

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年7月29日(29.07.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/149719 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2018.01) *C12Q 1/686* (2018.01)
C12Q 1/6851 (2018.01) *G01N 33/50* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/001836
- (22) 国際出願日: 2021年1月20日(20.01.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-009850 2020年1月24日(24.01.2020) JP
- (71) 出願人: アルプスアルパイン株式会社 (ALPS ALPINE CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 Tokyo (JP). 国立大学法人広島大学 (HIROSHIMA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒7398511 広島県東広島市鏡山一丁目3番2号 Hiroshima (JP). 学校法人国際医療福祉大学 (INTERNATIONAL UNIVERSITY OF HEALTH AND WELFARE) [JP/JP]; 〒3248501 栃木県大田原市北金丸字上ノ原2600番1 Tochigi (JP).
- (72) 発明者: 田口 好弘 (TAGUCHI, Yoshihiro); 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 アルプスアルパイン株式会社内 Tokyo (JP). 黒川洋 (KUROKAWA, Hiroshi); 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 アルプスアルパイン株式会社内 Tokyo (JP). 中山 早苗 (NAKAYAMA, Sanae); 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 アルプスアルパイン株式会社内 Tokyo (JP). 小林 謙也 (KOBAYASHI, Kenya); 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 アルプスアルパイン株式会社内 Tokyo (JP). 梅田 雅 (UMEDA, Miyabi); 〒1458501 東京都大田区雪谷大塚町1番7号 アルプスアルパイン株式会社内 Tokyo (JP). 堀 貫治 (HORI, Kanji); 〒7398511 広島県東広島市鏡山一丁目3番2号 国立大学法人広島大学内 Hiroshima (JP). 梅村 創 (UMEMURA, Tsukuru); 〒8310004 福岡県大川市榎津137-1 学校法人国際医療福祉大学大川キャンパス内 Fukuoka (JP).
- (74) 代理人: 伊東 忠重, 外 (ITO, Tadashige et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号 丸の内 M Y P L A Z A (明治安田生命ビル) 16階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,

(54) Title: METHOD OF USING MIRNA EXPRESSION LEVEL AS INDICATOR OF CANCER

(54) 発明の名称: m i R N A の発現レベルをがんの指標として用いる方法

(57) Abstract: A method of using miRNA expression level as an indicator of cancer, said method comprising a step for extracting miRNAs from a body fluid of a target subject and a step for detecting the miRNA expression level in the target subject's body fluid using the extracted miRNAs. In this method of using miRNAs as an indicator of cancer, a decrease in the expression level of miR-122-5p in the target subject's body fluid, compared to the expression level of miR-122-5p in the body fluid of a normal subject, is used as an indicator of cancer with HOTAIR expression. The body fluid is blood plasma or serum.

(57) 要約: m i R N A の発現レベルをがんの指標として用いる方法は、被験者の体液から、m i R N A を抽出する工程と、抽出された m i R N A を使用して、被験者の体液中の m i R N A の発現レベルを検出する工程を含む。m i R N A をがんの指標として用いる方法は、被験者の体液中の m i R - 1 2 2 - 5 p の発現レベルが、健常者の体液中の m i R - 1 2 2 - 5 p の発現レベルよりも減少していることを、H O T A I R を発現するがんの指標として用いる。体液は、血しょう又は血清である。

DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
（規則5.2(a)）

明 細 書

発明の名称：

m i R N A の発現レベルをがんの指標として用いる方法

技術分野

[0001] 本発明は、m i R N A の発現レベルをがんの指標として用いる方法に関する。

背景技術

[0002] 1981年以降、がんは、我が国における死亡原因の第一位であり、がんのリスクの低下や健康寿命の延伸に向けた対策は、重要な課題である。がんは、ステージが上がるにつれ、予後が不良となる。ステージ1の段階でがんを発見することができれば、ほとんど完治することが可能であるため、できるだけ早いステージで、がんを発見しうる技術が重要である。特に、血液、尿等の体液は、診断しやすいため、体液を用いて、がんを早期にスクリーニング診断するニーズが高い。また、手術や、その他のがん治療を行った後に、早い段階で、がんの再発や転移をサーベイランス診断するニーズも存在する。

[0003] また、大腸がんの1次スクリーニングにおいて、便潜血が用いられている。

[0004] しかしながら、擬陽性率が高いため、便潜血陽性者は、侵襲度が高く、受診に抵抗のある内視鏡検査で確定診断を受けなければならない。このため、便潜血陽性者のうち、内視鏡検査を受診する割合は、50%程度と低く、問題となっている。

[0005] また、前立腺がんの1次スクリーニングにおいて、P S A が用いられている。

[0006] しかしながら、前立腺肥大でもP S A の値が高くなるため、P S A 高値者は、侵襲性が非常に高いバイオプシーで確定診断を受けなければならない。

[0007] こういった侵襲度が高い診断の前段階で、尿、血液等の体液を用いて、被

験者が、がん罹患していることを高い感度で予測することができれば、がん罹患していない被験者にとって、不要な侵襲性の高い検査をする必要がなくなる。また、より多くの被験者が、尿、血液等の体液を用いる診断を経て、確定診断を受けるようになると考えられる。

[0008] 上記の観点から、従来より、各種がんマーカーが探索され、がんを早期に検出しようという努力がなされている。

[0009] しかしながら、上記マーカーは、感度が圧倒的に不足しているため、早期のがんを診断することができず、がんをモニタリングする用途で使用されているに過ぎない。また、がんに対する特異性も十分ではなく、がん以外の疾患でもマーカーの濃度が上昇する。

[0010] 一方、最近になって、マイクロRNA (miRNA) の分析によるがんのスクリーニング診断や、がんの再発及び／又は転移のサーベイランス診断が試みられるようになってきた。

[0011] 例えば、特許文献1には、被験者の胃がんを検出または診断する方法、あるいは、被験者が胃がんを発症する尤度を決定する方法として、被験者から得られる非細胞性生体液サンプル中の少なくとも一つのmiRNAの発現レベルを測定する工程を含み、胃がんの無い被験者と比較する場合のmiRNA発現の差次的発現が、胃がんを有する被験者の指標となる方法が開示されている。ここで、miRNAの差次的発現が、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-29c-3p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-148a-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-29b-3p、hsa-miR-424-5p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-106b-3p、hsa-miR-128、hsa-miR-1280、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-15b-3p、hsa-miR-186-5p、hsa-miR-18b-5p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-19a-3p、hsa-miR-19b-3p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-21-3p、hsa-miR-2

3a-5p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-27a-5p、hsa-miR-29a-3p、hsa-miR-29b-2-5p、hsa-miR-29c-5p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-425-3p、hsa-miR-4306、hsa-miR-450a-5p、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-500a-3p、hsa-miR-501-5p、hsa-miR-532-3p、hsa-miR-550a-5p、hsa-miR-579、hsa-miR-589-5p、hsa-miR-590-5p、hsa-miR-598、hsa-miR-616-5p、hsa-miR-627、hsa-miR-629-3p、hsa-miR-629-5p、hsa-miR-93-3p、hsa-miR-195-5p、hsa-miR-18a-3p、hsa-miR-363-3p、hsa-miR-181a-2-3p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-501-3p、hsa-miR-23a-3p、hsa-miR-339-3p、hsa-miR-15a-5p、hsa-miR-320b、hsa-miR-374b-5p、hsa-miR-650、hsa-miR-1290、hsa-miR-22-3p、hsa-miR-320c、hsa-miR-130a-3p、hsa-miR-320e、hsa-miR-378a-3p、hsa-miR-9-5p、hsa-miR-200b-3p、hsa-miR-141-3p、hsa-miR-191-5p、hsa-miR-628-5p、hsa-miR-484、hsa-miR-425-5pからなる群より選択される「アップレギュレートされた」miRNAの発現であるか；または、hsa-miR-103a-3p、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-181a-5p、hsa-miR-107、hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-99b-5p、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-122-5p、hsa-miR-136-5p、hsa-miR-139-5p、hsa-miR-146a-5p、hsa-miR-154-5p、hsa-miR-

193b-3p、hsa-miR-23c、hsa-miR-30b-5p、hsa-miR-337-5p、hsa-miR-382-5p、hsa-miR-409-3p、hsa-miR-411-5p、hsa-miR-485-3p、hsa-miR-487b、hsa-miR-495、hsa-miR-885-5p、hsa-miR-99a-5p、hsa-miR-362-5p、hsa-miR-671-3p、hsa-miR-454-3p、hsa-miR-328、hsa-miR-320a、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-27a-3p、hsa-miR-30d-5p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-497-5p、hsa-miR-134、およびhsa-miR-150-5pからなる群より選択される「ダウンレギュレートされた」miRNAの発現のいずれかである。

先行技術文献

特許文献

[0012] 特許文献1：特表2017-525350号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0013] しかしながら、多数のmiRNAの発現レベルを胃がんの指標として用いるという問題がある。

[0014] 本発明は、少数のmiRNAの発現レベルを多数のがんの指標として用いることが可能な、miRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0015] 本発明の一態様は、miRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法において、被験者の体液から、miRNAを抽出する工程と、該抽出されたmiRNAを使用して、前記被験者の体液中のmiRNAの発現レベルを検出する工程を含み、前記被験者の体液中のmiRNAであるmiR-12

2-5 pの発現レベルが、健常者の体液中のmiR-122-5 pの発現レベルよりも減少していることを、HOTAIR (Hox transcript antisense intergenic RNA) を発現するがんの指標として用い、前記体液は、血しょう又は血清である。

発明の効果

[0016] 本発明によれば、少数のmiRNAの発現レベルを多数のがんの指標として用いることが可能な、miRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1A]大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょう10検体を等量混合したプール検体1～3と、健常者の血しょう30検体の血しょう画分のmiR-122-5 pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の散布図である。

[図1B]大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょう10検体を等量混合したプール検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiR-122-5 pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の散布図である。

[図2A]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体の血しょう画分のmiR-122-5 pの $\Delta\Delta CT$ 値の箱ひげ図と、ROC曲線を示す図である。

[図2B]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiR-122-5 pの $\Delta\Delta CT$ 値の箱ひげ図と、ROC曲線を示す図である。

[図3]8種類のがん患者の血しょうのレクチンカラム溶出画分のmiR-122-5 pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の散布図である。

[図4A]大腸がん（ステージ1～4）患者の血しょう40検体と、健常者の血しょう30検体の血しょう画分のmiR-451aの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の散布図である。

[図4B]大腸がん（ステージ1～4）患者の血しょう40検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiR-451aの発現量の相

対値（ $2 - \Delta \Delta C T$ ）の散布図である。

[図5]表4 A、B、Cで得られた重回帰式及びロジスティック回帰式に、健常者の血しょう30検体と、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の各値を代入したときのyハット値の散布図である。

[図6]表4 B、Cで得られた $\Delta C T$ （*miR-192-5p*）値と、 $\Delta \Delta C T$ （*cell-miR-39-3p*）値のロジスティック回帰式に、7種類のがん患者の血しょうのレクチンカラム溶出画分の各値を代入して得られたyハット値の散布図である。

[図7A]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類の*miRNA*の $\Delta C T$ （*miR-93-5p*）値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す図である。

[図7B]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その1）である。

[図7C]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その2）である。

[図7D]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その3）である。

[図7E]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その4）である。

[図7F]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その5）である。

[図7G]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その6）である。

[図7H]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その7）である。

[図7I]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その8）である。

[図7J]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その9）である。

[図7K]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その10）である。

[図7L]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その11）である。

[図7M]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その12）である。

[図7N]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その13）である。

[図7O]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木（その14）である。

[図7P]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう

う30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木(その15)である。

[図7Q]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木(その16)である。

[図7R]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木(その17)である。

[図7S]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図7Aと同様にして得られた決定木(その18)である。

[図8A]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの ΔCT (miR-192-5p)値の決定木学習(C5.0)により得られた決定木と、ROC曲線を示す図である。

[図8B]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その1)である。

[図8C]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その2)である。

[図8D]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その3)である。

[図8E]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その4)である。

[図8F]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょ

う30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その5)である。

[図8G]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その6)である。

[図8H]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その7)である。

[図8I]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その8)である。

[図8J]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その9)である。

[図8K]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その10)である。

[図8L]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その11)である。

[図8M]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その12)である。

[図8N]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(その13)である。

[図8O]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図8Aと同様にして

得られた決定木（その14）である。

[図9A]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの ΔCT （miR-502-5p）値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す図である。

[図9B]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その1）である。

[図9C]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その2）である。

[図9D]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その3）である。

[図9E]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その4）である。

[図9F]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その5）である。

[図9G]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その6）である。

[図9H]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（その7）である。

[図9I]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図9Aと同様にして

得られた決定木（その 8）である。

[図9J]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 9）である。

[図9K]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 10）である。

[図9L]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 11）である。

[図9M]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 12）である。

[図9N]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 13）である。

[図9O]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 9 A と同様にして得られた決定木（その 14）である。

[図10A]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体のレクチンカラム溶出画分の 12 種類の miRNA の ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値の決定木学習 (C5.0) により得られた決定木と、ROC 曲線を示す図である。

[図10B]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう 30 検体から、それぞれ 20 検体を抽出した以外は、図 10 A と同様にして得られた決定木（その 1）である。

[図10C]大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体と、健常者の血しょう

う30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その2)である。

[図10D]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その3)である。

[図10E]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その4)である。

[図10F]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その5)である。

[図10G]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その6)である。

[図10H]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その7)である。

[図10I]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その8)である。

[図10J]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その9)である。

[図10K]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様に
して得られた決定木(その10)である。

[図10L]大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血し
ょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様にし

て得られた決定木（その11）である。

[図10M]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様にして得られた決定木（その12）である。

[図10N]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様にして得られた決定木（その13）である。

[図10O]大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出した以外は、図10Aと同様にして得られた決定木（その14）である。

発明を実施するための形態

[0018] 次に、本発明を実施するための形態を説明する。

[0019] [miRNAをがんの指標として用いる方法]

本実施形態のmiRNAをがんの指標として用いる方法は、被験者の体液から、miRNAを抽出する工程と、抽出されたmiRNAを使用して、被験者の体液中のmiRNAの発現レベルを検出する工程を含む。

[0020] 本実施形態においては、被験者の体液中のmiR-122-5p（UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG；配列番号1）の発現レベルが、健常者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルよりも減少していることを、HOTAIR（Hox transcript antisense intergenic RNA）を発現するがんの指標として用いる。

[0021] ここで、体液としては、全血、血漿、血清等を含む血液、髄液、リンパ液、涙、尿、汗、母乳、精液、唾液、鼻粘膜、痰、羊水、関節液、腹水、便、細胞培養上清、組織塊由来物、及び動物等由来の体液、等をあげることができる。細胞には、多細胞生物、及び微細藻類等の単細胞性微生物が含まれる。これらはそれ自体を試料として用いてもよいし、例えばMEM培地や生理食塩水等に添加されて調製された液体として用いることもできる。好ましい体液は、血しょう又は血清である。

[0022] また、被験者は、いかなる種の動物であり、家畜、畜産動物、霊長類、及びヒト、マウス、ラット、ネコ、イヌ、ヒツジ、ウサギ、ウマ、ウシ、ヤギ、ブタ、モルモット、ハムスター、ニワトリ、七面鳥、または非ヒト霊長類（例えば、マーモセット、マカク）等を含むが、これらに限定されない。であり、健常者は、これらの被験者のうち、がん罹患していないものをいうのである。

[0023] マイクロRNA(miRNA)とは、約21~22塩基の一本鎖RNAであるノンコーディングRNAをいい、標的mRNAを分解して、又はその翻訳を阻害することにより、転写後レベルで標的遺伝子の発現を制御する。本発明の一実施形態であるマイクロRNAには、これと同等物も含まれる。

[0024] 「発現レベル」とは、miRNAの発現、活性及びそれらの量のレベルをいう。「発現レベルの減少」とは、被験体の体液に存在するmiRNAの発現レベルが、対照被検体の体液よりも低いレベルで見出されることをいう。対照被検体には、健常者が含まれる。

[0025] 健常者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルとしては、例えば、対照被験体である1又は複数の健常者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルの平均値、中央値、閾値、値の標準範囲等が挙げられる。当業者であれば、特定のがんである（又はでない）被験者集団の体液における、特定のmiRNAの活性、発現又は量の評価、及びこの評価に基づいて、適当な平均値、中央値、閾値、値の「標準範囲」等を決定することができる。

[0026] HOTAIRは、長鎖非翻訳RNA(lncRNA)の一種である。

[0027] HOTAIRを発現するがんとしては、例えば、小腸がん、大腸がん、消化管間質腫瘍(GIST)、消化管カルチノイド、胃がん、食道がん、肝臓がん、胆のう・胆道がん、膵がん、膵・消化管神経内分泌腫瘍、ランゲルハンス細胞組織球症、腎細胞がん、腎盂・尿管がん、副腎腫瘍、骨肉腫、軟部肉腫、悪性リンパ腫、膀胱がん、尿道がん、前立腺がん、精巣腫瘍、陰茎がん、子宮体がん、子宮頸がん、子宮腫瘍、卵巣腫瘍、女性器がん、肺がん、胸腺腫瘍、中皮腫、乳がん、造血器腫瘍、白血病、骨髄増殖性疾患および

多発性骨髄腫等のがんが挙げられる。

- [0028] 本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法によれば、例えば、miR-122-5pの発現レベルを、HOTAIRを発現するがんの指標として用いることができるため、がんのスクリーニング診断や、がんの再発及び／又は転移のサーベイランス診断を補助することができる。即ち、被験者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルが、健常者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルよりも減少していると、被験者がHOTAIRを発現するがんに罹患している（過去にがんに罹患しており、回復後の被験者にHOTAIRを発現するがんが再発及び／又は転移している）可能性が高い。
- [0029] 本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法を用いても、がんの種類を特定することができない場合がある。このため、本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法を、がんの1次スクリーニング、大腸がん検診における便潜血陽性者の2次スクリーニング、前立腺がん検診におけるPSA高値者の2次スクリーニング等に適用することが好ましい。
- [0030] 先述したように、大腸がん検診における便潜血陽性者が、確定診断である内視鏡診断を受診する割合は、50%程度の場合があるが、本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法により、HOTAIRを発現するがんに罹患している可能性が高いと診断された便潜血陽性者が、内視鏡診断を受診する割合は、格段に改善することができる。また、前立腺検診におけるPSA高値者も、本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法により、HOTAIRを発現するがんに罹患している可能性が高いと診断された後に、前立腺のバイオプシーをすることで、HOTAIRを発現するがんに罹患している可能性が低いPSA高値者が前立腺のバイオプシーを回避することが可能となる。
- [0031] なお、NMR-CT、PET、超音波診断等の物理的診断、血中循環腫瘍DNA(ctDNA)、miRNA等をターゲットとした次世代シーケンサ

一による診断等を実施することにより、がんの種類を特定することができる。

[0032] また、がんの再発及び／又は転移のサーベイランス診断を補助する場合は、がんが再発及び／又は転移する場所を容易に推定することができるので、本実施形態のm i R N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法を、H O T A I Rを発現する全てのがんに対して、適用することができる。

[0033] 被験者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルが、健常者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルよりも減少していることを、H O T A I Rを発現するがんの指標として用いることができる理由は、以下のように考えられている。

[0034] H O T A I Rを発現するがんから、血中に放出される細胞外小胞（E V s）等にH O T A I Rが搭載された後、血流に乗って肝臓に輸送される。肝臓に輸送されたH O T A I Rは、肝細胞に特異的なm i R - 1 2 2 - 5 pの発現を抑制するため、肝細胞から血中に放出されるE V s、超低比重リポタンパク質（V L D L）、低比重リポタンパク質（L D L）に搭載されるm i R - 1 2 2 - 5 pが減少する。その結果、H O T A I Rを発現するがんに罹患している被験者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルが、健常者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルよりも減少する。

[0035] ここで、肝細胞由来のE V sは、高マンノース型糖鎖を有するトランスフェリンレセプター（T f R）が表面に存在するため、高マンノース型糖鎖特異的レクチンにより特異的に結合する。また、V L D L、L D Lは、高マンノース型糖鎖を有するアポリポタンパク質B - 1 0 0が存在するため、高マンノース型糖鎖特異的レクチンにより特異的に結合する。このため、被験者の体液を高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されている基材と接触させると、肝細胞由来のE V s、V L D L、L D Lを含む成分が選択的に捕捉される。その結果、選択的に捕捉された成分から、m i R N Aを抽出すると、がん陽性に対する判別能が向上する。

