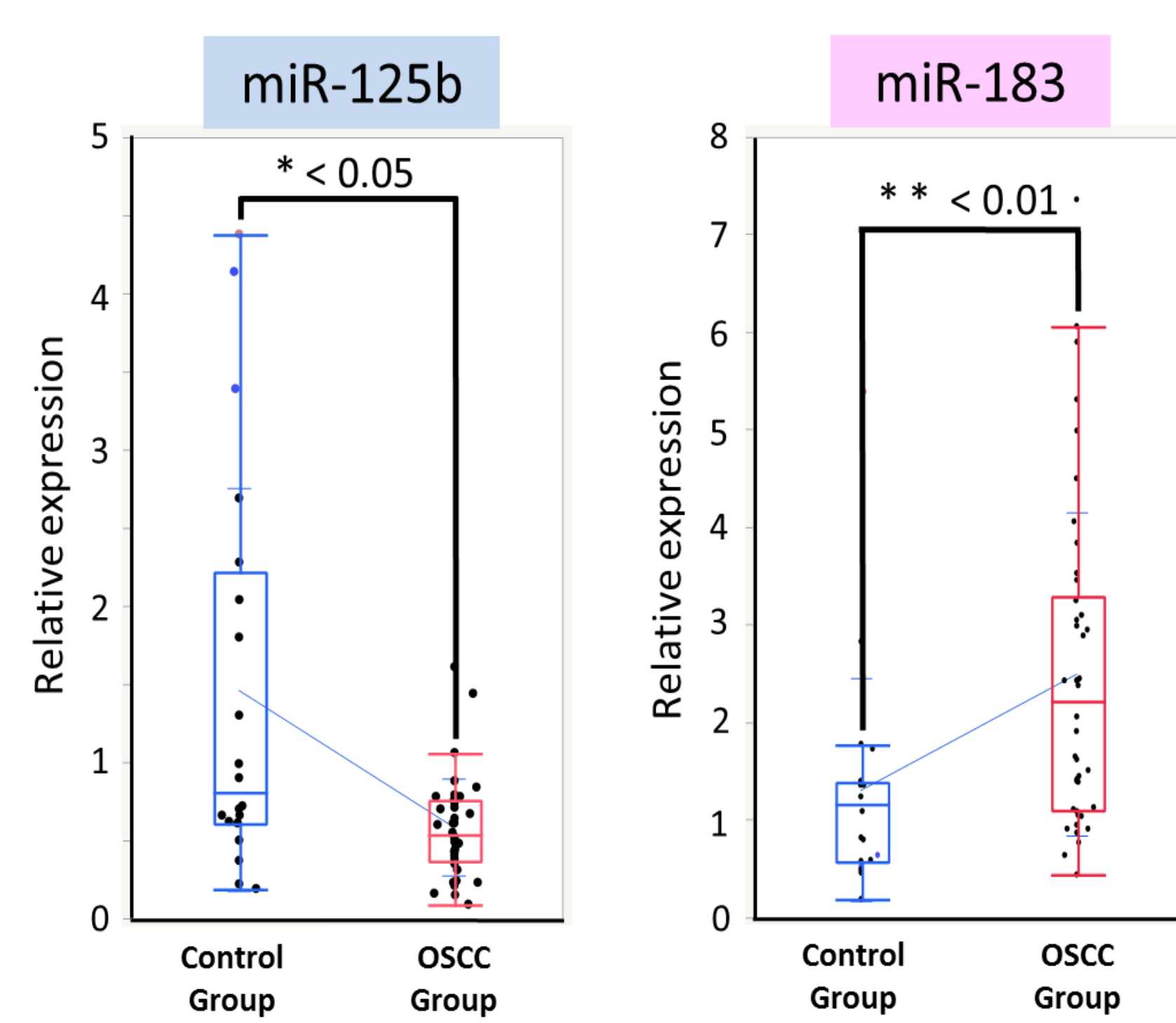


ターゲットとして選択された各miRNA発現量の比較

microRNA	ID	OSCC群	健常者群	Fold change
miR-183-5p	MIMAT0000261	112.2	7.2	15.58
miR-125b-2-3	MIMAT0004603	93.7	11.9	7.87
miR-1224-5p	MIMAT0005458	37.2	259.6	0.14

