

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	上田 整
論文審査 委員氏名	主査 長尾 徹 副査 松原 達昭 野本 周嗣 本田 雅規		
論文題名	唾液中 mRNA NUS1 と RCN1 をバイオマーカー とした口腔扁平上皮癌のスクリーニング		

インターネットの利用による公表用

(論文審査の要旨)

No.1.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

口腔がんで最も頻度の高い組織型は扁平上皮癌 (OSCC) である。OSCC の大部分は肉眼的に発見可能であるが、発見が遅れ、進行癌の状態で見られることも多い。診断の遅れが予後不良の一因となるため、早期発見のための信頼性の高い簡便な診断マーカーの開発が喫緊の課題である。そこで、OSCC のスクリーニングが可能な簡便かつ信頼性の高いスクリーニング方法として、唾液が注目されている。本研究は、唾液による OSCC 検出の新規バイオマーカーとして、mRNA である Nuclear undecaprenyl pyrophosphate synthase 1 homolog(NUS1)と Reticulocalbin 1(RCN1)に着目し、検証を行った。

本研究では、OSCC 患者 41 例、健常ボランティア 10 例を対象とし、OSCC 患者から唾液と組織 (癌部組織と非癌部組織) を採取し、健常ボランティアからは唾液のみ採取した。OSCC 患者は初発癌を対象とした。OSCC の原発部位の内訳は舌 17 例、歯肉 16 例、口底 5 例、頬粘膜 3 例で、癌のステージはI・II期 21 例でIII・IV期 20 例であった。採取したサンプルから RNA を抽出し、cDNA に逆転写した。

まず、唾液は OSCC 患者 4 例と健常ボランティア 4 例を対象に、組織は OSCC 癌部組織 5 例と非癌部組織 5 例を対象にマイクロアレイ解析を施行し、唾液検体と組織検体のそれぞれで、OSCC 群で 2 倍以上の正の倍率変化を認められた遺伝子を抽出した。

次に、組織検体と唾液検体の全てを対象にリアルタイム定量 PCR を行い、RCN1, NUS1 の mRNA 発現レベルを Biosystems7500(Invitrogen)で評価した。

その際、内在性コントロールとして *GAPDH* を使用して mRNA レベルを正規化した。OSCC スクリーニングを行うため、唾液中の *NUS1* と *RCN1* の発現量によって OSCC 群と非 OSCC 群を区別できる最適な診断カットオフ値を ROC 曲線から決定した。カットオフ値の正確性は曲面下面積 (AUC) で判定した。

本研究で得られた知見は、以下の如くである。

マイクロアレイにより、組織サンプルと唾液サンプルから OSCC 群で 2 倍以上の正の倍率変化を認めた遺伝子は 9 種のみであった。これらの遺伝子の内、*NUS1* と *RCN1* の 2 つは、他臓器の癌において癌関連遺伝子として報告されていたが、OSCC に関する研究はされていない。そこで、本研究では *NUS1* と *RCN1* の 2 つを OSCC スクリーニングのための新規バイオマーカー候補に選択し、全サンプルで発現量を比較検討した。

組織において、*NUS1* と *RCN1* は共に、OSCC 癌部組織群と非癌部組織群に発現レベルの有意差は認めず、マイクロアレイと異なる結果となった。一方、唾液において、OSCC 患者は健常ボランティアより有意に高い *NUS1* と *RCN1* の発現を認め (*NUS1* : $p = 0.037$ 、*RCN1* : $p = 0.011$)、マイクロアレイと同様に、OSCC 患者の唾液で高度に発現されるが健常者の唾液では低度であることが明らかになった。唾液と組織での発現量の傾向が異なることから、唾液中の *NUS1* と *RCN1* の mRNA の変化は、何らかの環境因子に起因する可能性が考えられた。

最後に、唾液中の *NUSI* および *RCNI* の発現量による OSCC スクリーニングを ROC 曲線から算出したカットオフ値をもとに評価した。唾液 *NUSI* の精度は、感度 0.683、特異度 0.700、陽性的中率 0.903、陰性的中率 0.350 となり、OSCC の検出能力は高いが、健常者が偽陽性となるリスクがあった。唾液 *RCNI* の精度は、感度 0.683、特異度 0.900、陽性的中率 0.966、陰性的中率 0.409 となり、*NUSI* より陽性的中率と陰性的中率は高いが、*NUSI* と同様に感度が 0.7 以下となったため OSCC スクリーニングとしては欠点があった。また、*NUSI* と *RCNI* の 2 つのマーカーの発現量に有意な相関は認められなかった (Spearman の順位相関係数 0.25、 $p = 0.077$)。これら 2 つの異なる発現傾向のマーカーを併用すれば陰性的中率が向上すると考えた。2 つのマーカーを併用したスクリーニングを検証したところ、検査の精度は、感度 0.927、特異度 0.700、陽性的中率 0.927、および陰性的中率 0.700 と特異度と陽性的中率の精度を保ち、感度と陰性的中率が向上した。本研究では、唾液中の *NUSI* と *RCNI* の 2 つのバイオマーカーを併用した OSCC のスクリーニング検査の有用性を見出した。よって、本研究は口腔外科学、外科学、および関連緒学科に寄与するところが大きく、博士 (歯学) の学位授与に値するものと判定した。