[0036] m i R - 1 2 2 - 5 p等の肝細胞由来のm i R N Aを特異的に捕捉する方

法として、基材に固定化したデキストラン硫酸、抗Apo-B抗体を用いて、VLDL、LDLを選択的に捕捉する方法も使用することが可能である。このとき、BPL-17等の高マンノース型糖鎖特異的で、単糖結合性のあるレクチンを固定化したデバイスで、糖鎖特異的に、EVs、VLDL、LDLを捕捉した後、マンノース等の単糖で溶出し、溶出物を基材に固定化したデキストラン硫酸で精製してもよい。これにより、より純度の高いVLDL、LDLが得られ、肝臓から分泌されるmiRNAの精度が向上する。

[0037] また、HOTAIRを発現するがんのがん細胞由来のEVs、一部の免疫系細胞（例えば、Treg等）由来のEVs、網状赤血球由来のEVsも、高マンノース型糖鎖を有するトランスフェリンレセプターが表面に存在するため、高マンノース型糖鎖特異的レクチンに特異的に結合する。このため、これらのEVsに搭載されたmiRNAも、miR-122-5p以外の補助的なmiRNAとして、本実施形態のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法に使用される。

[0038] 高マンノース型糖鎖特異的レクチンとしては、例えば、紅藻*Solieria robusta*由来レクチン（SolninA、SolninB、SolninC）、紅藻*Eucheuma serrata*由来レクチン（ESA-1、ESA-2）、紅藻*E. amakusaensis*由来レクチン（EAA-1、EAA-2、EAA-3）、紅藻*E. denticulatum*由来レクチン（EDA-1、EDA-2、EDA-3）、紅藻*Kappaphycus alvarezii*由来レクチン（ECA-1（KAA-1）、ECA-2（KAA-2）、KAA-3）、紅藻*K. striatum*由来レクチン（KSA-1、KSA-2）、紅藻*Meristotheca papulosa*由来レクチン（MPA-1、MPA-2）、紅藻*Gracilaria bursa-pastoris*由来レクチン（Granin-BP）、紅藻*Agardhiella subulata*由来レクチン（ASL-1、ASL-2）、*Oscillatoria agardhii*由来レクチン（OAA）、緑藻*Boodlea coacta*由来レクチン

(BCA)、緑藻*Bryopsis plumosa*由来レクチン(BPL17)、緑藻*B. maxima*由来レクチン(BML17)、緑藻*B. corticulans*由来レクチン(BCL17)、紅藻*Meristotheca papulosa*由来レクチン(MPL-1)等が挙げられ、二種以上を併用してもよい。これらの中でも、がん陽性に対する判別能の点で、OAAが好ましい。

[0039] 高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されている基材としては、例えば、高マンノース型糖鎖特異的レクチンを固定化する担体として、シリカモノリスが内包されている、スピンカラム、ピペットチップ、マイクロ流路プレート(例えば、特開2018-191636号公報参照)等が挙げられる。

[0040] シリカモノリスの市販品としては、例えば、Mono Bisシリーズ(京都モノテック製)等が挙げられる。

[0041] 高マンノース型糖鎖特異的レクチンを基材に固定化する方法としては、公知の方法を用いることができる(例えば、特開2018-191636号公報参照)。

[0042] 上記以外の高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されている基材として、例えば、高マンノース型糖鎖特異的レクチンを固定化する担体として、充填材が充填されているカラム等を用いてもよい。

[0043] 被験者の体液(を高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されている基材と接触させることにより選択的に捕捉された成分)から、miRNAを抽出する方法としては、公知の方法を用いることができる。

[0044] miRNAの抽出に用いられる試薬の市販品としては、例えば、QIAzol Lysis Reagent(QIAGEN製)等が挙げられる。

[0045] 被験者の体液(を高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されている基材と接触させることにより選択的に捕捉された成分)から、miRNAを抽出した後、公知の方法を用いて、精製してもよい。

[0046] miRNAの精製に用いられる試薬の市販品としては、例えば、Nuc l

e o S p i n (登録商標) m i R N A P l a s m a (M A C H E R E Y - N A G E L 製) 等が挙げられる。

[0047] 体液中の m i R N A の発現レベルを検出する方法としては、例えば、リボ核酸ハイブリダイゼーションを利用する通常のアナリシフォーマットとして、核ランオンアッセイ、リアルタイムPCR、LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法、RNAse 保護アッセイ (Melton et al., Nuc. Acids Res. 12:7035)、ノーザンブロット法及び In Situ ハイブリダイゼーション、マイクロアレイ分析等が挙げられる。

[0048] 本実施形態においては、被験者の体液中の m i R - 1 2 2 - 5 p の発現レベルに加えて、被験者の体液中の m i R - 4 5 1 a (A A A C C G U U A C C A U U A C U G A G U U ; 配列番号 1 3) の発現レベルを検出することが好ましい。このとき、被験者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルが、健常者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルよりも減少していることを、進行がんの指標として用いる。即ち、被験者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルが、健常者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルよりも減少していると、被験者が進行がん罹患している (がん罹患していた被験者に進行がんが再発及び / 又は転移している) 可能性が高い。

[0049] 被験者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルが、健常者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルよりも減少していることを、進行がんの指標として用いることができる理由は、以下のように考えられている。

[0050] 進行がんは、長鎖非翻訳 RNA (lncRNA) の一種である CRNDE (Colorectal Neoplasia Differentially Expressed) を発現する。このため、がん細胞から血中に放出される EVs に CRNDE が搭載された後、骨髄に輸送される。骨髄に輸送された CRNDE は、赤血球前駆細胞に作用し、m i R - 4 5 1 a の発現を抑制するため、血中の m i R - 4 5 1 a が減少する。その結果、進行がん罹患している被験者の体液中の m i R - 4 5 1 a の発現レベルが、健常者

の体液中のmiR-451aの発現レベルよりも減少する。

- [0051] 本実施形態において、体液中のmiRNAの発現レベルは、体液中のmiRNAの、PCR産物が一定量になるPCRのサイクル数であるCT (threshold cycle) 値を測定し、当該CT値を公知の方法により、補正することにより得ることが好ましい。
- [0052] 体液中のmiRNAの発現レベルとしては、例えば、規定量の公知のmiRNAであるcel-miR-39-3p (UCACCGGGUGUAAAUCAGCUUG; 配列番号14) が添加された体液中のcel-miR-39-3pのCT値との差である体液中のmiRNAの Δ CT値、健常者の体液のプール検体中のmiRNAの Δ CT値との差である体液中のmiRNAの $\Delta\Delta$ CT値、体液中のmiRNAの発現量の相対値 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) 等が挙げられる。
- [0053] しかしながら、体液中のmiRNAの発現レベルを検出する度に、規定量のcel-miR-39-3pを体液に添加することは、手間がかかり、簡単な操作とはいえない。
- [0054] そこで、体液中のmiRNAの発現レベルを検出する際に、体液中のmiR-192-5p (CUGACCUAUGAAUUGACAGCC; 配列番号9)、miR-93-5p (CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG; 配列番号5)、miR-502-5p (AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA; 配列番号12) からなる群より選択される1種以上のmiRNAのCT値により、体液中のmiRNAのCT値を補正することが好ましい。これにより、がん陽性に対する判別能が向上することに加え、cel-miR-39-3pを体液に添加する必要がなくなり、操作も簡単になる。
- [0055] なお、体液中のmiRNAのCT値は、リアルタイムPCRにより、検出することができる。
- [0056] 本実施形態においては、被験者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルに加えて、被験者の体液中のmiR-126-3p (UCGUACCG

UGAGUAAUAAUGCG ; 配列番号6)、miR-192-5p、miR-93-5p、miR-423-3p (AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU ; 配列番号11)、miR-21-5p (UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA ; 配列番号3)、miR-130a-3p (CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU ; 配列番号7)、miR-23a-3p (AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC ; 配列番号4)、miR-146a-5p (UGAGAACUGAAUUC CAUGGGUU ; 配列番号8)、miR-199a-3p (ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA ; 配列番号10)、miR-15b-5p (UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA ; 配列番号2) からなる群より選択される1種以上のmiRNAの発現レベルを検出することが好ましい。このとき、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの発現レベルが、それぞれ健常者の体液中の上記1種以上のmiRNAの発現レベルよりも上昇していることを、がんの指標として用いる。即ち、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの発現レベルが、それぞれ健常者の体液中の上記1種以上のmiRNAの発現レベルよりも上昇していると、被験者ががんに罹患している（過去にがんに罹患しており、回復後の被験者にがんが再発及び／又は転移している）可能性が高い。

[0057] この場合、C5.0のアルゴリズムを用いた決定木学習により、上記1種以上のmiRNAを選択することが好ましい。これにより、がん陽性に対する判別能が向上する。

[0058] 具体的には、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの ΔCT (miR-192-5p) 値を検出する場合、miR-122-5p、miR-130a-3p、miR-146a-5pが選択される。

[0059] このとき、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値の閾値が-2.2~0.1であり、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値の閾値が-2.5~-1.5であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値の閾値が-6.7~-3.0で

ある。

- [0060] また、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの ΔCT (miR-93-5p) 値を検出する場合、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-146a-5p、miR-199a-3pが選択される。
- [0061] このとき、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値の閾値が1.0~4.0であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値の閾値が0.1~5.7であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値の閾値が-0.5~1.8である。
- [0062] また、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの ΔCT (miR-502-5p) 値を検出する場合、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-146a-5pが選択される。
- [0063] このとき、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値の閾値が-7.1~-2.6であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値の閾値が-2.5~-0.4であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値の閾値が-6.4~-3.8である。
- [0064] また、被験者の体液中の上記1種以上のmiRNAの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値を検出する場合、miR-122-5p、miR-126-3p、miR-146a-5pが選択される。
- [0065] このとき、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値の閾値が-0.8~1.8であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値の閾値が-4.6~-3.4であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値の閾値が-4.9~-2.0である。
- [0066] なお、各miRNAの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値は、各miRNAのCT値から、miR-9

3-5 p、miR-192-5 p及びmiR-502-5 pの平均CT値を引いた値である。

実施例

[0067] 以下、本発明の実施例を説明するが、本発明は、実施例に限定されるものではない。

[0068] [血しょう又は血清]

本実施例において、以下の血しょう又は血清を使用した。

[0069] 大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体

大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょう10検体

肝がん患者の血しょう3検体

乳がん患者の血しょう3検体

前立腺がん患者の血しょう2検体

肺がん患者の血しょう2検体

胃がん患者の血しょう2検体

食道がん患者の血しょう2検体

すい臓がん患者の血清2検体

健常者（非がん患者）の血しょう30検体

がん患者の血しょうは、株式会社ケー・イー・シー又は国際バイオ株式会社から購入した。

[0070] すい臓がん患者の血清は、福島県立医科大学から入手した。

[0071] 健常者の血しょうは、ボランティアから入手した。

[0072] 血しょう又は血清は、遠心分離（10,000×G, 5分間, 4℃）により得られた上清を、0.45µmフィルターでろ過したものを試料として使用した。

[0073] [レクチンカラム溶出画分の採取]

レクチンカラムを廃液用チューブにセットし、遠心処理（1,500×G, 2分間, 4℃）して保存液を捨てた。300µLのPBS溶液を加えて、遠心処理（1,500×G, 2分間, 4℃）し、レクチンカラムを洗浄した

。各試料150 μ Lをカラムに加えて、室温で5分間静置した後、遠心処理（1, 500 \times G, 2分間, 4 $^{\circ}$ C）して、フロースルー液を捨てた。300 μ Lの10倍濃度のPBS液を加えて、遠心処理（1, 500 \times G, 2分間, 4 $^{\circ}$ C）してレクチンカラムを洗浄した。上記と同一のレクチンカラムを洗浄する操作を3回繰り返した。3回目の洗浄液を捨てた後、遠心処理（3, 000 \times G, 1分間, 4 $^{\circ}$ C）して、レクチンカラムの液を完全に取り除いた。レクチンカラムを溶出液回収用チューブにセットし、100 μ LのQIAzol Lysis Reagent（QIAGEN製）を加えて、室温で5分間静置した後、遠心処理（400 \times G, 2分間, 4 $^{\circ}$ C）して溶出液を回収し、レクチンカラム溶出画分とした。

[0074] ここで、レクチンカラムとしては、スピンカラムに充填されたシリカモノリスに、高マンノース型糖鎖特異的レクチンとして、OAAを固定化することによって得られた、AIST-OAA固定スピンカラム（直径4mm、厚さ2mm、容量27 μ L、OAAの固定化量42 μ g）（京都モノテック製）を用いた。

[0075] [レクチンカラム溶出画分からのmiRNAの抽出及び精製]

レクチンカラム溶出画分に400 μ LのQIAzol Lysis Reagent（QIAGEN製）を加え、メーカーの処方により、miRNAの抽出液を得た後、250 μ Lのイソプロピルアルコール（cel-miR-39-3p含有）を加えた。ここで、cel-miR-39-3pは、microRNA（cel-miR-39）Spike-In Kit（NORGEN BIOTEK製）をイソプロピルアルコールで1000倍に希釈して使用した。miRNAの精製は、NucleoSpin（登録商標）miRNA Plasma（MACHEREY-NAGEL製）を、メーカーの処方により、使用して行った。

[0076] [血しょう画分からのmiRNAの抽出及び精製]

各試料100 μ Lに500 μ LのQIAzol Lysis Reagent（QIAGEN製）を加え、メーカーの処方により、miRNAの抽出

液を得た後、250 μ Lのイソプロピルアルコール (cel-miR-39-3p含有) を加えた。miRNAの精製は、NucleoSpin (登録商標) miRNA Plasma (MACHEREY-NAGEL製) を、メーカーの処方により、使用して行った。

[0077] [miRNAアッセイ]

miRNAアッセイは、TaqMan (登録商標) MicroRNA Assays (サーモフィッシャーサイエンティフィック製) を、メーカーの処方により、使用して行った。リアルタイムPCRは、7500 FastリアルタイムPCRシステム (サーモフィッシャーサイエンティフィック製) を、メーカーの処方により、使用して行った。

[0078] 表1に、miRNAアッセイに使用した14種類のmiRNAを示す。

[0079] [表1]

miRNA	TaqMan miRNA assay ID	miRBase Accession#
cel-miR-39-3p	000200	MIMAT0000010
miR-21-5p	000397	MIMAT0000076
miR-451a	001141	MIMAT0001631
miR-130a-3p	000454	MIMAT0000425
miR-23a-3p	000399	MIMAT0000078
miR-146a-5p	000468	MIMAT0000449
miR-199a-3p	002304	MIMAT0000232
miR-122-5p	002245	MIMAT0000421
miR-93-5p	001090	MIMAT0000093
miR-192-5p	000491	MIMAT0000222
miR-15b-5p	000390	MIMAT0000417
miR-423-3p	002626	MIMAT0001340
miR-126-3p	000450	MIMAT0002957
miR-502-5p	001109	MIMAT0002958

[0080] ここで、miRNAの ΔCT (miR-93-5p) 値、 ΔCT (miR-192-5p) 値、 ΔCT (miR-502-5p) 値、 ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値、 $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値を各統計計算に用いた。全データは、各3回とり、その平均値を使用した。

[0081] 表2Aに、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの ΔCT (miR-93-5p) 値を示す。

[0082]

[表2A]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-0.98660	-4.94385	2.70997	5.14991	1.96349	5.78306	2.13737	4.10255	3.48902	5.69062	3.83106
2	-0.09367	-4.21212	4.01553	4.47535	2.09055	4.95902	-0.65516	3.31694	3.32657	5.53596	3.88518
3	0.29176	-4.83290	3.99328	5.06551	2.5076	6.59223	1.22670	3.85626	3.92794	5.95746	4.72562
4	1.78400	-1.96025	4.79618	7.25198	3.03803	7.99673	-0.26277	4.02796	7.79753	7.84424	4.94308
5	-1.52317	-4.81285	-9.24768	3.55720	0.56835	3.58726	-1.78463	0.74497	3.23108	4.15425	0.28338
6	0.92243	-3.67792	4.84596	4.44727	3.89439	6.52987	0.83416	3.03257	5.9320	8.17168	4.17211
7	0.39572	-2.82382	4.79223	4.26897	3.2521	6.22186	0.52521	3.51240	6.08354	6.85418	4.17521
8	1.11520	-3.25439	4.71347	4.21511	3.60271	6.52877	1.79781	3.51651	6.72685	8.11726	4.74175
9	0.49709	-3.93330	3.77708	4.76805	3.37029	5.97975	1.86797	4.01040	8.44263	9.33629	5.20539
10	2.07380	-3.86859	3.93877	4.85488	3.94927	7.30983	2.36099	4.68900	5.47083	7.11464	2.90264
11	0.93195	-4.31946	3.37171	4.90786	2.53167	6.80009	0.35502	3.86908	4.94959	6.61354	2.26488
12	0.40494	-3.95282	3.25606	4.28156	1.41168	3.36138	3.91690	4.30681	2.88389	4.66451	0.89163
13	1.96179	0.44295	2.71672	4.91992	0.30432	1.98079	4.56948	6.96461	1.09163	2.03257	-0.47450
14	1.35105	-0.96333	3.18291	4.30836	0.06345	2.15860	2.67342	6.68922	1.38739	2.55474	-0.33216
15	1.19966	-0.87199	2.95445	4.09730	0.00656	1.46866	5.32063	6.88061	0.91107	2.95677	-0.57803
16	1.63376	1.52030	4.18079	3.58280	-0.26885	1.11485	7.18974	7.69725	1.27995	1.86721	-0.57644
17	0.52025	0.02651	3.63095	3.54259	-0.12792	0.95028	2.61979	6.72342	1.12530	2.17649	-0.65048
18	1.23458	-0.61008	3.92986	3.53145	-0.21314	1.17661	3.03139	5.41186	1.15308	1.79621	-0.28941
19	1.76939	-1.52527	3.73286	3.28091	0.01759	2.22768	1.98001	4.73065	1.99142	2.75167	-0.21263
20	1.21550	-0.63726	3.25102	2.91425	0.06128	1.42054	4.43267	5.90192	1.08528	1.90203	-0.57406
21	1.40578	0.46517	3.83428	2.39506	-0.25649	1.68026	5.61841	6.63584	1.07410	1.72313	-0.64834
22	-0.08196	-1.45861	2.42476	2.94871	-1.64997	0.68145	4.64662	5.37060	1.53352	1.97320	-0.55044
23	0.40913	-1.32653	2.84683	3.17542	-0.80316	1.22149	3.34326	6.03497	1.28758	2.35282	-0.30485
24	-0.49978	-2.41334	2.52523	2.38827	-0.94945	0.94340	1.36205	4.59503	0.98784	2.10630	-0.90913
25	0.33319	-1.77506	3.99104	4.39943	1.15443	4.38035	0.79545	2.63767	2.95954	4.39012	0.89587
26	-0.00885	-1.86409	4.36441	4.11789	0.87191	2.66547	0.13055	2.44925	2.38757	4.09747	0.72048
27	-0.12860	-2.40923	4.11261	4.13125	1.52076	5.00666	-1.30321	1.71556	3.80583	4.31404	1.49175
28	-0.23283	-2.19728	3.05421	3.14180	0.93224	2.43096	1.83642	4.45150	2.48741	3.58833	0.77998
29	0.21706	-1.77752	3.68294	3.58362	0.72180	2.24337	2.15965	4.17697	2.11892	4.06011	0.48604
30	0.06054	-4.07463	3.77405	4.01196	1.06947	3.60425	1.44913	4.11743	3.46408	5.65650	1.51993
ave.	0.60577	-2.26805	3.19842	4.05482	1.16171	3.63018	2.13250	4.53906	3.13447	4.41115	1.37457
med.	0.45311	-2.07876	3.65861	4.12457	0.90208	3.01342	1.90822	4.24189	2.68565	4.12586	0.70606

[0083] なお、各miRNAの ΔCT (miR-93-5p) 値は、各miRNAのCT値から、miR-93-5pのCT値を引いた値である。

[0084] 表2Bに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの ΔCT （miR-93-5p）値を示す。