2. 各血清中のmiRNAの発現解析

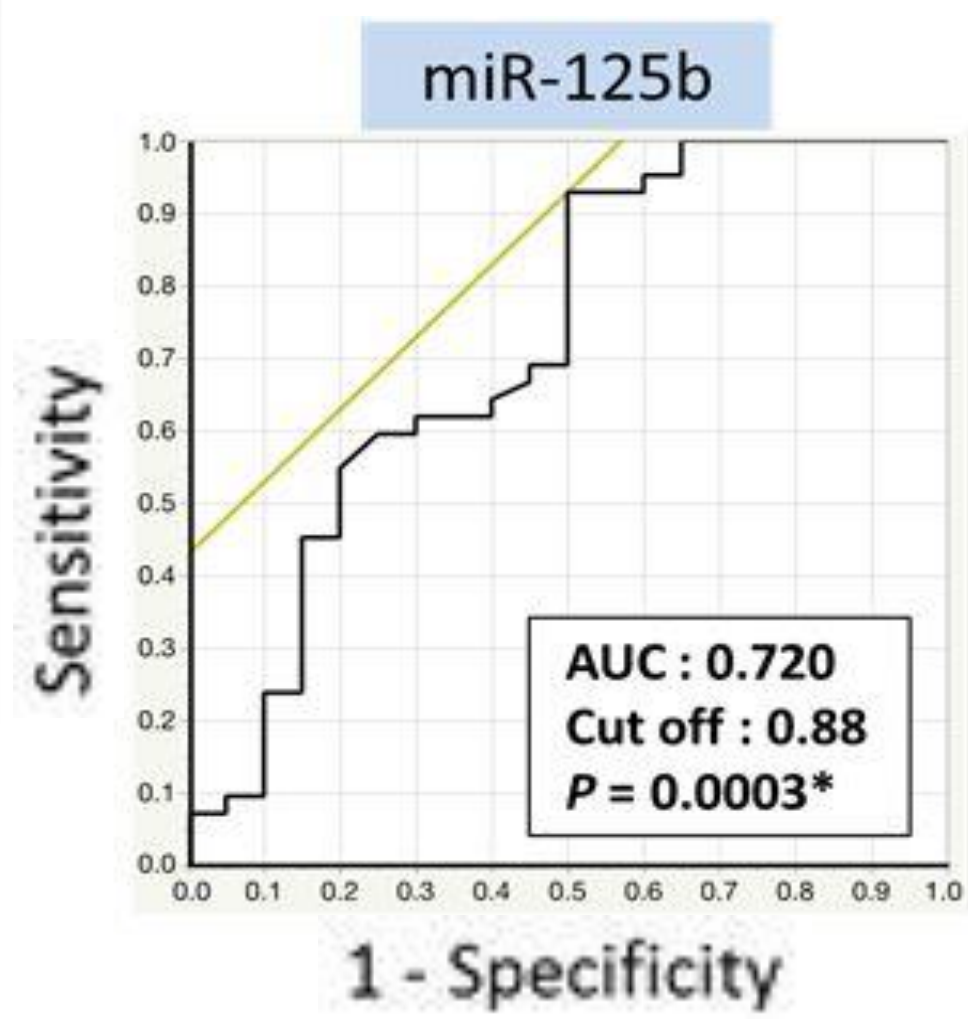
各血清中のmiRNAの発現



miR-125b は、マイクロアレイの結果に反し患者群で有意な発現の低下を認めた。

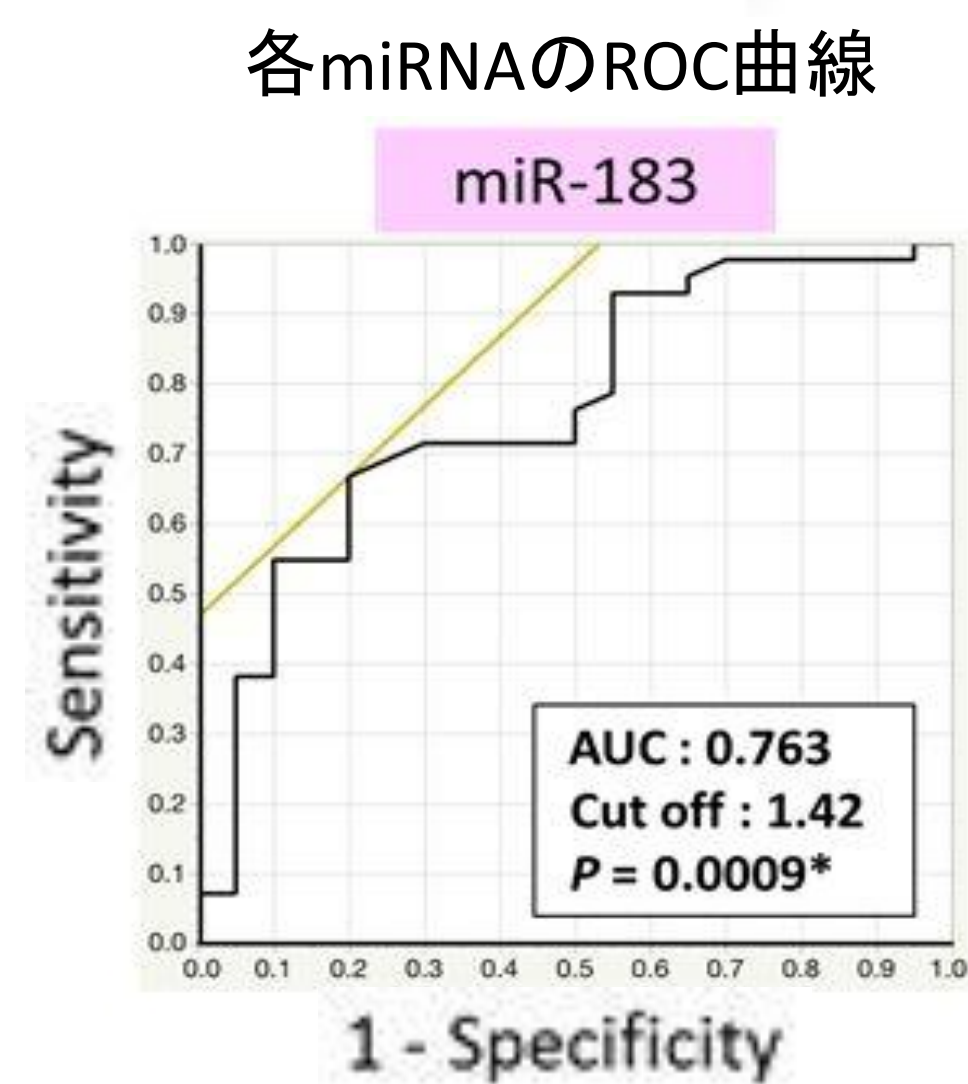
miR-183 は、患者群において有意な発現亢進を認めた。

3. miRNA-125bとmiRNA-183を用いた検出とカットオフ値の設定



miR-125b	OSCC群 (n=42)	健常者群 (n=20)	オッズ比	感度 (%)	特異度 (%)	陽性的中率 (%)	陰性的中率 (%)
High	3 (7%)	10 (50%)	1				
Low (検査陽性)	39 (93%)	10 (50%)	8.0	92.9	50.0	79.6	76.9

miR-125b は、検査低値(Low)を検査陽性とする高い感度を示すが、特異度が低いことから、多くの疑陽性が含まれる。



miR-183	OSCC群 (n=42)	健常者群 (n=20)	オッズ比	感度 (%)	特異度 (%)	陽性的中率 (%)	陰性的中率 (%)
High (検査陽性)	28 (67%)	4 (20%)	12.5	66.7	80.0	87.5	53.3
Low	14 (33%)	16 (80%)	1				

miR-183 は検査高値(High)を検査陽性とする、AUCや陽性的中率が高いことから、miR-183の方がOSCCの**マーカー**として優れているが、感度がやや低くOSCC患者でも偽陰性となるリスクがある。

4. 2種のmiRNAを併用した診断の有効性の検討

◇ **二重陽性群** VS. **二重陰性群**

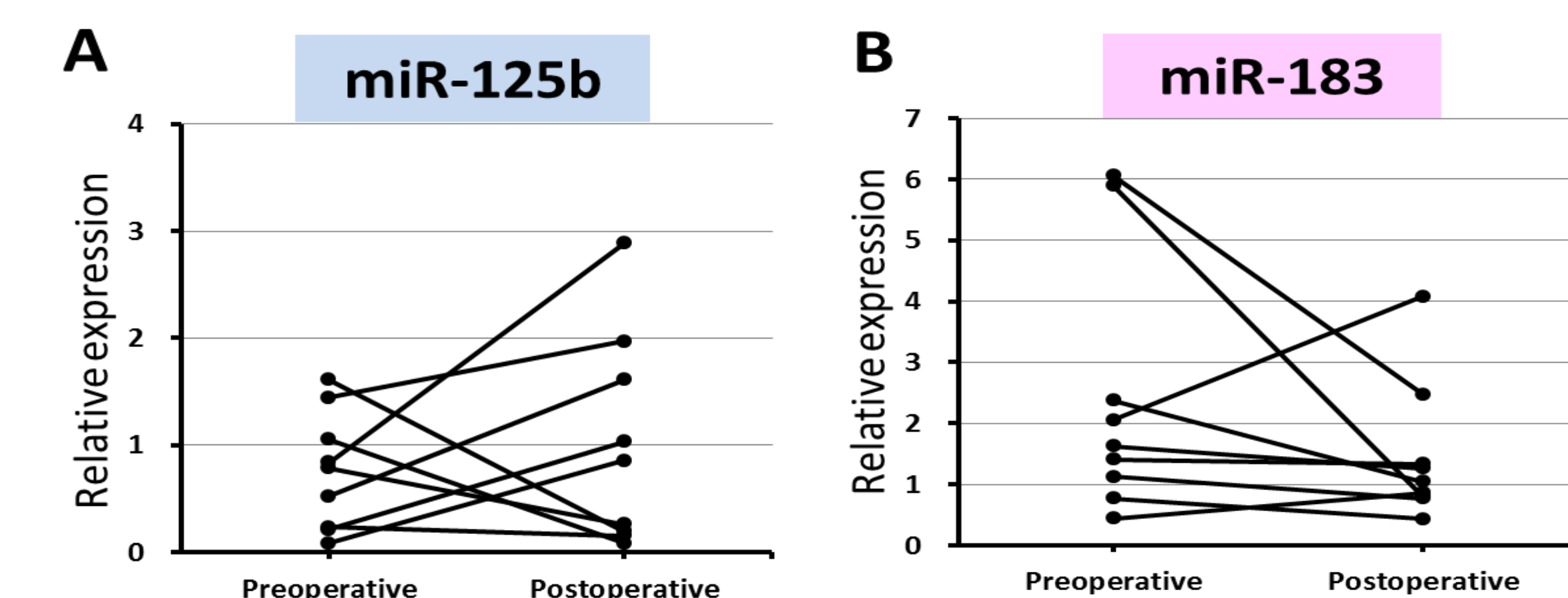
	OSCC群 (n=42)	健常者群 (n=20)	感度 (%)	特異度 (%)	陽性的中率 (%)	陰性的中率 (%)
二重陽性	26	2	96.3	80.0	92.9	88.9
二重陰性	1	8				
単独陽性	15	10				
合計	42	20				

二重陽性群と**二重陰性群**に限って検討すると、**感度、特異度、陽性・陰性的中率**すべてにおいて高値を示し、診断への有効性が確認された。

一方で単独陽性であった群に全体の42%が該当し、この群に対する二次的マーカーの検索が必要と考えられた。

5. 術前後でのmiRNAの推移

OSCC9例の術前後での血清miRNA発現量の変化



miR-183では9例中7例で術後に発現低下を示し、この7例では現在まで再発や転移は認めなかった。

それに対し、miR-125bでは明らかな傾向を示さなかった。

考察

- ✓ miR-125b および miR-183 は統計学的にOSCCの**診断マーカー**として**有用**と考えられた。
- ✓ miR-125b・miR-183に**二重陽性**もしくは**二重陰性**を示す患者群において、極めて高い診断への有効性が確認された。
- ✓ miR-183の発現量を術前後で比較したところ、術後に発現が低下する傾向を認め、これより**miR-183**がOSCCに**特異的**である可能性がある。

第34回日本口腔腫瘍学会総会学術大会
利益相反開示
筆頭演者氏名: 中村康大
本演題に関して、私の開示すべき利益相反はありません。