[0085] [表2B]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	0.763449	0.405872	3.194877	4.619816	0.694211	2.063599	4.617812	6.157804	5.807791	5.725878	3.956548
2	0.910776	0.365516	2.547167	4.282846	-1.259517	1.896888	8.530247	5.641238	3.768859	4.566257	2.155777
3	0.425322	2.097745	1.911254	4.508093	-1.068131	1.621456	7.854367	6.834477	4.655085	4.700655	2.228148
4	0.094871	-1.464904	2.429181	2.885041	-1.043896	0.787154	6.604251	5.985749	5.098802	4.877548	2.858595
5	0.551036	-3.687921	2.708818	3.596027	-0.154460	1.565054	1.687044	4.257119	4.849306	5.847499	2.693857
6	0.133166	-2.673779	3.022615	3.709316	0.018989	1.230328	6.466176	1.230328	4.342710	5.098341	2.365257
7	0.503231	-2.477908	1.788710	3.439628	0.937894	2.753282	4.585869	4.602157	3.222793	3.190219	2.624909
8	-0.622045	-2.968513	2.433776	3.074702	1.679368	3.884748	5.234422	4.414756	2.722254	3.752525	1.796633
9	-0.637695	-3.442012	2.360563	2.496862	0.240440	1.648001	7.118817	4.569563	2.835823	2.604270	2.846956
10	1.597317	-4.009590	3.422548	4.706535	1.740973	4.280229	5.538759	4.762173	3.724450	5.029799	1.602283
11	0.855263	-2.445388	2.511273	3.499837	0.652806	2.626712	8.217932	4.844166	3.742689	5.005657	1.131574
12	1.319653	-2.995601	2.331548	3.377112	0.701804	3.360408	4.111207	5.112790	2.553377	4.312939	0.942732
13	1.540833	-0.685124	3.505957	4.609970	0.461114	2.143292	4.669240	7.028085	1.740100	3.348384	-0.139166
14	1.633807	2.389364	4.393279	4.393279	-0.327878	2.009486	8.150914	7.738539	1.532081	1.775576	0.098494
15	2.068815	-0.794182	4.235335	4.624677	-0.159121	2.042981	6.123542	6.122737	1.695268	2.000285	0.065358
16	0.786720	1.909568	3.518787	4.044671	-0.392368	1.354837	7.652563	7.356671	2.001935	3.054364	-0.161505
17	1.208860	0.990431	3.085023	3.482531	-0.204741	1.623030	9.795748	6.683880	1.296275	2.286915	-0.147486
18	1.106189	0.370945	3.824891	3.452328	0.440292	1.681949	6.382941	6.837789	1.902121	2.274681	0.591621
19	0.870721	-0.072340	2.795130	2.429821	-0.413336	1.481335	5.900071	5.597620	1.142699	1.961227	-0.947119
20	1.057148	0.084239	2.775568	2.898621	-0.006754	1.707282	9.698807	6.139286	1.442113	2.287408	-0.127342
21	1.030930	3.879818	2.656009	2.960730	0.134971	1.361264	11.878954	7.429307	1.405998	1.395393	-0.229201
22	0.190173	-2.759601	2.656107	3.473870	-0.389090	1.593432	1.392890	4.784887	2.134064	2.791477	-0.452063
23	-0.174886	-1.314398	2.697840	2.736945	-0.401779	1.487434	3.265143	5.290538	1.788198	2.281827	-0.165902
24	-1.320034	-2.875446	1.423469	1.880984	-1.570918	0.678118	3.073232	3.853559	1.443865	2.246854	-0.376342
25	0.239088	-0.897825	2.757771	3.903531	-0.621775	1.597271	4.967750	5.379037	1.356061	2.868576	-0.412595
26	0.065090	1.746020	2.823939	3.508763	-0.961969	1.284824	6.489676	6.755734	1.226522	2.481082	-0.486701
27	0.296069	-0.322800	2.537613	3.729201	-0.825223	3.92754	0.320770	4.585793	1.738399	2.790165	-0.237266
28	0.330992	0.340411	3.104577	3.685949	-0.210217	1.178521	0.916936	5.472702	1.929981	2.765940	-0.007158
29	0.497203	-0.728239	3.636117	3.696871	0.569696	1.259974	4.277594	6.213336	1.881163	2.891495	0.373139
30	0.969077	0.304180	3.583825	4.182642	0.492388	2.157085	4.904620	6.052835	2.080959	3.358803	0.925131
ave.	0.603031	-0.717715	2.831186	3.595133	-0.041538	1.931751	5.614263	5.590648	2.566851	3.316101	0.845572
med.	0.610879	-0.691475	2.733295	3.552395	-0.156790	1.635516	5.719415	5.619429	1.965956	2.880036	0.235817

[0086] 表2Cに、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の ΔCT (miR-192-5p) 値を示す。

[0087] [表2C]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-12b-3p
1	-5.08914	-9.04640	-1.39257	1.04736	-2.13905	1.68051	-1.98518	-4.10255	-0.63353	-2.15927	-2.15927
2	-3.41060	-7.52906	0.69860	1.15842	-1.22639	1.54208	-3.97210	-3.31694	0.00964	-1.87350	-1.87350
3	-3.58650	-8.69116	-0.46498	1.20726	-1.30750	2.73398	-2.63156	-3.85826	0.06968	-1.96421	-1.96421
4	-2.26396	-5.98820	0.76823	3.22402	-0.98993	3.96878	-4.29073	-4.02796	1.24964	-1.60481	-1.60481
5	-2.26814	-5.55782	1.48086	2.81223	-0.17662	2.84228	-2.52960	-0.74497	1.10308	2.02625	-1.84462
6	-2.11014	-6.71049	1.61339	1.41470	0.96181	3.49730	-2.19842	-3.03257	-1.82957	0.74891	-3.25066
7	-3.11688	-6.33823	1.27983	0.75657	-0.28719	2.70946	-2.98719	-3.51240	-1.05941	-0.28876	-2.96773
8	-2.40131	-6.77090	1.19697	0.69860	0.08620	3.01226	-1.71859	-3.51651	0.52340	1.91380	-1.46170
9	-3.51332	-7.94370	-0.23332	0.75764	-0.64011	1.96835	-2.34244	-4.01040	2.08776	2.98141	-1.14948
10	-2.61520	-8.55759	-0.75023	0.16588	-0.73973	2.62063	-2.32601	-4.68900	0.78183	2.42584	-1.78636
11	-2.93713	-8.18864	-0.49737	1.03877	-1.33741	2.93100	-3.51406	-3.86908	1.08051	2.74446	-1.60441
12	-3.90187	-8.25963	-1.05075	-0.02526	-2.89513	-0.94543	-0.38991	-4.30681	-1.42292	0.35770	-3.61518
13	-5.00281	-6.52165	-4.24789	-2.04469	-6.66029	-4.98382	-2.39513	-6.96461	-5.87298	-4.33204	-7.43911
14	-5.33817	-7.85255	-3.50631	-2.38087	-6.82578	-4.53082	-4.01580	-6.68922	-5.30183	-4.13448	-7.02138
15	-5.68095	-7.75260	-3.92616	-2.78331	-6.87405	-5.41195	-1.55998	-8.88061	-5.96954	-3.92384	-7.45663
16	-6.06349	-6.17895	-3.51646	-4.13445	-7.96610	-6.58240	-0.50751	-7.69725	-6.41730	-5.83004	-8.27369
17	-6.20318	-6.69691	-3.09247	-3.18084	-6.85135	-5.77315	-4.10363	-6.72342	-5.59812	-4.54693	-7.37390
18	-4.17728	-6.02194	-1.48200	-1.88040	-5.62500	-4.23525	-2.38047	-5.41186	-4.25878	-3.61565	-5.88127
19	-2.96126	-6.25592	-0.99779	-1.44974	-4.71306	-2.50297	-2.75064	-4.73065	-2.73923	-1.97898	-4.94328
20	-4.68642	-6.53918	-2.65090	-2.98767	-5.84084	-4.48137	-1.46924	-5.90192	-4.81664	-3.99988	-6.47598
21	-5.23008	-6.17067	-3.00156	-4.24079	-6.88234	-4.95558	-1.01744	-6.63584	-5.56174	-4.91272	-7.28418
22	-5.43246	-6.82920	-2.94583	-2.42188	-7.02057	-4.68915	-0.72398	-6.37060	-3.83708	-3.39740	-5.92104
23	-5.62585	-7.36151	-3.38815	-2.85956	-6.63814	-4.81348	-2.69171	-6.03497	-4.74739	-3.68215	-6.33982
24	-5.09481	-7.00836	-2.06979	-2.25675	-5.54447	-3.65163	-3.23298	-4.59503	-3.60718	-2.48873	-5.50416
25	-2.30448	-4.41273	1.35337	1.76177	-1.48324	1.74269	-1.84222	-2.63767	0.32187	1.75246	-1.64180
26	-2.45810	-4.31334	1.91516	1.66884	-1.57734	0.21822	-2.31870	-2.44925	-0.06168	1.64822	-1.72877
27	-1.84416	-4.12479	2.39705	1.99402	-0.19480	3.29110	-3.01877	-1.71558	2.09027	2.17681	-0.22381
28	-4.68433	-6.64878	-1.39729	-1.30970	-3.51925	-2.02054	-2.61508	-4.45150	-1.96409	-0.88317	-3.67152
29	-3.95991	-5.95449	-0.49404	-0.59335	-3.45517	-1.93360	-2.01732	-4.17697	-2.05805	-0.11688	-3.69083
30	-4.05689	-8.19206	-0.34338	-0.10547	-3.04796	-0.51318	-2.66830	-4.11743	-0.65335	1.53907	-2.59781
ave.	-3.93329	-6.80711	-0.95819	-0.49829	-3.37735	-0.90888	-2.40656	-4.53906	-1.96976	-1.20062	-3.95170
med.	-3.93089	-6.70370	-0.87401	-0.06536	-2.97155	-0.72931	-2.38780	-4.24189	-1.62624	-1.73915	-3.43292

[0088] なお、各miRNAの ΔCT (miR-192-5p) 値は、各miRN

AのCT値から、miR-192-5pのCT値を引いた値である。

[0089] 表2Dに、大腸がん（ステージ1）患者の試料のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの Δ CT（miR-192-5p）値を示す。

[0090] [表2D]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-5.39436	-5.75193	-2.98293	-1.53799	-5.46359	-4.09421	-1.53999	-6.15780	-4.43730	-4.51921	-6.28854
2	-4.73046	-5.27572	-3.09407	-1.35839	-6.90075	-3.74455	2.88901	-5.64124	-4.56401	-3.76441	-6.17489
3	-6.40916	-4.73673	-4.92322	-2.32638	-7.90261	-5.21302	1.01989	-6.83448	-3.88337	-3.75780	-6.31031
4	-5.89088	-7.45065	-3.55657	-3.10071	-7.02964	-5.19880	0.61850	-5.98575	-2.97145	-3.19071	-5.20966
5	-3.70608	-7.94504	-1.54830	-0.66109	-4.41158	-2.89206	-2.57008	-4.25712	-1.03890	-0.24071	-3.19435
6	-1.09716	-3.90411	1.79229	2.47899	-1.21134	0.00000	5.23585	-1.23033	-1.99817	-3.97563	-3.97563
7	-4.09893	-7.08007	-2.81345	-1.16253	-3.66426	-1.84888	-0.01629	-4.60216	-1.37936	-3.37832	-3.37832
8	-5.03680	-7.36327	-1.98098	-1.34005	-2.73539	-0.53001	0.81967	-4.41476	-1.69250	-4.54132	-4.54132
9	-5.20726	-8.01157	-2.20900	-2.07270	-4.32912	-2.92156	2.54905	-4.56956	-1.73374	-4.11768	-4.11768
10	-3.16486	-8.77176	-1.33962	-0.05564	-3.02120	-0.48194	0.77659	-4.76217	-1.03772	0.26763	-3.15969
11	-3.98890	-7.28953	-2.33289	-1.34433	-4.19126	-2.21745	1.37377	-4.84417	-1.10160	0.16149	-3.71259
12	-3.79314	-8.10839	-2.78124	-1.73568	-4.41099	-1.75238	-1.00158	-2.55741	-2.55741	-0.79985	-4.17006
13	-5.48725	-7.71321	-3.52213	-2.41811	-6.56697	-4.88479	-2.35884	-7.02809	-5.28798	-3.67870	-7.16725
14	-6.10493	-5.34917	-5.08325	-3.34526	-8.06642	-5.72905	0.41238	-7.73854	-6.20646	-5.96296	-7.64004
15	-4.05392	-6.91692	-1.88740	-1.49806	-6.28186	-4.07976	0.00080	-6.12274	-4.42747	-4.12245	-6.05738
16	-6.56995	-5.44710	-3.63798	-3.31200	-7.74304	-6.00183	0.29589	-7.35667	-5.35474	-4.30231	-7.51818
17	-5.45982	-5.67825	-3.58366	-3.18615	-8.7342	-5.04565	3.12707	-6.66868	-5.37041	-4.38177	-6.81617
18	-5.73160	-6.46684	-3.01290	-3.38546	-6.39750	-5.15584	-0.45485	-6.83779	-4.93567	-4.56313	-6.24617
19	-4.92690	-5.68996	-2.80249	-3.16780	-6.01096	-4.11829	0.30245	-5.59762	-4.45492	-3.83839	-6.54474
20	-5.08214	-6.06505	-3.36372	-3.24067	-6.14604	-4.43290	3.55852	-6.13929	-4.69717	-3.84188	-6.26663
21	-6.39838	-3.54949	-4.77330	-4.48858	-7.29434	-6.06804	4.44985	-7.42931	-6.02331	-6.03391	-7.65851
22	-4.59471	-7.54449	-2.12878	-1.31102	-5.17398	-3.19146	-3.39220	-4.78489	-2.65082	-1.99341	-5.23895
23	-5.46542	-6.60494	-2.59270	-2.55359	-5.69232	-3.80310	-2.02539	-5.29054	-3.50434	-3.00871	-5.45644
24	-5.17359	-6.72901	-2.43009	-1.97257	-5.42448	-3.17544	-0.78033	-3.85356	-2.40969	-1.60671	-4.22990
25	-5.13995	-6.07686	-2.62127	-1.47551	-6.00081	-3.78177	-0.41129	-5.37904	-4.02298	-2.51046	-5.79163
26	-6.89064	-5.00971	-3.93180	-3.24697	-7.71770	-5.47091	-0.26806	-6.75573	-5.52921	-4.27465	-7.24243
27	-4.28972	-4.90859	-2.04818	-0.85659	-5.41102	-0.99304	-4.28502	-4.58579	-2.84739	-1.79563	-4.82306
28	-5.14171	-5.13229	-2.36813	-1.78675	-5.68292	-4.29418	-4.55577	-5.47270	-3.54272	-2.68676	-5.47986
29	-5.71613	-6.94157	-2.57722	-2.55367	-5.04364	-4.95336	-1.93574	-6.21334	-4.33217	-3.32184	-5.84020
30	-5.08376	-5.74866	-2.46901	-1.87019	-5.56045	-3.89575	-1.14821	-6.05284	-3.97188	-2.69403	-5.12770
ave.	-4.98762	-6.30838	-2.75946	-1.99552	-5.63219	-3.65890	0.02361	-5.59065	-3.59883	-3.20907	-5.51255
med.	-5.14083	-6.27185	-2.70125	-1.92138	-5.68762	-3.98775	-0.00774	-6.81943	-3.92762	-3.65755	-5.63575

[0091] 表 2 E に、健常者の血しょう 30 検体のレクチンカラム溶出画分の m i R
NA の $\Delta\Delta C T$ (c e l - m i R - 3 9 - 3 p) 値を示す。

[0092]

[表2E]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-128-3p
1	1.42703	-0.08847	0.80032	2.23695	1.65026	2.72311	5.38899	4.53823	2.24331	1.34322	2.49413	-0.05202
2	2.92859	1.25189	2.71451	2.17103	2.38595	2.40770	3.20509	4.36125	2.85194	1.79340	2.93210	0.34568
3	2.64914	-0.03376	1.42738	2.09631	2.18129	3.47604	4.42208	4.23770	2.18707	1.18662	2.14546	0.25256
4	1.09500	0.17228	0.25595	1.27297	1.66169	3.41095	2.75792	3.84518	0.58994	1.76132	0.76040	0.23648
5	0.60532	0.11717	-0.06049	0.37567	1.98950	1.79896	4.03355	3.35968	3.38743	0.25063	0.99062	-0.18064
6	-0.12275	-1.92158	-0.27047	-1.90793	2.14186	1.56789	3.47866	2.47360	0.21375	-1.94961	0.44568	-0.85427
7	-0.43488	-0.85291	0.09038	-1.87165	1.68726	1.47447	3.38429	3.16801	0.42833	-0.67570	-0.08823	-0.06759
8	-0.26641	-1.83447	-0.53938	-2.47651	1.51376	1.23037	4.10600	2.62111	-0.12267	-0.93565	0.27157	-0.40432
9	0.56866	-1.06020	-0.02259	-0.47040	2.73452	2.13453	5.42923	4.56819	1.33051	0.13446	0.84493	-0.58634
10	0.72911	-1.26285	-0.51789	-0.67883	0.81292	0.41425	2.77619	0.98518	-0.34430	0.36782	-0.30374	-0.34278
11	-0.04418	-1.36516	-0.71619	-0.25729	-0.23613	0.27307	1.13878	0.53382	0.02425	0.21513	-0.43628	-0.61219
12	-0.06811	-0.49545	-0.32877	-0.38052	-0.85304	-2.86257	5.20374	1.47462	0.52733	-1.34749	-1.88224	-1.68215
13	-2.69701	-0.62959	-4.71086	-4.36243	-4.98410	-6.29903	3.41381	2.06797	-2.26596	-6.58639	-6.77774	-6.24783
14	-3.10176	-1.82987	-4.03866	-4.76800	-6.01898	-5.91522	1.72375	1.99858	-2.05997	-6.08463	-6.04958	-5.89949
15	-3.14564	-1.63102	-4.15962	-4.87154	-4.96835	-6.49765	4.47847	2.29748	-1.95245	-6.45344	-5.54003	-6.03594
16	-3.76207	-1.25381	-5.65557	-6.53103	-7.01021	-8.23844	4.92087	1.72518	-3.84647	-7.88412	-7.63845	-7.58803
17	-3.53975	-1.41177	-4.86958	-5.21541	-5.53346	-7.06719	1.68674	2.08718	-2.51064	-6.70294	-5.99334	-6.32625
18	-1.91125	-1.13418	-3.65649	-4.31237	-4.70450	-5.92668	3.01252	1.68979	-1.59646	-5.76099	-5.45945	-5.03100
19	-0.05252	-3.34719	1.91094	1.45900	-1.80432	0.40577	0.15810	2.90874	-2.32418	-6.18222	-6.95509	-6.04488
20	0.36285	-1.48991	2.39838	2.06160	-0.79137	0.56790	3.58003	5.04927	-1.35492	-6.11910	-6.83546	-5.43704
21	-1.01050	-1.95108	1.21803	-0.02120	-2.67275	-0.73599	3.20215	4.21959	-2.91853	-7.69388	-8.57798	-7.07493
22	-2.94721	-2.54744	-4.74205	-4.33595	-6.02264	-7.24303	4.55938	1.55287	-2.12996	-6.49260	-6.58804	-6.29608
23	-2.32102	-2.26016	-4.36478	-3.95403	-4.82063	-6.54778	3.41123	2.37245	-1.97475	-6.58332	-6.05321	-5.89527
24	-1.75096	-1.86799	-3.00740	-3.31220	-3.68793	-5.34689	2.90899	2.41148	-0.49577	-5.40409	-4.82076	-5.02058
25	0.82328	0.25822	0.31446	-0.16126	0.35965	-0.05207	4.43464	2.58777	1.97290	-1.12823	-0.38853	-0.94595
26	0.47389	0.16183	0.68047	-0.45016	0.06978	-1.77431	3.76239	2.29200	1.96554	-1.70754	-0.68853	-1.22869
27	0.76252	0.02508	0.83706	-0.25552	1.12701	0.97526	2.73701	2.06670	2.37393	0.11910	-2.68800	-0.04904
28	0.35201	0.54525	-0.49100	-0.87210	-0.44278	-1.41927	5.47938	3.95905	1.96424	-1.12911	-1.01550	-1.05223
29	0.71999	0.88309	0.05581	-0.51218	-0.73514	-1.68877	5.72068	3.50261	1.86233	-1.57951	-0.60563	-1.42807
30	0.45903	-1.51846	0.04249	-0.18829	-0.49190	-0.43233	4.90572	3.33863	1.77789	-0.33879	0.86632	-0.49893
ave.	-0.44065	-0.94642	-0.98018	-1.34978	-1.14876	-1.49957	3.64735	2.80990	-0.00588	-2.71892	-2.45382	-2.75492
med.	-0.04835	-1.19399	-0.16548	-0.49129	-0.46734	-0.24220	3.52935	2.53069	0.11900	-1.46350	-0.85202	-1.14046

[0093] なお、各miRNAの ΔCT (cel-miR-39-3p) 値は、各miRNAのCT値から、cel-miR-39-3pのCT値を引いた値である。

[0094] また、各miRNAの $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39) 値は、各miRNAの ΔCT (cel-miR-39-3p) 値から、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体の各miRNAの ΔCT (cel-miR-39-3p) 値を引いた値である。

[0095] 表2Fに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39-3p) 値を示す。

[0096]

[表2F]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-2.7205	1.8123	-5.8652	-3.8932	-4.1155	-5.1763	4.6088	2.6839	-0.9229	-3.5582	-3.8233	-2.8930
2	-3.2962	1.0489	-7.0359	-4.9552	-6.7922	-6.0662	7.7992	1.4443	-1.6480	-4.7171	-4.1007	-3.8115
3	-5.4111	1.1517	-9.3013	-6.3594	-8.2303	-7.9709	5.4939	1.0081	-3.2754	-5.6930	-5.7506	-5.6035
4	-3.7338	0.1674	-4.8313	-5.3072	-5.5660	-7.2361	6.1571	2.0573	-1.8001	-4.5315	-4.9339	-4.2532
5	-1.5064	-0.2844	-2.7805	-2.8250	-2.9053	-4.6869	3.0111	2.0999	-0.0269	-2.3299	-1.7149	-1.9689
6	-3.6012	-0.9471	-4.1435	-4.3886	-4.4087	-6.6985	6.1133	-2.6038	-1.7058	-3.9550	-5.3122	-3.7825
7	1.0633	0.5239	-1.9745	-1.3289	-1.2289	-2.1603	5.9839	3.1843	0.3897	-1.5759	-2.6791	-2.8087
8	0.9912	1.0865	-0.2763	-0.6387	0.5657	0.0244	7.6857	4.0500	1.4429	-1.0500	-1.0904	-1.9813
9	-0.2997	-0.6623	-1.6247	-2.4918	-2.1484	-3.4876	8.2946	2.9296	0.1677	-2.3060	-3.8082	-2.9221
10	-0.0497	-1.7262	-1.3362	-1.1295	-1.6977	-2.9177	5.6516	0.7560	-0.6466	-1.6809	-2.6909	-1.9455
11	0.5656	1.1954	-0.8901	-0.9788	-1.4284	-3.2138	7.6882	2.1954	0.7107	-0.3053	-1.3577	-1.0588
12	0.3039	-0.0809	-1.7959	-1.8276	-2.1056	-3.2082	4.8554	1.7379	-0.0153	-2.2187	-2.7765	-1.9737
13	-2.2604	-0.9001	-3.0641	-3.8148	-3.9698	-5.2790	4.3711	2.9890	-1.4084	-5.0804	-4.6034	-5.0549
14	-3.4492	0.8928	-5.1963	-5.3131	-6.0403	-6.6943	6.5712	2.4179	-2.6900	-6.5700	-7.4587	-6.0988
15	-2.4743	-1.7510	-3.0765	-4.5419	-5.3318	-6.1211	5.0836	1.3418	-2.1502	-5.8670	-6.6943	-5.5922
16	-3.6689	0.0756	-5.3774	-5.1090	-6.1936	-7.0583	6.3239	3.2248	-2.9063	-6.2220	-5.5111	-6.2329
17	-3.3348	-0.9315	-5.8992	-5.7591	-6.0940	-6.8781	8.3790	1.5488	-2.9943	-7.0136	-6.3666	-6.3069
18	-2.6615	-0.7750	-4.3833	-5.0133	-4.6729	-6.0432	5.7422	2.4939	-2.2183	-5.6338	-5.6028	-4.7918
19	0.0667	-0.6763	2.1912	1.8258	-1.0173	0.8774	5.2961	4.9936	-1.1062	-5.8130	-6.5276	-5.5614
20	-0.7306	-1.7035	0.9878	1.1109	-1.7945	-0.0804	7.9111	4.3516	-2.2900	-6.6973	-7.3752	-5.9254
21	-3.7672	-0.9183	-2.1421	-1.8374	-4.6632	-3.4369	7.0808	2.6312	-5.3004	-9.7439	-11.2876	-9.0377
22	-1.3398	-2.4930	-3.1553	-2.4554	-3.4063	-4.9756	2.6609	2.3226	-0.7745	-4.5366	-4.4143	-4.8423
23	-3.3167	-2.6597	-4.7254	-4.8042	-5.0309	-6.6935	2.9214	1.2163	-2.3884	-6.4964	-6.5359	-6.1880
24	-1.8371	-1.5960	-3.3750	-3.0354	-3.5753	-4.8780	5.3543	2.4042	0.2384	-4.2139	-3.9461	-3.7537
25	-3.2820	-2.6757	-4.9300	-4.6684	-5.4277	-6.8463	4.5958	1.3180	-2.0383	-6.7429	-5.8448	-6.3656
26	-2.6711	0.5531	-4.0789	-4.2782	-4.9830	-6.3738	6.9026	3.4796	-1.2533	-6.0875	-5.5238	-5.8546
27	-2.1129	-1.1886	-4.0380	-3.7306	-4.5191	-3.7387	1.0609	1.6368	-0.9262	-5.2484	-4.8876	-5.0782
28	-2.8252	-0.6581	-4.1816	-4.0689	-5.3262	-6.4127	0.8189	1.1393	-1.7788	-5.4275	-5.5389	-5.5804
29	-2.9501	-2.0179	-3.9413	-4.3864	-4.8375	-6.8224	3.8884	1.5887	-2.0679	-5.7675	-5.7245	-5.4912
30	-2.1010	-0.6082	-3.6163	-3.4661	-4.5375	-5.3480	4.8927	1.8055	-1.6906	-5.1904	-4.8799	-4.5620
ave.	-2.0804	-0.5582	-3.4552	-3.3163	-4.0494	-4.8486	5.4400	2.1182	-1.4357	-4.7425	-4.9520	-4.5700
med.	-2.5679	-0.6693	-3.7788	-3.8550	-4.5283	-5.3135	5.5728	2.1476	-1.6683	-5.2194	-5.1230	-4.9486

[0097] 表 2 G に、健常者の血しょう 30 検体のレクチンカラム溶出画分の $\Delta C T$ (miR-502-5p) 値を示す。

[0098]

[表2G]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-2.4931	-7.0851	0.2382	1.3577	-0.9290	1.8195	-0.2036	-3.8926	0.3443	-1.4957	0.7342	-0.9555
2	-2.3092	-4.6618	0.9820	0.9116	-1.2312	1.2306	-2.5784	-2.8504	0.7399	-0.1601	2.2691	0.1453
3	-2.3771	-6.0119	0.2992	1.6659	-0.5364	1.2050	-2.5502	-4.0666	0.5030	-1.3842	1.0137	-0.4807
4	-1.8982	-3.0877	0.3902	2.5036	0.1945	2.4478	-2.7641	-3.3062	0.5959	2.9732	3.4121	0.1188
5	-2.6999	-3.2207	0.0187	0.5009	-1.3171	0.5678	-3.3516	-3.7750	-0.4127	2.1374	3.0606	-0.8103
6	-3.5365	-8.3010	0.1393	0.2700	-1.7402	0.0701	-4.3743	-5.6032	-1.1123	-0.3850	2.1934	-1.8061
7	-1.9557	-5.6935	1.9296	2.5375	-0.5986	2.9015	-2.8089	-3.2457	0.7520	1.5565	2.3272	-0.3518
8	-3.2347	-7.7407	0.2075	-0.2122	-1.9318	0.6853	-3.3084	-4.8139	-1.0593	0.7995	2.1899	-1.1856
9	-2.3954	-8.4845	0.0229	0.4490	-1.4722	1.6190	-2.7715	-4.0480	-0.1876	2.6326	3.5262	-0.6047
10	-3.6990	-9.6414	-1.8340	-0.9179	-1.8235	1.5371	-3.4118	-5.7728	-1.0838	-0.3019	1.3419	-2.8701
11	-4.9977	-10.2491	-2.5579	-1.0218	-3.3980	0.8705	-5.5746	-5.9296	-2.0605	-0.9800	0.6839	-3.6649
12	-5.5511	-9.9089	-2.7000	-1.6745	-4.5444	-2.5947	-2.0392	-5.9561	-1.8493	-3.0722	-1.2916	-5.2645
13	-5.6105	-7.1293	-4.8555	-2.8523	-7.2679	-5.5915	-3.0028	-7.5723	-0.8076	-6.4806	-5.5397	-8.0468
14	-7.0616	-9.3760	-5.2297	-4.1043	-8.3492	-6.2540	-5.7392	-8.4126	-1.7234	-7.0252	-5.8579	-8.7448
15	-6.8086	-8.8802	-5.0538	-3.9109	-8.0017	-6.5396	-2.6876	-8.0082	-1.1276	-7.0972	-5.0515	-8.5843
16	-6.9688	-7.0822	-4.4217	-5.0397	-8.8714	-7.4877	-1.4128	-8.6025	-0.9053	-7.3226	-6.7353	-9.1790
17	-7.7535	-8.2472	-4.6428	-4.7312	-8.4017	-7.3235	-5.6540	-8.2737	-1.5503	-7.1484	-6.0973	-8.9242
18	-6.3337	-8.1783	-3.6384	-4.0368	-7.7814	-6.3916	-4.5369	-7.5682	-2.1564	-6.4152	-5.7720	-7.8377
19	-4.9997	-8.2944	-3.0363	-3.4882	-6.7515	-4.5414	-4.7891	-6.7691	-2.0385	-4.7777	-4.0174	-6.9817
20	-5.9217	-7.7745	-3.8862	-4.2229	-7.0759	-5.7166	-2.7045	-7.1372	-1.2353	-6.0519	-5.2352	-7.7113
21	-5.9026	-6.8432	-3.6741	-4.9133	-7.5648	-5.6281	-1.6899	-7.3084	-0.6725	-6.2343	-5.5852	-7.9567
22	-7.5725	-8.9692	-5.0858	-4.5619	-9.1606	-6.8292	-2.8640	-7.5106	-2.1400	-5.9771	-5.5374	-8.0610
23	-6.2327	-7.9683	-3.9950	-3.4864	-7.2450	-5.4203	-3.2985	-6.8418	-0.6068	-5.3542	-4.2890	-6.9467
24	-6.5489	-8.4634	-3.5249	-3.7118	-6.9995	-5.1067	-4.6890	-6.0501	-1.4551	-5.0622	-3.9438	-6.9592
25	-1.6174	-3.7257	2.0404	2.4488	-0.7962	2.4297	-1.1552	-1.9506	0.6870	1.0089	2.4395	-0.9548
26	-2.4021	-4.2573	1.9712	1.7247	-1.5213	0.2722	-2.2627	-2.3932	0.0560	-0.0057	1.7042	-1.6728
27	-1.8482	-4.1289	2.3930	2.7132	-0.1989	3.2870	-3.0228	-1.7196	-0.0041	2.0862	2.8960	-0.2279
28	-3.1690	-5.1335	0.1180	0.2056	-2.0039	-0.5052	-1.0998	-2.9362	1.5153	-0.4488	0.6321	-2.1562
29	-3.0124	-5.0070	0.4535	0.3542	-2.5077	-0.9861	-1.0698	-3.2295	0.9475	-1.1105	0.8306	-2.7434
30	-3.6281	-7.7633	0.0854	0.3233	-2.6192	-0.0844	-2.2395	-3.8687	0.4288	-0.2246	1.9678	-2.1691
ave.	-4.35135	-7.04361	-1.56157	-1.15867	-4.08153	-1.86858	-2.98839	-5.29442	-0.57396	-2.37737	-1.05769	-4.11958
med.	-3.66356	-7.75203	-0.90765	-0.56505	-2.56344	-0.29463	-2.79017	-5.68799	-0.64008	-1.24739	0.70906	-2.80678

[0099] なお、各miRNAの Δ CT (miR-502-5p) 値は、各miRNAのCT値から、miR-502-5pのCT値を引いた値である。

[0100] 表2Hに、大腸がん（ステージ1）患者の試料のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの Δ CT (miR-502-5p) 値を示す。

[0101]

[表2H]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-6.3481	-5.5905	-2.5408	-2.8627	-5.2931	-4.1810	-3.0430	-6.4225	-0.7774	-2.8034	-2.6854	-4.4547
2	-6.7612	-7.2541	-4.7435	-4.1514	-7.5931	-5.2090	1.1084	-7.3428	-1.4553	-4.3245	-3.5249	-5.9354
3	-7.4932	-6.4955	-6.4464	-5.3785	-8.5199	-6.7668	-1.4566	-7.9773	-1.1486	-4.0599	-3.9343	-6.4868
4	-6.4775	-7.9909	-4.1633	-4.0323	-6.7524	-5.1294	-0.0820	-6.9349	-0.7730	-2.6583	-2.8775	-4.8965
5	-3.4697	-7.6753	-1.5093	-0.8548	-3.8279	-1.4800	-3.7916	-5.1802	-0.1069	-0.0371	0.7611	-2.1925
6	-4.9233	-7.6780	-3.0457	-1.9335	-5.1140	-4.1046	1.1961	-6.5083	-0.9447	-2.1674	-1.4118	-4.1448
7	-4.9208	-6.5475	-3.9548	-2.4004	-5.1880	-3.8930	0.4155	-6.4843	0.0790	-3.2720	-3.2095	-3.6971
8	-4.5930	-6.0290	-2.7998	-1.9156	-4.6878	-2.9856	-0.2254	-5.5246	1.0467	-2.8008	-1.5250	-3.5825
9	-5.4338	-7.4486	-3.2565	-2.6493	-5.4491	-4.2919	0.0122	-5.9867	-0.0364	-3.5952	-3.6038	-3.5884
10	-5.4349	-11.0418	-3.6097	-2.3257	-5.2912	-2.7520	-1.4935	-7.0322	-2.2700	-3.3078	-2.0024	-5.4299
11	-5.5289	-8.8295	-3.8729	-2.8843	-5.7312	-3.7574	-0.1662	-6.3841	-1.5400	-2.6415	-1.3785	-5.2526
12	-3.3787	-7.6940	-2.3688	-1.3213	-3.9966	-1.3380	-0.5872	-4.6984	0.4144	-2.1430	-0.3854	-3.7556
13	-5.9077	-8.1337	-3.9426	-2.8386	-6.9875	-5.3053	-2.7793	-7.4486	-0.4205	-5.7085	-4.0992	-7.5877
14	-6.1413	-5.3855	-5.1196	-3.3816	-8.1028	-5.7654	0.3760	-7.7749	-0.0364	-6.2428	-5.9993	-7.6764
15	-5.2038	-8.0668	-3.0373	-2.6479	-7.4317	-5.2296	-1.1491	-7.2726	-1.1499	-5.5774	-5.2723	-7.2073
16	-7.7719	-6.6491	-5.0398	-4.5140	-8.9510	-7.2038	-0.9061	-8.5586	-1.2020	-6.5567	-5.5043	-8.7201
17	-7.9560	-7.5744	-5.4798	-5.0823	-8.7696	-6.9418	1.2309	-8.5648	-1.8961	-7.2665	-6.2779	-6.7123
18	-6.9584	-7.6936	-4.2397	-4.6122	-7.6243	-6.3826	-1.6816	-8.0646	-1.2268	-6.1624	-5.7899	-7.4729
19	-5.7504	-6.4934	-3.6260	-3.9913	-6.8344	-4.9398	-0.5210	-6.4211	-0.8235	-5.2784	-4.4599	-7.3682
20	-6.9779	-7.9508	-5.2595	-5.1364	-8.0418	-6.3277	1.6638	-8.0350	-1.8957	-6.5929	-5.7376	-8.1624
21	-7.5857	-4.7368	-5.9606	-5.8559	-8.4816	-7.2553	3.2623	-8.6166	-1.1873	-7.2106	-7.2212	-8.8458
22	-5.7107	-8.6604	-3.2447	-2.4270	-6.2899	-4.3074	-4.5082	-5.9008	-1.1160	-3.7668	-3.1094	-6.3529
23	-7.9875	-9.1271	-5.1148	-5.0757	-8.2144	-6.3252	-4.5475	-7.8127	-2.5221	-6.0265	-5.5308	-7.9786
24	-7.1301	-8.6855	-4.3866	-3.8291	-7.3810	-5.1319	-2.7368	-5.8100	-1.9565	-4.3662	-3.5632	-6.1864
25	-6.4770	-7.4139	-3.9583	-2.8125	-7.3378	-5.1188	-1.7483	-6.7161	-1.3370	-5.3800	-3.8475	-7.1287
26	-6.8776	-5.1967	-4.1188	-3.4340	-7.9047	-5.6579	-0.4530	-6.9427	-0.1870	-5.7162	-4.4616	-7.4294
27	-5.1796	-5.7985	-2.9381	-1.7465	-6.3009	-1.8829	-5.1549	-5.4757	-0.8899	-3.7373	-2.6855	-5.7129
28	-6.7859	-6.7765	-4.0123	-3.4309	-7.3271	-5.9384	-6.1999	-7.1169	-1.6442	-5.1669	-4.3309	-7.1240
29	-7.1408	-8.3663	-4.0019	-3.9784	-7.0683	-6.3781	-3.3604	-7.6380	-1.4247	-5.7569	-4.7485	-7.2649
30	-6.1493	-6.8142	-3.5346	-2.9357	-6.6260	-4.9613	-2.2138	-7.1184	-1.0655	-5.0374	-3.7596	-6.1933
ave.	-6.1285	-7.3266	-3.9775	-3.3380	-6.7699	-4.8981	-1.3180	-6.9255	-0.9831	-4.5054	-3.7391	-6.2180
med.	-6.2487	-7.5115	-3.9565	-3.1587	-7.0279	-5.1307	-1.0276	-6.9875	-1.1323	-4.7018	-3.8035	-6.4199

[0102] 表 2 1 に、健常者の血しょう 3 0 検体のレクチンカラム溶出画分の $\Delta C T$ (miR-93-5 p, miR-192-5 p, miR-502-5 p) 値を示す。

[0103]

[表2I]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-1.3771	-5.9890	1.3543	2.4738	0.1871	2.9356	0.9125	-2.5765	1.4804	-0.3796	1.8503	0.1606
2	-1.8057	-3.9563	1.6855	1.6151	-0.5277	1.9341	-1.8749	-2.1469	1.4434	0.5434	2.9726	0.8488
3	-1.1692	-4.8240	1.4871	2.8538	0.6515	2.3929	-1.3623	-2.8787	1.6908	-0.1963	2.2015	0.7072
4	-0.9948	-2.1843	1.2936	3.4071	1.0980	3.3512	-1.8607	-2.4027	1.4993	3.8766	4.1665	1.0222
5	-1.3040	-1.8248	1.4146	1.8968	0.0788	1.9637	-1.9557	-2.3791	0.9632	3.5333	4.4565	0.5856
6	-1.2980	-6.0625	2.3778	2.5084	0.4982	2.3086	-2.1359	-3.3647	1.1262	1.8534	4.4319	0.4323
7	-1.1245	-4.8622	2.7608	3.3688	0.2326	3.7327	-1.9776	-2.4145	1.5832	2.3678	3.1584	0.4794
8	-1.2770	-5.7830	2.1653	1.7455	0.0259	2.6431	-1.3487	-2.8562	0.8985	2.7573	4.1477	0.7722
9	-0.9835	-6.0000	1.4347	1.8609	-0.0604	3.0309	-1.3596	-2.6361	1.2242	4.0444	4.9381	0.8072
10	-1.4135	-7.3559	0.4515	1.3676	0.4620	3.8226	-1.1263	-3.4873	1.2017	1.9836	3.6274	-0.5846
11	-2.3343	-7.5857	0.1055	1.6416	-0.7346	3.5339	-2.9112	-3.2662	0.6028	1.6834	3.3473	-1.0016
12	-3.0160	-7.3738	-0.1649	0.8606	-2.0093	-0.0596	0.4959	-3.4210	0.8858	-0.5371	1.2435	-2.7293
13	-2.8838	-4.4027	-2.1289	0.0743	-4.5413	-2.8648	-0.2761	-4.8456	2.1190	-3.7540	-2.8131	-5.3201
14	-3.6829	-5.9973	-1.8510	-0.7256	-4.9705	-2.8753	-2.3605	-5.0340	1.6553	-3.6466	-2.4792	-5.3661
15	-3.7633	-5.8349	-2.0085	-0.8657	-4.9564	-3.4943	0.3577	-4.9630	1.9177	-4.0519	-2.0062	-5.5390
16	-3.7995	-3.9130	-1.2525	-1.8705	-5.7021	-4.3184	1.7565	-5.4333	2.2640	-4.1533	-3.5660	-6.0097
17	-4.4788	-4.9725	-1.3681	-1.4565	-5.1270	-4.0488	-2.3793	-4.9991	1.7244	-3.8738	-2.8226	-5.6495
18	-3.0921	-4.9368	-0.3968	-0.7952	-4.5398	-3.1501	-1.2953	-4.3267	1.0652	-3.1736	-2.5305	-4.5961
19	-2.0639	-5.3585	-0.1004	-0.5523	-3.8157	-1.6056	-1.8532	-3.8333	0.8974	-1.8418	-1.0816	-4.0459
20	-3.1309	-4.9836	-1.0953	-1.4321	-4.2851	-2.9258	0.0863	-4.3464	1.5555	-3.2611	-2.4443	-4.9204
21	-3.2423	-4.1829	-1.0138	-2.2530	-4.9046	-2.9678	0.9703	-4.6481	1.9878	-3.5740	-2.9249	-5.2964
22	-4.3556	-5.7523	-1.8690	-1.3450	-5.9437	-3.6123	0.3529	-4.2937	1.0769	-2.7602	-2.3206	-4.8442
23	-3.8165	-5.5521	-1.5788	-1.0502	-4.8288	-3.0041	-0.8823	-4.2256	1.8094	-2.9380	-1.8728	-4.5304
24	-4.0482	-5.9617	-1.0231	-1.2101	-4.4978	-2.6050	-2.1863	-3.5484	1.0467	-2.5605	-1.4421	-4.4575
25	-1.1962	-3.3045	2.4616	2.8700	-0.3750	2.8509	-0.7340	-1.5294	1.1082	1.4301	2.8607	-0.5336
26	-1.6230	-3.4783	2.7502	2.5037	-0.7422	1.0513	-1.4836	-1.6142	0.8351	0.7734	2.4833	-0.8937
27	-1.2737	-3.5543	2.9675	2.9462	0.3757	3.8616	-2.4483	-1.1451	0.5705	2.6608	3.1290	0.3467
28	-2.6954	-4.6588	0.5916	0.6792	-1.5303	-0.0316	-0.6261	-2.4626	1.9889	0.0248	1.1058	-1.6826
29	-2.2518	-4.2463	1.2141	1.1148	-1.7470	-0.2254	-0.3092	-2.4688	1.7082	-0.3499	1.5913	-1.9828
30	-2.5415	-6.6767	1.1720	1.4099	-1.5326	1.0022	-1.1529	-2.6020	1.5154	0.8620	3.0545	-1.0824
ave.	-2.39522	-5.07172	0.39456	0.76807	-2.12540	0.08754	-1.03227	-3.33630	1.38217	-0.42125	0.88215	-2.16345
med.	-2.29302	-4.97809	0.52158	1.24121	-1.53144	0.48531	-1.32200	-3.31547	1.45189	-0.27311	1.72080	-1.38250

[0104] なお、各miRNAの Δ CT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値は、各miRNAのCT値から、miR-93-5p、miR-192-5p及びmiR-502-5pの平均CT値を引いた値である。

[0105] 表2Jに、大腸がん（ステージ1）患者の試料のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの Δ CT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値を示す。

[0106]

[表2J]

#	miR-21-5p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-23a-3p	miR-146a-5p	miR-199a-3p	miR-122-5p	miR-192-5p	miR-93-5p	miR-15b-5p	miR-423-3p	miR-126-3p
1	-3.9481	-3.1905	-0.1408	-0.2827	-2.8932	-1.7810	-0.8430	-4.0225	1.6226	-0.2035	-0.2854	-2.0547
2	-3.8285	-4.3214	-1.8107	-1.2187	-4.6604	-2.2763	4.0411	-4.4101	1.4774	-1.3918	-0.5922	-3.0027
3	-4.4512	-3.4535	-3.4044	-2.3365	-5.4779	-3.7248	1.5854	-4.9353	1.8934	-1.0179	-0.8923	-3.4448
4	-3.9082	-5.4216	-1.5941	-1.4630	-4.1831	-2.5602	2.4873	-4.3656	1.7963	-0.0890	-0.3082	-2.3272
5	-1.7074	-5.9130	0.2530	0.9076	-2.0656	0.2824	-2.0292	-3.4178	1.6555	1.7253	2.5235	-0.4301
6	-2.4390	-5.1936	-0.5614	0.5509	-2.6297	-1.6202	3.6804	-4.0240	1.5396	0.3170	1.0726	-1.6605
7	-2.7857	-4.4124	-1.8197	-0.2853	-3.0328	-1.7578	2.5506	-4.3492	2.2141	-1.1369	-1.0744	-1.5619
8	-3.1003	-4.5363	-1.3071	-0.4230	-3.1952	-1.4930	1.2673	-4.0320	2.5393	-1.3082	-0.0323	-2.0898
9	-3.4261	-5.4409	-1.2488	-0.8416	-3.4384	-2.2842	2.0199	-3.8790	1.9713	-1.5875	-1.5961	-1.5807
10	-2.3341	-7.9411	-0.5089	0.7751	-2.1905	0.3488	1.6073	-3.9315	0.8307	-0.2070	1.0983	-2.3292
11	-2.8875	-6.1881	-1.2315	-0.2429	-3.0899	-1.1161	2.4752	-3.7428	1.1014	-0.0001	1.2829	-2.6112
12	-1.9507	-6.2660	-0.9388	0.1067	-2.5686	0.0900	0.8408	-3.2704	1.8424	-0.7150	1.0425	-2.3277
13	-3.2847	-5.5107	-1.3196	-0.2156	-4.3644	-2.6823	-0.1583	-4.8256	2.2025	-3.0854	-1.4782	-4.9647
14	-3.5375	-2.7818	-2.5159	-0.7779	-5.4990	-3.1617	2.8798	-5.1711	2.5674	-3.6391	-3.3956	-5.0726
15	-2.3963	-5.2593	-0.2298	0.1596	-4.6242	-2.4221	1.6584	-4.4851	1.6576	-2.7699	-2.4648	-4.3998
16	-4.5184	-3.3955	-1.7863	-1.2604	-5.6975	-3.9503	2.3475	-5.3051	2.0516	-3.3032	-2.2507	-5.4666
17	-3.8690	-4.0874	-1.9928	-1.5953	-5.2826	-3.4548	4.7179	-5.0778	1.5908	-3.7796	-2.7909	-5.2253
18	-3.8613	-4.5965	-1.1426	-1.5151	-4.5272	-3.2855	1.4155	-4.9675	1.8703	-3.0653	-2.6928	-4.3758
19	-3.3355	-4.0786	-1.2111	-1.5784	-4.4196	-2.5249	1.8838	-4.0062	1.5914	-2.8635	-2.0450	-4.9534
20	-3.6676	-4.6405	-1.9492	-1.8262	-4.7315	-3.0175	4.9740	-4.7248	1.4145	-3.2827	-2.4274	-4.8521
21	-4.3177	-1.4688	-2.6926	-2.3879	-6.2137	-3.9874	6.5303	-5.3486	2.0807	-3.9426	-3.9532	-5.5778
22	-3.3717	-6.3215	-0.9058	-0.0880	-3.9510	-1.9685	-2.1692	-3.5619	1.2230	-1.4278	-0.7704	-4.0140
23	-4.5426	-5.6821	-1.6699	-1.6308	-4.7695	-2.8803	-1.1026	-4.3677	0.9228	-2.5815	-2.0859	-4.5336
24	-4.5412	-6.0966	-1.7977	-1.3402	-4.7921	-2.5431	-0.1490	-3.2212	0.6324	-1.7773	-0.9743	-3.5975
25	-3.7926	-4.7295	-1.2739	-0.1282	-4.6535	-2.4344	0.8360	-4.0317	1.3473	-2.6756	-1.1631	-4.4443
26	-4.5011	-2.8201	-1.7422	-1.0574	-5.5281	-3.2813	1.9235	-4.5682	2.1896	-3.3396	-2.0851	-5.0529
27	-3.0578	-3.6766	-0.8162	0.3754	-4.1790	0.2389	-3.0331	-3.3538	1.2320	-1.6154	-0.5637	-3.5911
28	-3.8855	-3.8561	-1.0920	-0.5100	-4.4067	-3.0180	-3.2796	-4.1965	1.2762	-2.2665	-1.4106	-4.2037
29	-4.1199	-5.3454	-0.9810	-0.9574	-4.0474	-3.3571	-0.3395	-4.6171	1.5962	-2.7380	-1.7256	-4.2440
30	-3.4213	-4.0862	-0.8066	-0.2078	-3.8980	-2.2333	0.5142	-4.3904	1.6624	-2.3094	-1.0316	-3.4653
ave.	-3.4923	-4.6904	-1.3413	-0.7018	-4.1337	-2.2619	1.3182	-4.2893	1.6531	-1.8692	-1.1029	-3.5818
med.	-3.6026	-4.6185	-1.2614	-0.5761	-4.3856	-2.4797	1.5963	-4.3574	1.6390	-2.0219	-1.1188	-3.8058

[0107] 表 2 K に、健常者と大腸がん（ステージ 1）患者の血しょう 30 検体の血しょう画分の mi R - 4 5 1 a と mi R - 1 2 2 - 5 p の $\Delta\Delta CT$ (cell - mi R - 3 9 - 3 p) 値を示す。

[0108]

[表2K]

#	健常者		大腸がん(ステージ1)患者	
	miR-451a	miR-122-5p	miR-451a	miR-122-5p
1	0.070068	4.840872	0.827471	2.025160
2	-0.235470	1.683264	-1.509054	6.005260
3	0.809061	3.590797	-0.552856	5.008722
4	-1.534733	2.423874	-2.435221	4.778736
5	0.153439	3.782763	-1.452452	3.481560
6	-0.595257	3.731344	-3.325945	4.311237
7	1.396969	4.934317	-0.508759	3.135326
8	-0.659283	3.330540	0.165298	4.984579
9	-1.352243	4.015398	-1.411283	6.063219
10	-1.410288	3.829727	-0.720907	4.919746
11	-2.036018	1.420517	0.448067	7.901386
12	-2.455448	3.245747	-0.277504	4.312210
13	-0.585428	3.281776	0.157681	4.115494
14	-2.287008	-0.648050	-0.286619	4.420010
15	-3.286236	0.536678	-0.714912	4.893169
16	-1.313015	4.078491	-0.949503	5.913544
17	-1.305399	1.748734	-0.236397	5.850925
18	-0.757679	3.130680	-1.248425	6.261566
19	-0.712355	1.753801	0.384287	3.463703
20	0.876410	5.561481	-1.038616	4.813438
21	-0.570061	3.327511	-1.075882	6.706676
22	-1.385792	4.838989	-1.169102	2.297722
23	-1.220562	3.234737	-1.115837	3.314865
24	-1.174601	1.960243	-1.056992	4.803066
25	0.588448	4.302235	-1.477772	5.369621
26	1.182669	4.139778	0.575729	5.050148
27	0.135645	2.450996	0.052006	0.916151
28	0.027744	4.356544	0.616997	1.807562
29	0.348333	5.266438	-2.329601	3.357876
30	-1.237295	4.411045	-2.052265	4.408249
ave.	-0.684179	3.285376	-0.790612	4.489698
med.	-0.685819	3.460669	-0.835205	4.790901

[0109] 表2Lに、大腸がん(ステージ2~4)患者10名の血しょうを、それぞれ等量混合したプール検体1~3のmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ (ce

l-miR-39-3p) 値を示す。

[0110] [表2L]

	血しょう画分	レクチンカラム 溶出画分
プール検体1	0.0351914	0.0094825
プール検体2	0.1023276	0.0142042
プール検体3	0.0895160	0.0126802

[0111] 表2Mに、大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょう9検体のmiR-451aの $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39-3p) 値を示す。

[0112] [表2M]

大腸がんの ステージ	血しょう画分	レクチンカラム 溶出画分
2	0.0232389	0.0097491
3	0.0283036	0.0266683
3	0.0877541	0.0035575
3	0.0929401	0.0430639
3	0.0289483	0.0092932
4	0.0085501	0.0011817
4	0.0234011	0.0023241
4	0.0423626	0.0170460
4	0.0259273	0.0213473

[0113] 表2Nに、7種類のがん患者の血しょう16検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの ΔCT (miR-192-5p) 値を示す。

[0114] [表2N]

がん種	ステージ	miR-23a-3p	miR-451a	miR-130a-3p	miR-122-5p	miR-199a-3p	miR-15b-5p
肝臓がん	2	1.061	-7.285	0.409	-2.119	0.042	-0.146
	3A	0.106	-6.870	-0.874	-1.108	-0.873	-0.794
	4A	-0.307	-5.855	-1.434	-1.382	-1.624	-1.205
乳がん	1A	-1.443	-6.127	-3.274	0.098	-3.430	-2.597
	3A	-2.346	-7.544	-3.487	0.184	-4.010	-2.269
	4	-2.092	-4.018	-4.886	1.402	-3.150	-3.335
前立腺がん	1	0.140	-7.329	-0.852	-2.628	-0.499	-0.962
	3	-1.945	-7.693	-2.239	-0.746	-2.957	-1.901
肺がん	1A	-1.729	-7.538	-2.408	-1.348	-2.572	-1.285
	2A	-0.404	-7.441	-2.109	-0.528	-2.091	-1.154
胃がん	1A	-0.389	-8.199	-0.397	-1.759	-1.592	-0.731
	3A	-2.679	-7.651	-3.109	-0.780	-3.847	-1.629
食道がん	1A	-1.617	-6.402	-2.120	-2.691	-2.130	-1.622
	3B	-2.537	-6.981	-3.378	-0.557	-3.832	-2.375
腎臓がん	1	-1.384	-7.916	-1.949	-2.452	-2.349	-0.919
	3	-1.795	-5.670	-3.453	1.360	-3.365	-1.856

[0115] 表20に、8種類のがん患者の血しょう16検体と血清2検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAの $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値を示す。

[0116]

[表20]

がん種	ステージ	miR-451a	miR-146a-5p	miR-15b-5p	miR-122-5p	miR-423-3p
肝臓がん	2	-0.818	-0.128	0.625	3.763	0.253
	3A	-0.711	-1.951	-0.331	4.466	-1.254
	4A	-1.201	-4.055	-2.248	2.686	-3.682
乳がん	1A	-0.146	-4.577	-2.312	5.494	-3.358
	3A	-0.776	-3.789	-1.198	6.366	-2.170
	4	4.695	-2.541	-0.319	9.530	-1.858
前立腺がん	1	-0.151	-0.687	0.520	3.966	0.328
	3	-1.033	-3.230	-0.936	5.329	-1.910
肺がん	1A	-1.396	-3.074	-0.839	4.209	-1.846
	2A	0.684	-0.500	1.275	7.012	0.279
胃がん	1A	-1.627	-1.987	0.145	4.228	-0.817
	3A	-1.350	-3.995	-1.025	4.936	-3.249
食道がん	1A	-0.313	-2.432	-1.229	2.814	-2.224
	3B	-0.013	-3.722	-1.104	5.826	-2.402
腎臓がん	1	-1.718	-2.656	-0.418	3.161	-1.095
	3	2.406	-2.005	0.525	8.852	0.305
すい臓がん	3	N.D.	N.D.	N.D.	6.851	N.D.
	IPMC*	N.D.	N.D.	N.D.	6.231	N.D.

* IPMC: Intraductal papillary-mucinous carcinoma(膵管内乳頭粘液性腺がん)

[0117] 表3に、大腸がん（ステージ1）患者と健常者の血しょう30検体のレク

チンカラム溶出画分のmiRNAの $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39-3p) 値のt検定結果を示す。

[0118] [表3]

	P値(t検定)
miR-21-5p	0.000482
miR-451a	0.200000
miR-130a-3p	0.000161
miR-23a-3p	0.001390
miR-146a-5p	0.000055
miR-199a-3p	0.000166
miR-122-5p	0.000144
miR-192-5p	0.036500
miR-93-5p	0.002320
miR-15b-5p	0.006610
miR-423-3p	0.001690
miR-126-3p	0.004360

[0119] [統計処理]

本実施例に使用した重回帰分析、ロジスティック回帰分析、決定木学習 (C5.0) は、統計処理ソフトRを用いて実施した。重回帰分析とロジスティック回帰分析によるmiRNAの選択は、AICを用いたステップワイズ法によって行った。

[0120] [実施例1: miR-122-5pの発現量の相対値 ($2^{-\Delta\Delta CT}$) による大腸がん (ステージ2~4) の判定]

(統計)

図1 A、Bに、大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょう10検体を等量混合したプール検体1～3と、健常者の血しょう30検体の（A）血しょう画分と、（B）レクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の散布図を示す。図1 A、B中、棒は、平均値である。

[0121] なお、miR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値は、miR-122-5pの ΔCT （*cell-miR-39-3p*）値から、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体のmiR-122-5pの ΔCT （*cell-miR-39-3p*）値を引いた値である。

[0122] （結果）

大腸がん（ステージ2～4）患者の血しょうのプール検体1～3の（A）血しょう画分と、（B）レクチンカラム溶出画分は、健常者の血しょう30検体の平均値に比べて、miR-122-5pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）が、それぞれ0.4倍、0.08倍となり、明らかに減少している。また、大腸がん（ステージ2～4）患者のプール検体1～3は、（A）血しょう画分よりも、（B）レクチンカラム溶出画分の方が、miR-122-5pの発現量の相対値（ $2^{-\Delta\Delta CT}$ ）の減少がより明らかである。

[0123] 以上のことから、被験者の血しょう中のmiR-122-5pの発現レベルが、健常者の血しょう中のmiR-122-5pの発現レベルよりも減少していることが、大腸がん（ステージ2～4）の指標となることがわかる。

[0124] [実施例2：miR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値による大腸がん（ステージ1）の判定]

（統計）

図2 A、Bに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体の（A）血しょう画分と、（B）レクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値の箱ひげ図と、ROC曲線を示す。

[0125] ここで、miR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値は、miR-122-5pの

ΔCT (cell-miR-39-3p) 値から、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体のmiR-122-5pの ΔCT (cell-miR-39-3p) 値を引いた値である。

[0126] (結果)

大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体の(A)血しょう画分と、(B)レクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値のt検定におけるP値は、それぞれ0.002664、0.000144であった。このため、大腸がん(ステージ1)患者の血しょうのmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値は、(A)血しょう画分と、(B)レクチンカラム溶出画分のいずれにおいても、健常者の血しょうのmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値と有意的な差があることがわかる。

[0127] また、図2A、BのROC曲線からAUCを求めると、それぞれ0.269、0.783となったため、血しょうの(B)レクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値は、がん陽性に対する中程度の判別能を有することがわかる。

[0128] 以上のことから、被験者の血しょう中のmiR-122-5pの発現レベルが、健常者の血しょう中のmiR-122-5pの発現レベルよりも減少していることが、大腸がん(ステージ1)の指標となることがわかる。

[0129] [実施例3:miR-122-5pの発現量の相対値($2-\Delta\Delta CT$)による8種類のがんの判定]

(統計)

図3に、8種類のがん患者の血しょうのレクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの発現量の相対値($2-\Delta\Delta CT$)の散布図を示す。ここで、比較対照として、健常者の血しょう30検体の中央値を示した。

[0130] ここで、miR-122-5pの $\Delta\Delta CT$ 値は、miR-122-5pの ΔCT (cell-miR-39-3p) 値から、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体のmiR-122-5pの ΔCT (cell-miR-39-3p) 値を引いた値である。

[0131] (結果)

血しょうのレクチンカラム溶出画分のmiR-122-5pの発現量の相対値(2- $\Delta\Delta CT$)が、健常者の血しょう30検体の中央値に対して、減少しているのは、肝臓がん(ステージ3A)、乳がん(ステージ1A、3A、4)、前立腺がん(ステージ3)、肺がん(ステージ1A、2A)、胃がん(1A、3A)、食道がん(ステージ3B)、腎臓がん(ステージ3)、すい臓がん(ステージ3、IPMC: Intraductal papillary-mucinous carcinoma(膵管内乳頭粘液性腺がん))の患者であった。

[0132] 以上のことから、被験者の血しょう又は血清中のmiR-122-5pの発現レベルが、健常者の血しょう又は血清中のmiR-122-5pの発現レベルよりも減少していることが、被験者が、肝臓がん(ステージ3A)、乳がん(ステージ1A、3A、4)、前立腺がん(ステージ3)、肺がん(ステージ1A、2A)、胃がん(1A、3A)、食道がん(ステージ3B)、腎臓がん(ステージ3)、すい臓がん(ステージ3、IPMC)の指標となることがわかる。

[0133] [実施例4: miR-451aの発現量の相対値(2- $\Delta\Delta CT$)による大腸がん(ステージ2~4)の判定]

(統計)

図4A、Bに、大腸がん(ステージ1~4)患者の血しょう40検体と、健常者の血しょう30検体の(A)血しょう画分と、(B)レクチンカラム溶出画分のmiR-451aの発現量の相対値(2- $\Delta\Delta CT$)の散布図を示す。ここで、リファレンスは、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体である。

[0134] なお、miR-451aの $\Delta\Delta CT$ 値は、miR-451aの ΔCT (cell-miR-39-3p)値から、健常者の血しょう30検体を等量混合したプール検体のmiR-122-5pの ΔCT (cell-miR-39-3p)値を引いた値である。

[0135] (結果)

大腸がん(ステージ1)患者は、(A)血しょう画分と、(B)レクチンカラム溶出画分のいずれにおいても、血しょうのmiR-451aの発現量の相対値(2- $\Delta\Delta CT$)が、健常者と略同一である。

[0136] これに対して、大腸がん(ステージ2~4)患者は、(A)血しょう画分と、(B)レクチンカラム溶出画分のいずれにおいても、血しょうのmiR-451aの発現量の相対値(2- $\Delta\Delta CT$)が、健常者に対して、大幅に減少している。

[0137] 以上のことから、被験者の血しょう中のmiR-451aの発現レベルが、健常者の血しょう中のmiR-451aの発現レベルよりも減少していることが、ステージ2~4のがんの指標となることがわかる。

[0138] [実施例5：重回帰分析及びロジスティック回帰分析による大腸がん(ステージ1)患者を判定するmiRNAの選択]

(統計)

表4A~Eに、大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの(A) ΔCT (miR-93-5p)値、(B) ΔCT (miR-192-5p)値、(C) $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39-3p)値、(D) ΔCT (miR-502-5p)値、(E) ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p)値による重回帰分析及びロジスティック回帰分析の結果を示す。

[0139]

[表4A]

重回帰		ロジスティック回帰				
切片	係数	P値	切片	係数	オッズ比	P値
切片	0.98177	0.000772	切片	3.9677	0.979855	1.88E-05
miR-15b-5p	-0.17856	0.028273	miR-15b-5p	-0.9179	-0.46244	2.24E-05
miR-122-5p	-0.16908	5.13E-05	miR-122-5p	-0.619	-0.20731	5.92E-06
miR-146a-5p	0.32557	0.004945	miR-146a-5p	1.4793	0.454463	1.72E-05
AUC	0.9067			0.9122		
95%信頼区間-上限	0.9814			0.9813		
95%信頼区間-下限	0.832			0.8431		
カットオフ値	0.08007377			0.6332758		
感度	0.8666666			0.8333333		
特異度	0.8333333			0.833333		
陽性的中率	0.8362069			0.833333		
陰性的中率	0.862069			0.8333333		

[0140] [表4B]

重回帰		ロジスティック回帰				
切片	係数	P値	切片	係数	オッズ比	P値
切片	-0.95539	0.13631	切片	-8.8281	0.00217	0.098842
miR-15b-5p	-0.15734	0.074385	miR-15b-5p	-2.057	0.0486	0.002628
miR-122-5p	-0.18545	0.000571	miR-23a-3p	-1.1962	2.45	0.056279
miR-130a-3p	0.35812	0.001708	miR-122-5p	-0.8609	0.585	0.186515
miR-451a	-0.1467	0.115864	miR-130a-3p	2.7892	2.04	0.126051
			miR-199a-3p	1.2375	8.74	0.000988
			miR-451a	-1.2569	0.63	0.464898
AUC	0.9289			0.9533		
95%信頼区間-上限	0.9897			1		
95%信頼区間-下限	0.8681			0.9029		
カットオフ値	-0.02583344			0.6513161		
感度	0.9333333			0.86666666		
特異度	0.8			0.96666666		
陽性的中率	0.8235294			0.962963		
陰性的中率	0.9230769			0.87878787		

[0141] [表4C]

重回帰		ロジスティック回帰				
切片	係数	P値	切片	係数	オッズ比	P値
切片	1.35371	1.79E-05	切片	4.033	83.5	0.00432
miR-15b-5p	-0.25861	0.054477	miR-15b-5p	-1.2905	0.186	0.0056
miR-122-5p	-0.20624	0.000312	miR-122-5p	-0.6783	0.444	0.01209
miR-130a-3p	0.14329	0.003914	miR-146a-5p	0.85	12.3	0.00151
miR-423-3p	0.28725	0.016829	miR-423-3p	0.9574	0.536	0.12872
AUC	0.91			0.93		
95%信頼区間-上限	0.9808			0.993		
95%信頼区間-下限	0.8392			0.867		
カットオフ値	-0.05629394			0.5721286		
感度	0.866666			0.866666		
特異度	0.8			0.9		
陽性的中率	0.8125			0.8965517		
陰性的中率	0.8571429			0.8709677		

[0142] [表4D]

重回帰		ロジスティック回帰				
	係数	P値	切片	係数	オッズ比	P値
切片	0.42151	0.16578	切片	1.0518	2.86	0.46966
miR-122-5p	-0.13129	0.01161	miR-122-5p	-0.477	0.621	0.0474
miR-126-3p	-0.46545	0.00145	miR-126-3p	-2.5183	0.0806	0.00437
miR-130a-3p	0.20781	0.12936	miR-130a-3p	1.6232	5.07	0.04488
miR-146a-5p	0.46713	0.01327	miR-146a-5p	2.0118	7.48	0.02662
AUC	0.941			0.948		
95%信頼区間-上限	1.000			1.000		
95%信頼区間-下限	0.881			0.891		
カットオフ値	0.223			0.682		
感度	1.000			0.967		
特異度	0.833			0.833		
陽性的中率	0.875			0.853		
陰性的中率	1.000			0.962		

[0143] [表4E]

重回帰		ロジスティック回帰				
	係数	P値	切片	係数	オッズ比	P値
切片	0.28398	0.33579	切片	-0.01169	0.988	0.99347
miR-122-5p	-0.13019	0.01877	miR-122-5p	-0.46765	0.626	0.0582
miR-126-3p	-0.44842	0.00196	miR-126-3p	-2.38538	0.0921	0.00493
miR-130a-3p	0.23101	0.13823	miR-130a-3p	1.7506	5.76	0.04909
miR-146a-5p	0.46146	0.01502	miR-146a-5p	2.00345	7.41	0.0282
AUC	0.941			0.948		
95%信頼区間-上限	1.000			1.000		
95%信頼区間-下限	0.881			0.891		
カットオフ値	0.221			0.683		
感度	1.000			0.967		
特異度	0.833			0.833		
陽性的中率	0.857			0.853		
陰性的中率	1.000			0.962		

[0144] (結果)

大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分のmiRNAアッセイにおける重回帰分析及びロジスティック回帰分析の結果、(A) ΔCT (miR-93-5p) 値、(B) ΔCT (miR-192-5p) 値、(C) $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値、(D) ΔCT (miR-502-5p) 値、(E) ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値のいずれにおいても、AUCが0.91以上、感度が0.83以上、特異度が0.8以上であった。

[0145] AICを用いたステップワイズ法によって、以下に示すmiRNAが選択された。

[0146] ΔCT (miR-93-5p) 値では、重回帰分析と、ロジスティック回帰分析において、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-146a-5pが選択された。

[0147] ΔCT (miR-93-5p) 値では、重回帰分析において、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-130a-3p、miR-451aが選択され、ロジスティック回帰分析において、miR-15b、miR-23a-3p、miR-122-5p、miR-130a-3p、miR-199a-3p、miR-451aが選択された。

[0148] $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値では、重回帰分析において、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-130a-3p、miR-423-3pが選択され、ロジスティック回帰分析において、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-146a-5p、miR-423-3pが選択された。

[0149] ΔCT (miR-502-5p) 値と、 ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値では、重回帰分析と、ロジスティック回帰分析において、miR-122-5p、miR-126-3p、miR-130a-3p、miR-146a-5pが選択された。

[0150] 以上のことから、 ΔCT (miR-93-5p) 値と、 ΔCT (miR-93-5p) 値と、 $\Delta\Delta CT$ (cel-miR-39-3p) 値と、 ΔCT (miR-502-5p) 値と、 ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値の重回帰分析と、ロジスティック回帰分析において、miR-122-5pが選択されていることがわかる。

[0151] 表4A、B、Cの係数値と切片値から、次の6つの回帰式が得られた。

[0152] ΔCT (miR-93-5p) の重回帰式

$$y = 0.98177 + (-0.17856) * (\text{miR-15b-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値}) + (-0.16908) * (\text{miR-122-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値}) + 0.32557 * (\text{miR-146a-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値})$$

ΔCT (miR-93-5p) のロジスティック回帰式

$$y = 3.9677 + (-0.9179) * (\text{miR-122-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値}) + (-0.619) * (\text{miR-122-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値}) + 1.4793 * (\text{miR-146a-5pの}\Delta CT(\text{miR-93-5p})\text{値})$$

ΔCT (miR-192-5p) の重回帰式

$$y = -0.95539 + (-0.15734) * (\text{miR-15b-5pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + (-0.18545) * (\text{miR-122-5pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + 0.35812 * (\text{miR-130a-3pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + (-0.1467) * (\text{miR-451aの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値})$$

ΔCT (miR-192-5p) のロジスティック回帰式

$$y = -8.8281 + (-2.057) * (\text{miR-15b-5pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + (-1.1962) * (\text{miR-23a-3pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + (-0.8609) * (\text{miR-122-5pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + 2.7892 * (\text{miR-130a-3pの}\Delta CT(\text{miR-192-5p})\text{値}) + 1.$$

$2375 * (\text{miR}-199\text{a}-3\text{p}$ の ΔCT ($\text{miR}-192-5\text{p}$) 値) + (-1.2569) * ($\text{miR}-451\text{a}$ の ΔCT ($\text{miR}-192-5\text{p}$) 値)

$\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) の重回帰式

$y = 1.35371 + (-0.25861) * (\text{miR}-15\text{b}-5\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + (-0.20624) * ($\text{miR}-122-5\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + 0.14329 * ($\text{miR}-130\text{a}-3\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + 0.28725 * ($\text{miR}-423-3\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値)

$\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) のロジスティック回帰式

$y = 4.033 + (-1.2905) * (\text{miR}-15\text{b}-5\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + (-0.6783) * ($\text{miR}-122-5\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + 0.85 * ($\text{miR}-146\text{a}-5\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値) + 0.9574 * ($\text{miR}-423-3\text{p}$ の $\Delta\Delta\text{CT}$ ($\text{cel-miR}-39-3\text{p}$) 値)

[0153] (統計)

図5に、表4A、B、Cで得られた重回帰式及びロジスティック回帰式に、健常者の血しょう30検体と、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の各値を代入したときのyハット値の散布図を示す。ここで、カットオフ値を0とし、 $y > 0$ である場合に、がん陰性であると判定され、 $y < 0$ である場合に、がん陽性であると判定される。

[0154] (結果)

健常者の血しょう30検体のうち、健常者#16、#22の血しょう2検体は、いずれの回帰式においても、偽陽性となった。また、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体のうち、大腸がん（ステージ1）患者#21、#26の血しょう2検体は、いずれの回帰式においても、偽陰性となっ

た。

[0155] なお、健常者#16、#22は、大腸がん（ステージ1）に罹患している可能性がある。

[0156] [実施例6：実施例5で得られたロジスティック回帰式による7種類のがんの判定]

（統計）

図6に、表4B、Cで得られた ΔCT (miR-192-5p) 値と、 $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値のロジスティック回帰式に、7種類のがん患者の血しょうのレクチンカラム溶出画分の各値を代入して得られたyハット値の散布図を示す。ここで、カットオフ値を0とし、 $y > 0$ である場合に、がん陰性であると判定され、 $y < 0$ である場合に、がん陽性であると判定される。

[0157] （結果）

ΔCT (miR-192-5p) 値のロジスティック回帰式と、 $\Delta\Delta CT$ (cell-miR-39-3p) 値のロジスティック回帰式のいずれにおいても、がん陽性と判定された患者は、肝がん（ステージ3A、4A）、乳がん（ステージ1A、3A、4）、前立腺がん（ステージ3）、肺がん（ステージ1A、2A）、胃がん（ステージ3A）、食道がん（ステージ3B）、腎臓がん（ステージ1、3）の患者であった。 ΔCT (miR-192-5p) 値のロジスティック回帰式においてのみ、がん陽性と判定されたのは、胃がん（ステージ1A）の患者であった。

[0158] [実施例7：決定木学習（C5.0）による大腸がん（ステージ1）患者を判定するmiRNAの選択]

（統計）

図7Aに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの ΔCT (miR-93-5p) 値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す。

[0159] 図8Aに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの Δ CT（miR-192-5p）値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す。

[0160] 図9Aに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの Δ CT（miR-502-5p）値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す。

[0161] 図10Aに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの Δ CT（miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p）値の決定木学習（C5.0）により得られた決定木と、ROC曲線を示す。

[0162] （結果）

大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体のレクチンカラム溶出画分の12種類のmiRNAの決定木学習（C5.0）によって、以下に示すmiRNAが選択された。

[0163] Δ CT（miR-93-5p）値を用いる場合は、miR-15b-5p、miR-122-5p、miR-146a-5p、miR-199a-5pが選択された。

[0164] Δ CT（miR-192-5p）値を用いる場合は、miR-122-5p、miR-130a-3p、miR-146a-5pが選択された。

[0165] Δ CT（miR-502-5p）値を用いる場合は、miR-146a-5p、miR-122-5p、miR-15b-5pが選択された。

[0166] Δ CT（miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p）値を用いる場合は、miR-146a-5p、miR-126-3p、miR-122-5pが選択された。

[0167] 図7A、図8A、図9A、図10AのROC曲線からAUC（感度、特異

度)を求めると、それぞれAUC:0.9989(感度:0.967、特異度:0.967)、AUC:0.9856(感度:1.0、特異度0.867)、AUC:0.953(感度:0.967、特異度:0.767)、AUC:0.974(感度:0.900、特異度:0.900)となった。

[0168] 図7Aでは、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が >1.125 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が >3.917 であり、miR-199a-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が >1.115 である場合、あるいは、(miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が >1.125 であり、)miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が ≤ 3.917 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が ≤ -0.128 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p)値が >1.356 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0169] 図8Aでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p)値が >-0.39 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p)値が ≤ -0.39 であり、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p)値が ≤ -1.548 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p)値が >-6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0170] 図9Aでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p)値が ≤ -3.828 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-502-5p)値が >-1.413 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p)値が ≤ -3.828 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-502-5p)値が ≤ -1.413 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p)値が >-6.234 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0171] 図10Aでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p)値が ≤ -2.066 であり

、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >-4.458 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -4.458 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >1.756 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0172] (統計)

図7B-Sに、大腸がん(ステージ1)患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出する以外は、図7Aと同様にして得られた決定木(18通り)を示す。

[0173] 表5に、図7A-Sの決定木の感度、特異度、閾値を示す。

[0174]

[表5]

陽性		miR-15b-5p		miR-122-5p		miR-146a-5p		miR-199a-5p		陽性		miR-15b-5p		miR-122-5p		miR-146a-5p		miR-199a-5p		陽陽性	
A	30	感度	1.00	24	>1.125	>3.917	>1.115	>1.115	1	K	20	感度	0.95	19	>1.288	>0.131	>0.938	3			
特異度	0.97	6	>1.356	≤3.917	≤-0.128	0	特異度	0.85													
B																					
感度	0.95	14	>4.569	>1.179	0	L	20	感度	0.95	15	>4.569	0									
特異度	1.00	5	>1.534	≤1.707	0	特異度	1.00	4	>4.569	≤4.569	0										
C																					
感度	1.00	20	>1.153	>4.28	0	M	20	感度	0.95	13	>5.618	1									
特異度	1.00	20	>1.153	>4.28	0	特異度	0.90	6	>1.288	≤5.618	≤-0.154	1									
D																					
感度	1.00	16	>3.917	>3.917	2	N	20	感度	1.00	16	>1.125	2									
特異度	0.90	4	≤3.917	≤1.897	0	特異度	0.90	4	>1.125	>1.125	≤-0.128	0									
E																					
感度	0.55	11	>1.288	>4.647	1	O	20	感度	0.90	18	>1.288	3									
特異度	0.95	11	>1.288	>4.647	1	特異度	0.85	18	>1.288	≤4.28	3										
F																					
感度	1.00	15	>3.917	>1.179	1	P	20	感度	0.95	17	>3.917	1									
特異度	0.90	5	≤3.917	≤-0.21	1	特異度	0.95	2	>3.917	≤-0.154	0										
G																					
感度	0.95	16	>1.387	≤4.28	1	Q	20	感度	0.90	18	>1.288	2									
特異度	0.95	3	≤1.387	≤-0.413	0	特異度	0.90	18	>1.288	≤2.009	2										
H																					
感度	1.00	18	>1.288	>4.647	1	R	20	感度	0.95	17	>1.092	0									
特異度	0.95	2	≤1.288	>4.627	0	特異度	0.95	2	>4.569	≤-0.154	1										
I																					
感度	0.95	16	>2.62	>2.62	0	S	20	感度	0.95	16	>1.534	1									
特異度	0.95	3	≤2.62	≤-0.154	1	特異度	0.90	3	>5.618	≤1.534	≤4.28	1									
J																					
感度	1.00	20	>3.917	>3.917	1	特異度	0.95	20	>3.917	1											

[0175] 図8B-Oに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常

者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出する以外は、図8Aと同様にして得られた決定木(14通り)を示す。

[0176] 表6に、図8A-Oの決定木の感度、特異度、閾値を示す。

[0177]

[表6]

陽性 miR-122-5p		miR-130a-3p	miR-146a-5p	陽性 miR-122-5p		miR-130a-3p	miR-146a-5p	陽性					
A	30			I	20								
感度	1.00	17	>-0.39	感度	0.95	13	>-0.508	感度	0.95	13	>-0.508	≤-2.43	0
特異度	0.87	13	≤-0.39	特異度	0.90	6	≤-0.508	特異度	0.90	6	≤-0.508	≤-2.43	2
													>-6.626
B													
感度	1.00	13	>-0.508	感度	0.95	19	≤-2.048	感度	0.95	19	≤-2.048		5
特異度	0.85	7	≤-0.508	特異度	0.75			特異度	0.75				
C													
感度	0.95	11	>-0.39	感度	1.00	15	>-0.508	感度	1.00	15	>-0.508		0
特異度	0.75	8	≤-0.39	特異度	0.85	5	≤-0.508	特異度	0.85	5	≤-0.508	-6.626<≤-3.021	3
D													
感度	0.95	19	>-0.508	感度	1.00	18		感度	1.00	18		≤-1.548	0
特異度	0.95			特異度	0.95	2	>0.001	特異度	0.95	2	>0.001	>-1.548	1
E													
感度	1.00	15	>-2.198	感度	1.00	11	>-0.39	感度	1.00	11	>-0.39		1
特異度	0.90	5	≤-2.198	特異度	0.95	9	≤-0.39	特異度	0.95	9	≤-0.39	≤-2.368	2
													>-6.626
F													
感度	1.00	18	>-1.56	感度	1.00	12	>-1.469	感度	1.00	12	>-1.469	≤-1.548	1
特異度	0.95	2	≤-1.56	特異度	0.85	8	≤-1.469	特異度	0.85	8	≤-1.469	≤-1.548	2
													>-6.626
G													
感度	1.00	10	>-0.39	感度	0.95	15	>-0.508	感度	0.95	15	>-0.508		0
特異度	0.75	10	≤-0.39	特異度	1.00	4	≤-0.508	特異度	1.00	4	≤-0.508	-5.625<≤-3.021	0
H													
感度	1.00	18		感度	1.00	2	>0.001	感度	1.00	2	>0.001	≤-1.548	0
特異度	1.00	2	>0.001	特異度	1.00	2	>0.001	特異度	1.00	2	>0.001	>-1.548	0

[0178] 図9B-Oに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健常者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出する以外は、図9Aと同様にして得られた決定木（14通り）を示す。

[0179] 表7に、図9A-Oの決定木の感度、特異度、閾値を示す。

[0180]

[表7]

陽性 miR-15b-5p		miR-122-5p	miR-146a-5p	陽性	miR-15b-5p	miR-122-5p	miR-146a-5p	偽陽性
A		30		20				
感度	0.97	16	>-1.413	8	>-4.778		≤-3.828	1
特異度	0.77	13	≤-1.413	11	-7.025<≤-4.778		≤-3.828	6
B		20		20				
感度	0.95	19	≤-3.828	17	>-5.977		≤-3.997	2
特異度	0.60			0.90				
C		20		20				
感度	0.95	19	>-5.977	19			≤-3.828	7
特異度	0.85			0.65				
D		20		20				
感度	0.95	19	≤-3.828	19			≤-3.828	3
特異度	0.85			0.85				
E		20		20				
感度	1.00	20	≤-6.301	20			≤-6.29	12
特異度	0.40			0.40				
F		20		20				
感度	0.95	19	≤-5.291	19	≤-2.658			8
特異度	0.65			0.60				
G		20		20				
感度	0.55	11	>-5.354	19			≤-3.828	10
特異度	0.95			0.50				
H		20		20				
感度	1.00	20	≤-3.997					8
特異度	0.60							

[0181] 図10B-Oに、大腸がん（ステージ1）患者の血しょう30検体と、健康者の血しょう30検体から、それぞれ20検体を抽出する以外は、図10Aと同様にして得られた決定木（14通り）を示す。

[0182] 表8に、図10A-Oの決定木の感度、特異度、閾値を示す。

[0183]

[表8]

陽性		miR-122-5p	miR-126-3p	miR-146a-5p	偽陽性	
A		30			I	
陽性		miR-122-5p	miR-126-3p	miR-146a-5p	陽性	
感度	0.90	>1.756	>-4.458	>0.496	14	2
特異度	0.90	≤1.756	≤-4.458	≤0.496	4	1
				-4.376 < ≤ -3.445		
B		20			J	
感度	0.95	>1.756	≤-2.066	>1.415	15	2
特異度	0.80	≤1.756	-4.829 < ≤ -2.066	>1.756	2	0
				≤-4.458		
				≤-2.19		
C		20			K	
感度	0.85	>0.496	≤-2.066	>1.756	12	1
特異度	1.00	≤0.496	≤-2.066	≤1.756	5	1
				>-4.53		
D		20			L	
感度	0.95		≤-2.066	>0.496	20	3
特異度	0.90					
E		20			M	
感度	0.90	>0.97		>-0.734	15	0
特異度	0.80	≤0.97	-4.458 < ≤ -3.445	≤-0.734	2	1
				>-4.046		
				≤-2.066		
F		20			N	
感度	0.85	>0.97	≤-3.033	>0.353	16	0
特異度	0.85	≤0.97	≤-3.033	≤0.353	2	1
				>-4.046		
				≤-2.569		
G		20			O	
感度	0.90	>1.756	≤-2.066	>1.756	12	1
特異度	0.90	>1.756	≤-2.066	>1.756	5	1
				≤-4.458		
				≤-2.066		
H		20				
感度	0.95		≤-2.066			
特異度	0.95					

[0184] (結果)

ΔCT ($miR-93-5p$) 値を用いる場合は、図7Aで選択された $miRNA$ が使用されている、図7B-Sのうち、図7B-D、F-N、P、R、Sの決定木の感度が0.95以上であった。

[0185] 図7Bでは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >4.569 であり、 $miR-199a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.179 である場合、あるいは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 4.569 であり、 $miR-199a-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 1.707 であり、 $miR-15b-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.534 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0186] 図7Cでは、 $miR-199a-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 4.28 であり、 $miR-15b-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.153 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0187] 図7Dでは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >3.917 である場合、あるいは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 3.917 であり、 $miR-199a-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 1.897 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0188] 図7Eでは、 $miR-199a-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >4.647 であり、 $miR-15b-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.288 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0189] 図7Fでは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >3.971 であり、 $miR-199a-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.179 である場合、あるいは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ 3.917 であり、 $miR-146a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が ≤ -0.21 であり、 $miR-15b-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$) 値が >1.288 である場合に、

がん陽性であると判定される。

[0190] 図7Gでは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.28 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 1.387 である場合、あるいは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.28 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 1.387 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 4.618 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.413 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0191] 図7Hでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 4.647 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 1.288 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 4.647 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 1.288 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.392 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0192] 図7Iでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 2.62 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 2.62 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.154 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0193] 図7Jでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 3.917 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0194] 図7Kでは、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 1.288 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 0.938 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が > 0.131 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0195] 図7Lでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が

>4.569である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.569 であり、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 1.707 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0196] 図7Mでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>5.618である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 5.618 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.154 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>1.298である場合に、がん陽性であると判定される。

[0197] 図7Nでは、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>1.125であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>3.031である場合、あるいは、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>1.125であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 3.031 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.128 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0198] 図7Oでは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.28 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>1.288である場合に、がん陽性であると判定される。

[0199] 図7Pでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>3.917である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 3.917 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.154 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0200] 図7Qでは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 2.009 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が>1.288である場合に、がん陽性であると判定される。

- [0201] 図7Rでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が >4.569 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が >1.092 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.569 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ -0.154 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0202] 図7Sでは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.28 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が >1.534 である場合、あるいは、miR-199a-3pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 4.28 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が ≤ 1.534 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p) 値が >5.618 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0203] ΔCT (miR-192-5p) 値を用いる場合は、図8Aで選択されたmiRNAが使用されている、図8B-Oの全ての決定木の感度が0.95以上であった。
- [0204] 図8Bでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-0.508 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.508 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -4.191 であり、且つ、 >-6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0205] 図8Cでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-0.39 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.39 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -4.411 であり、且つ、 >-6.638 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0206] 図8Dでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-0.508 である場合に、がん陽性であると判定される。

- [0207] 図8Eでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-2.198 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.198 であり、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.548 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0208] 図8Fでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-1.56 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.56 であり、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.333 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-6.282 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0209] 図8Gでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-0.39 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.39 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -4.191 であり、且つ、 >-6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0210] 図8Hでは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.548 である場合、あるいは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-1.548 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >0.001 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0211] 図8Iでは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.43 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-0.508 である場合、あるいは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.43 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.508 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が >-6.6

26である場合に、がん陽性であると判定される。

- [0212] 図8Jでは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.048 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0213] 図8Kでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -0.508 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.508 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≥ -3.021 であり、且つ、 > -6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0214] 図8Lでは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.548 である場合、あるいは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -1.548 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > 0.001 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0215] 図8Mでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -0.39 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -0.39 であり、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -2.368 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0216] 図8Nでは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.548 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -1.469 である場合、あるいは、miR-130a-3pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.548 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -1.469 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -6.626 である場合に、がん陽性であると判定される。
- [0217] 図8Oでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が > -0.508 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (

miR-192-5p) 値が ≤ -0.508 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-192-5p) 値が ≤ -3.021 であり、且つ、 > -5.625 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0218] ΔCT (miR-502-5p) 値を用いる場合は、図9Aで選択されたmiRNAが使用されている、図9B-Oのうち、図9B-F、H、I、K-Oの決定木の感度が0.95以上であった。

[0219] 図9Bでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0220] 図9Cでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が > -5.977 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0221] 図9Dでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0222] 図9Eでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -6.301 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0223] 図9Fでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -5.291 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0224] 図9Gでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が > -5.354 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0225] 図9Hでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.997 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0226] 図9Iでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が > -4.778 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 であり、miR

-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -4.778 であり、且つ、 > -7.025 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0227] 図9Jでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.997 であり、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が > -5.977 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0228] 図9Kでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0229] 図9Lでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0230] 図9Mでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -6.29 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0231] 図9Nでは、miR-15b-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -2.658 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0232] 図9Oでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-502-5p) 値が ≤ -3.828 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0233] ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値を用いる場合は、図10Aで選択されたmiRNAが使用されている、図10B-Oのうち、図10B、D、H、Lの決定木の感度が0.95以上であった。

[0234] 図10Bでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 1.756 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が $> \leq -2.066$ であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 1.756 であり、miR-146a-5pの ΔCT (

miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > -4.829 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0235] 図10Cでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 0.496 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 0.496 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > -4.376 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0236] 図10Dでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0237] 図10Eでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 0.97 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 0.97 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -3.445 であり、且つ、 > -4.458 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0238] 図10Fでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -3.033 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 0.97 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -3.033 であり、miR-122-5

pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 0.97 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > -4.458 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0239] 図10Gでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > -4.458 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -4.458 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 1.756 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0240] 図10Hでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0241] 図10Iでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > 0.496 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 0.496 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -3.445 であり、且つ、 > -4.376 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0242] 図10Jでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.19 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が > -4.458 である場合、あるいは、m

$miR-146a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -2.19 であり、 $miR-126-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -4.458 であり、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > 1.415 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0243] 図10Kでは、 $miR-146a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -2.066 であり、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > 1.756 である場合、あるいは、 $miR-146a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -2.066 であり、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ 1.756 であり、 $miR-126-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > -4.53 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0244] 図10Lでは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > 0.496 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0245] 図10Mでは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > -0.734 である場合、あるいは、 $miR-122-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -0.734 であり、 $miR-146a-5p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が ≤ -2.066 であり、 $miR-126-3p$ の ΔCT ($miR-93-5p$, $miR-192-5p$, $miR-502-5p$) 値が > -4.046 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0246] 図10Nでは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >0.353 である場合、あるいは、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ 0.353 であり、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.569 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >-4.046 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0247] 図10Oでは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >-4.458 である場合、あるいは、miR-146a-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -2.066 であり、miR-126-3pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が ≤ -4.458 であり、miR-122-5pの ΔCT (miR-93-5p, miR-192-5p, miR-502-5p) 値が >1.756 である場合に、がん陽性であると判定される。

[0248] 本出願は、2020年1月24日に出願された日本国特許出願2020-009850号に基づく優先権を主張するものであり、その全内容をここに援用する。

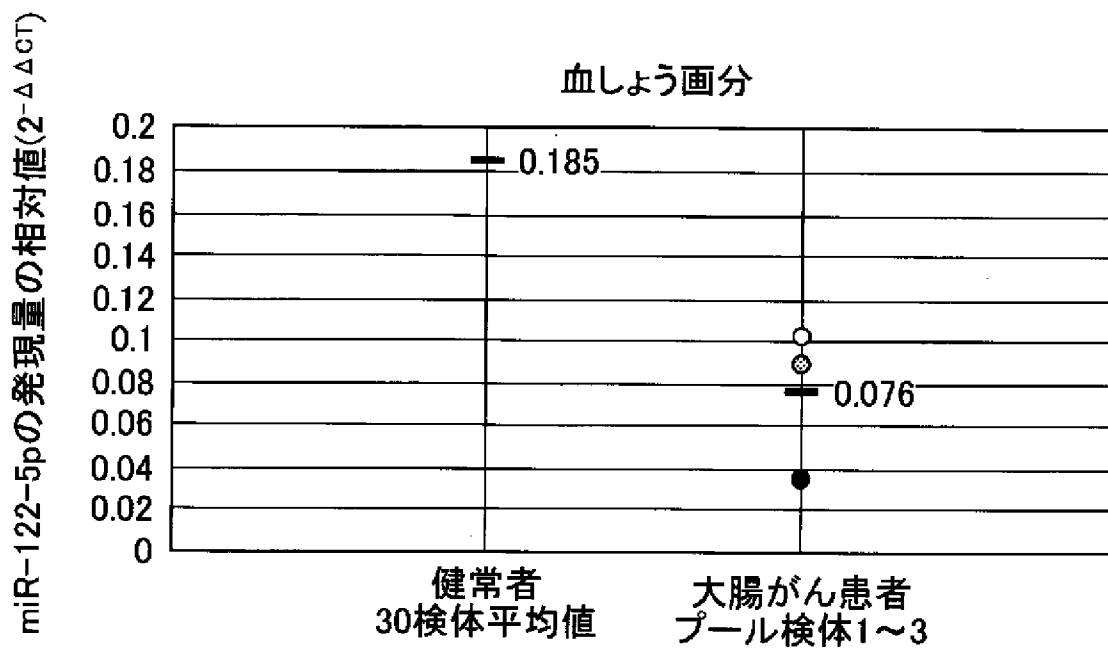
請求の範囲

- [請求項1] m i R N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法であって、
被験者の体液から、m i R N Aを抽出する工程と、
該抽出されたm i R N Aを使用して、前記被験者の体液中のm i R
N Aの発現レベルを検出する工程を含み、
前記被験者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルが、健常
者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルよりも減少している
ことを、H O T A I R (H o x t r a n s c r i p t a n t i s
e n s e i n t e r g e n i c R N A) を発現するがんの指標と
して用い、
前記体液は、血しょう又は血清である、m i R N Aの発現レベルを
がんの指標として用いる方法。
- [請求項2] 前記被験者は、がんに罹患していた被験者である、請求項1に記載
のm i R N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法。
- [請求項3] 被験者の体液を高マンノース型糖鎖特異的レクチンが固定化されて
いる基材と接触させる工程をさらに含み、
該高マンノース型糖鎖特異的レクチンにより選択的に捕捉された成
分から、前記m i R N Aを抽出する、請求項1又は2に記載のm i R
N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法。
- [請求項4] 前記高マンノース型糖鎖特異的レクチンは、O s c i l l a t o r
i a a g a r d h i i由来レクチン (O A A) である、請求項3に
記載のm i R N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法。
- [請求項5] 前記被験者の体液中のm i R - 1 2 2 - 5 pの発現レベルに加えて
、前記被験者の体液中のm i R - 4 5 1 aの発現レベルを検出し、
前記被験者の体液中のm i R - 4 5 1 aの発現レベルが、前記健常
者の体液中のm i R - 4 5 1 aの発現レベルよりも減少していること
を、進行がんの指標として用いる、請求項1～4のいずれか一項に記
載のm i R N Aの発現レベルをがんの指標として用いる方法。

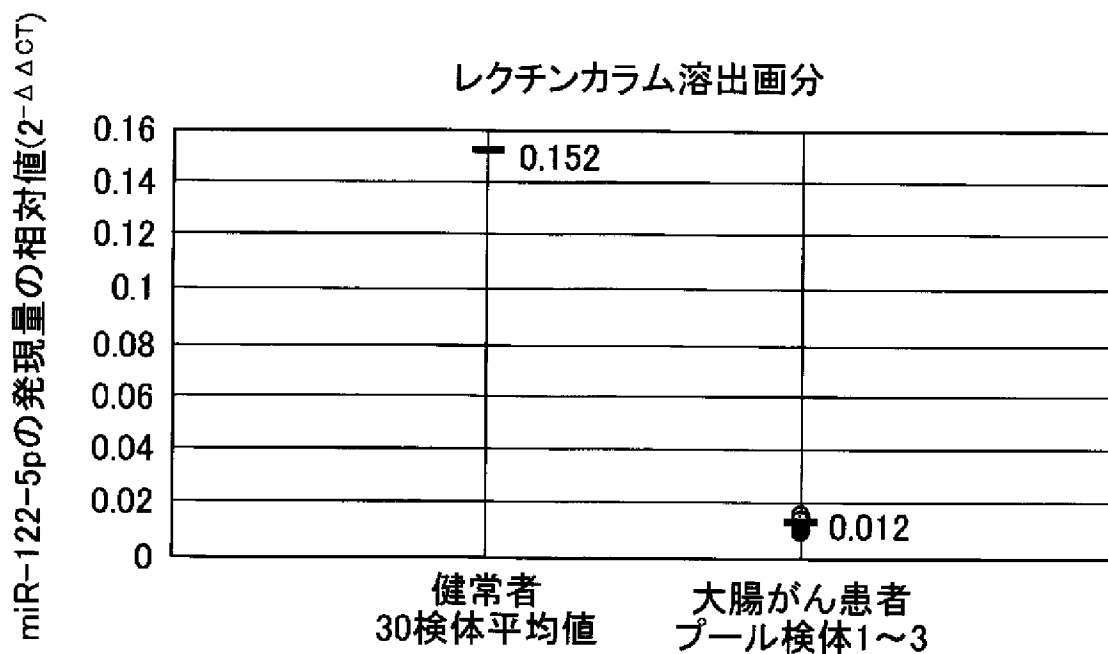
[請求項6] 前記体液中のmiRNAの発現レベルを検出する際に、前記体液中のmiR-192-5p、miR-93-5p、miR-502-5pからなる群より選択される1種以上のmiRNAのCT(threshold cycle)値により、前記体液中のmiRNAのCT値を補正する、請求項1～5のいずれか一項に記載のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法。

[請求項7] 前記被験者の体液中のmiR-122-5pの発現レベルに加えて、前記被験者の体液中のmiR-126-3p、miR-192-5p、miR-93-5p、miR-423-3p、miR-21-5p、miR-130a-3p、miR-23a-3p、miR-146a-5p、miR-199a-3p、miR-15b-5pからなる群より選択される1種以上のmiRNAの発現レベルを検出し、
前記被験者の体液中の前記1種以上のmiRNAの発現レベルが、それぞれ前記健常者の体液中の前記1種以上のmiRNAの発現レベルよりも上昇していることを、がんの指標として用いる、請求項1～6のいずれか一項に記載のmiRNAの発現レベルをがんの指標として用いる方法。

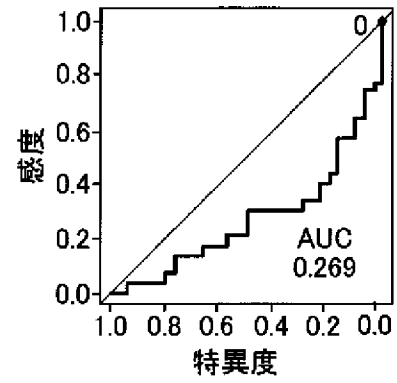
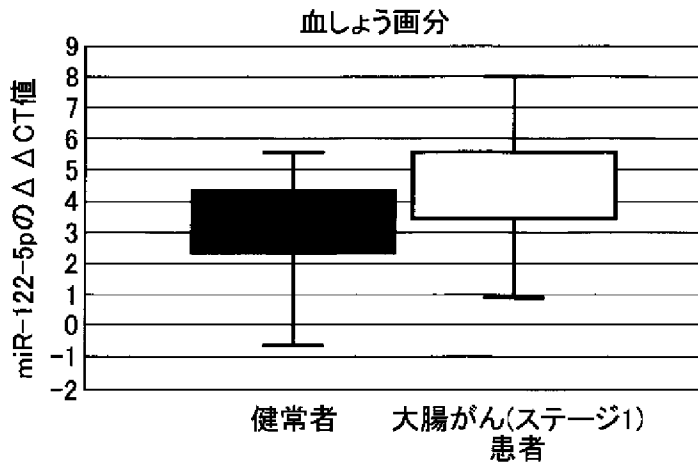
[図1A]



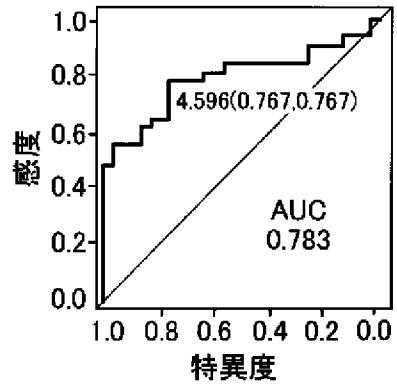
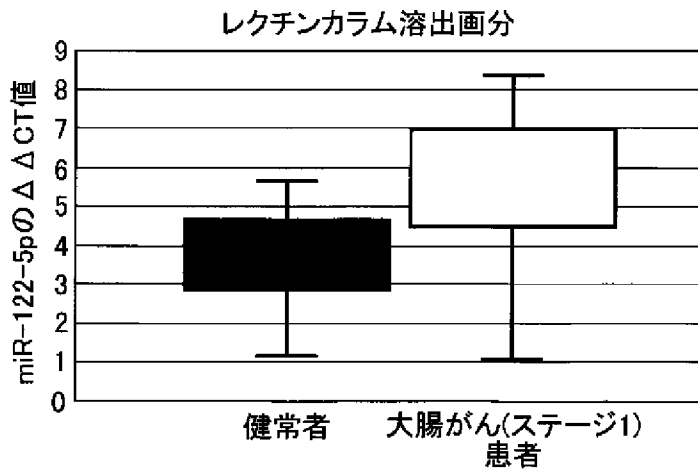
[図1B]



[図2A]

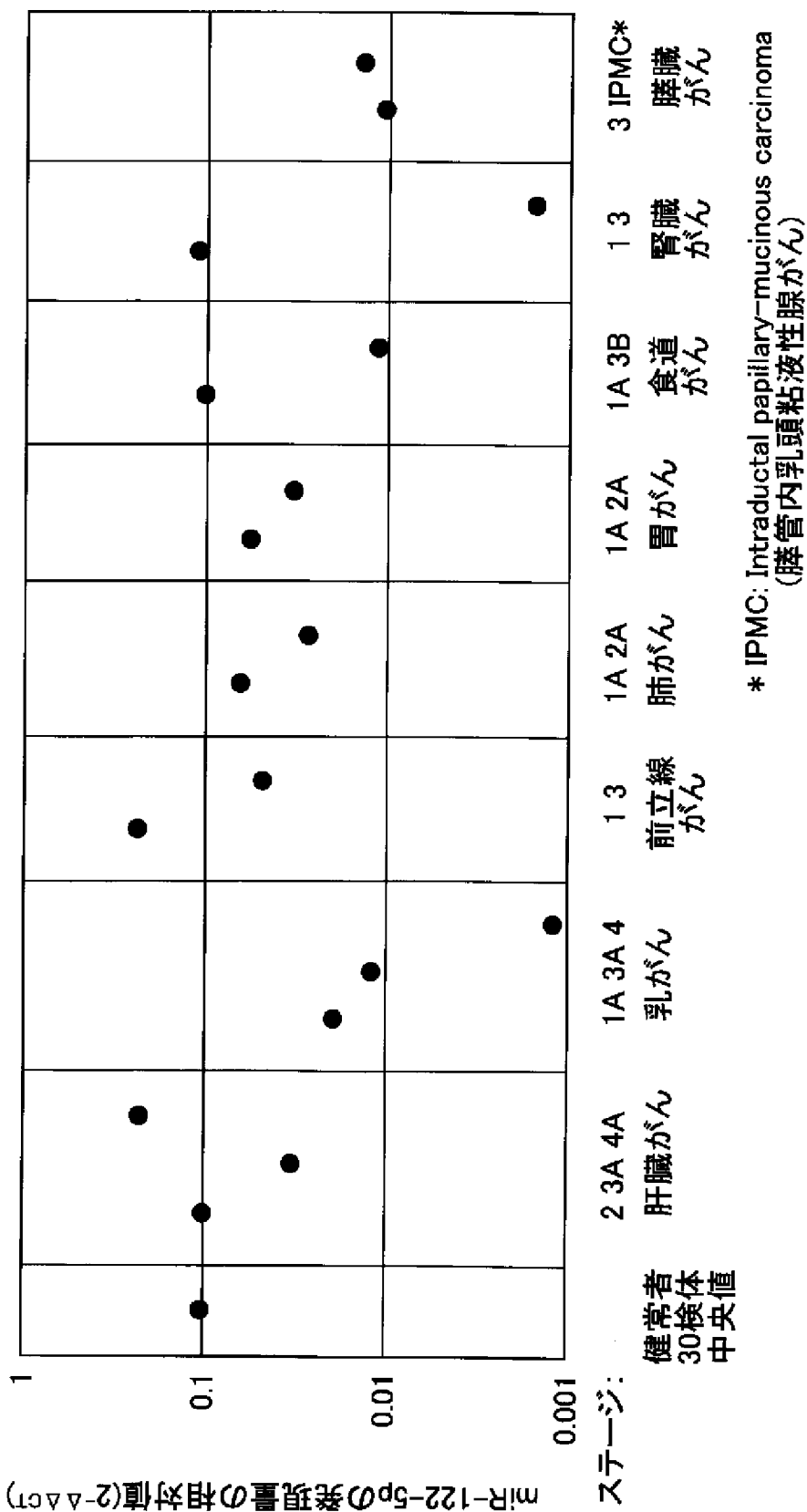


[図2B]



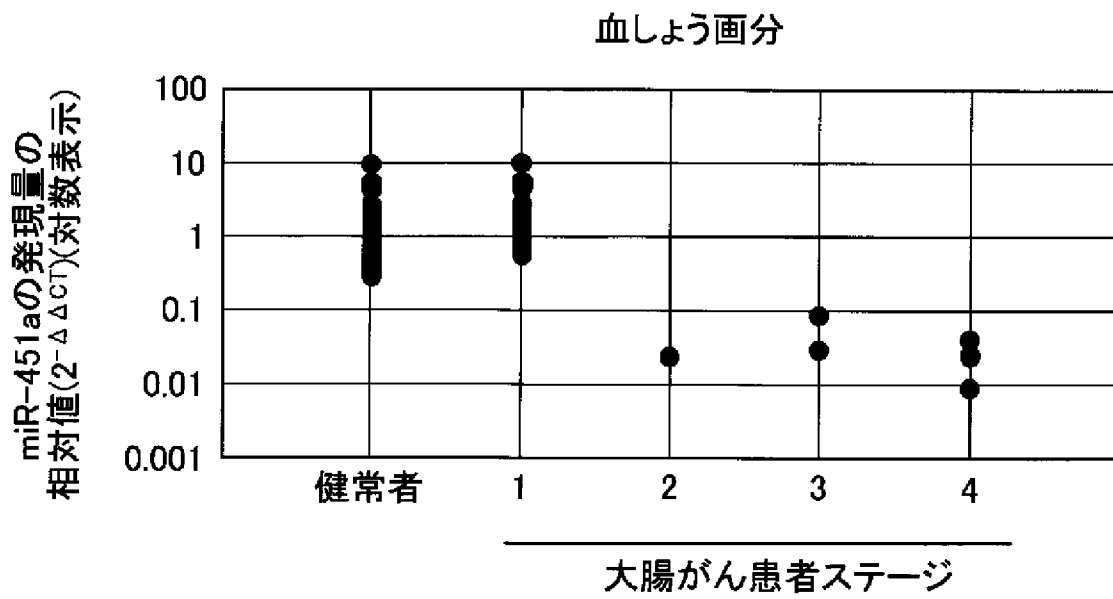
[図3]

レクチンカラム溶出画分

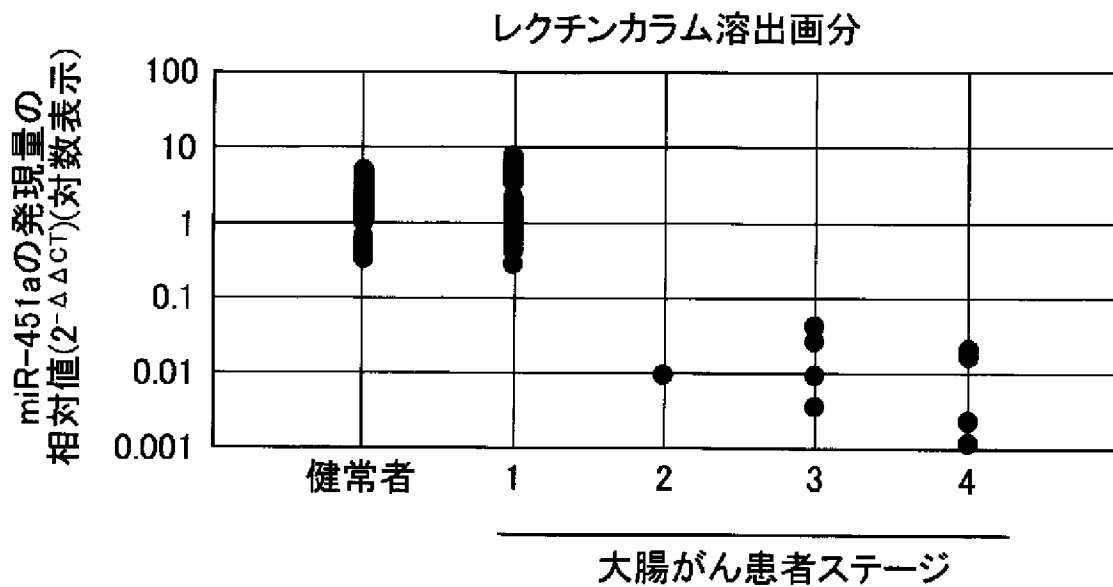


ミラーズ:

[図4A]

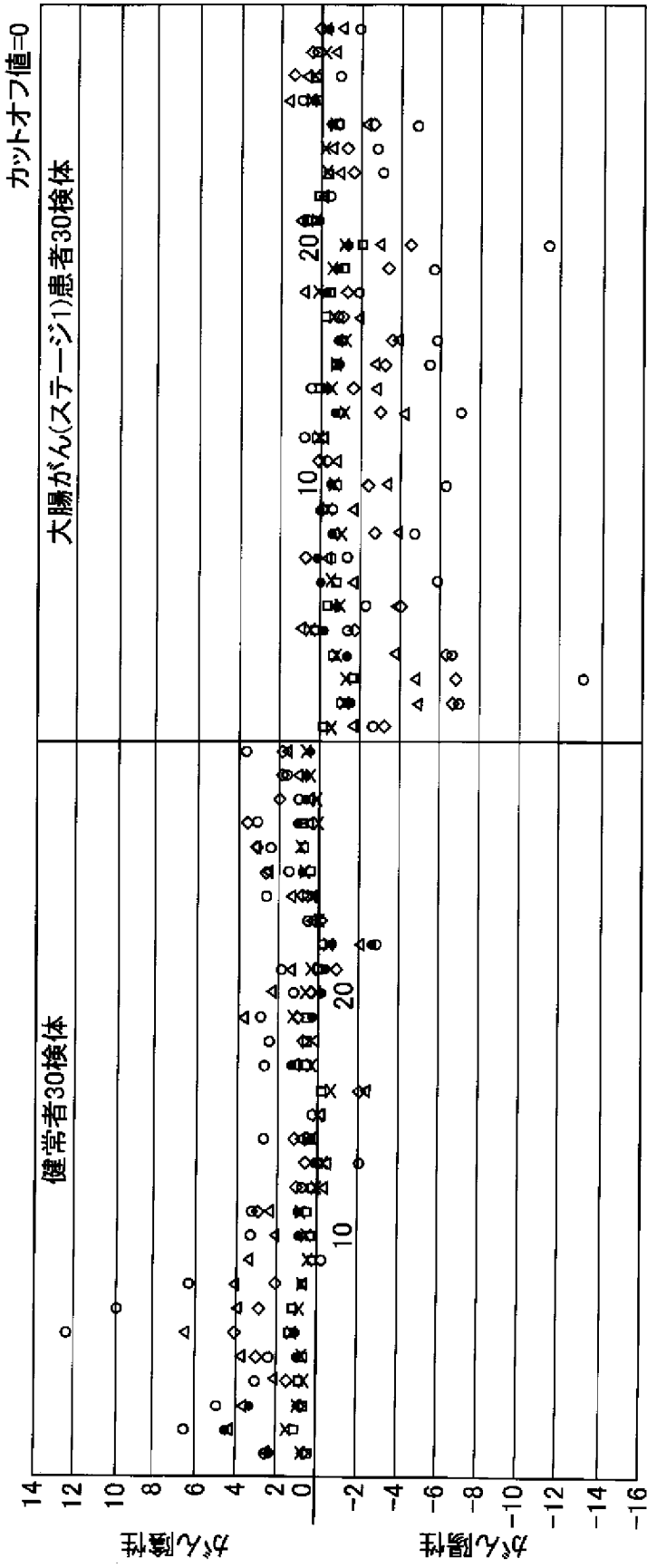


[図4B]



[図5]

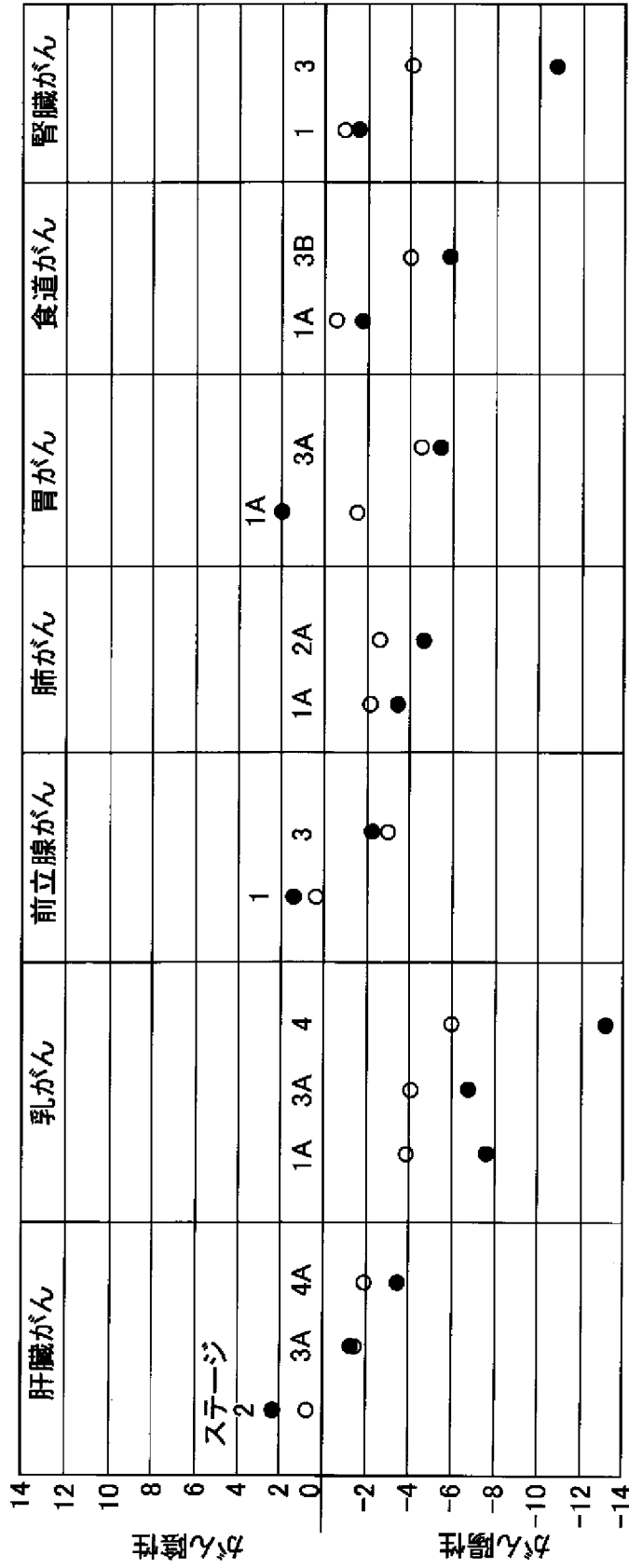
レクチンカラム溶出画分
重回帰式及びロジスティック回帰式yハット値



- Δ CT(miR-93-5p)重回帰
- Δ CT(miR-192-5p)ロジスティック回帰
- ◇ Δ CT(miR-93-5p)重回帰
- Δ CT(miR-192-5p)重回帰
- Δ CT(miR-192-5p)ロジスティック回帰
- × Δ CT(ce1-miR-39-3p)重回帰
- △ Δ CT(ce1-miR-39-3p)ロジスティック回帰

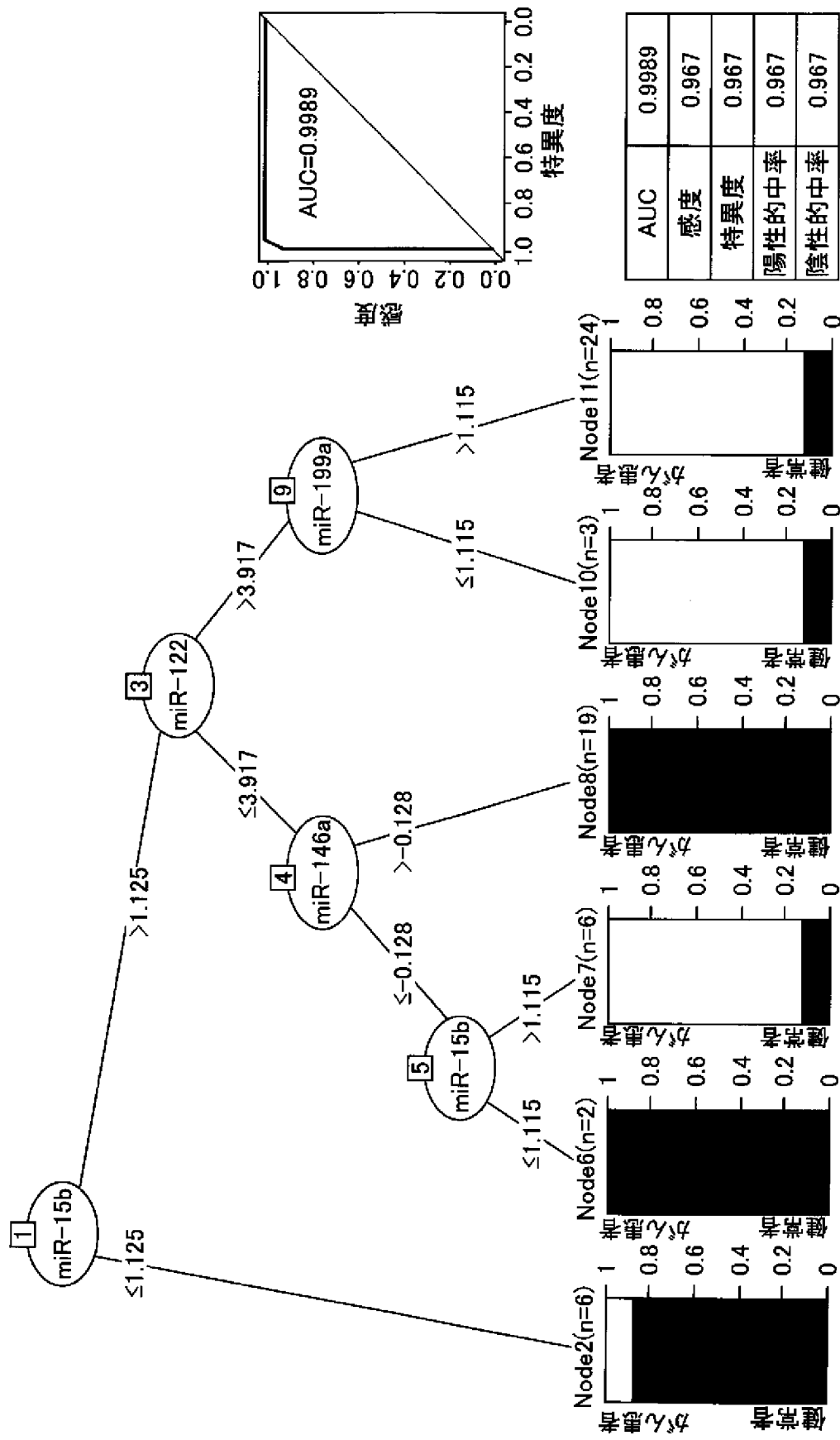
[図6]

レクチンカラム溶出画分
ロジスティック回帰式yハット値

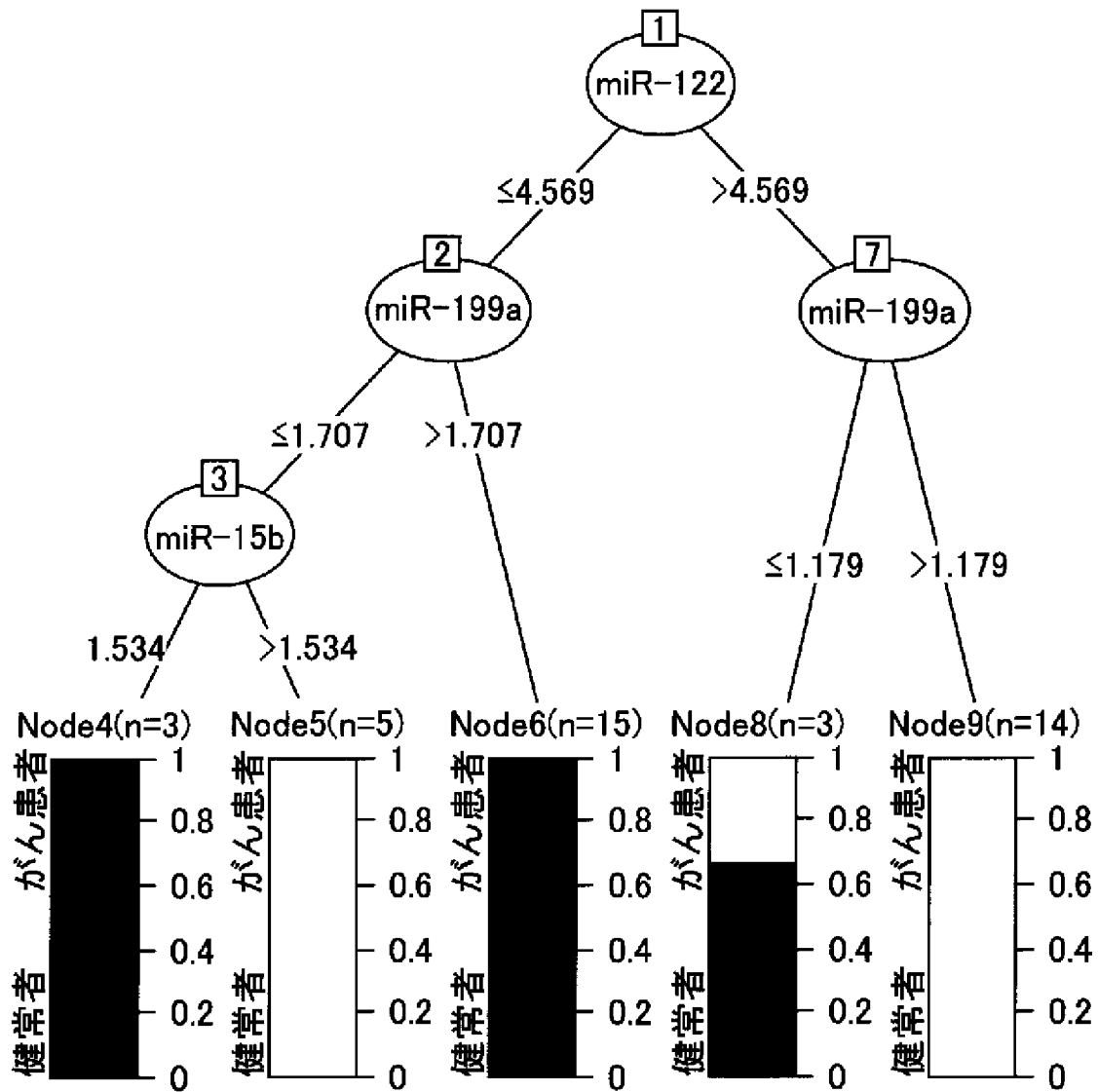


● ΔCT(miR-192-5p) ○ ΔCT(ce1-miR-39-3p) カットオフ値=0

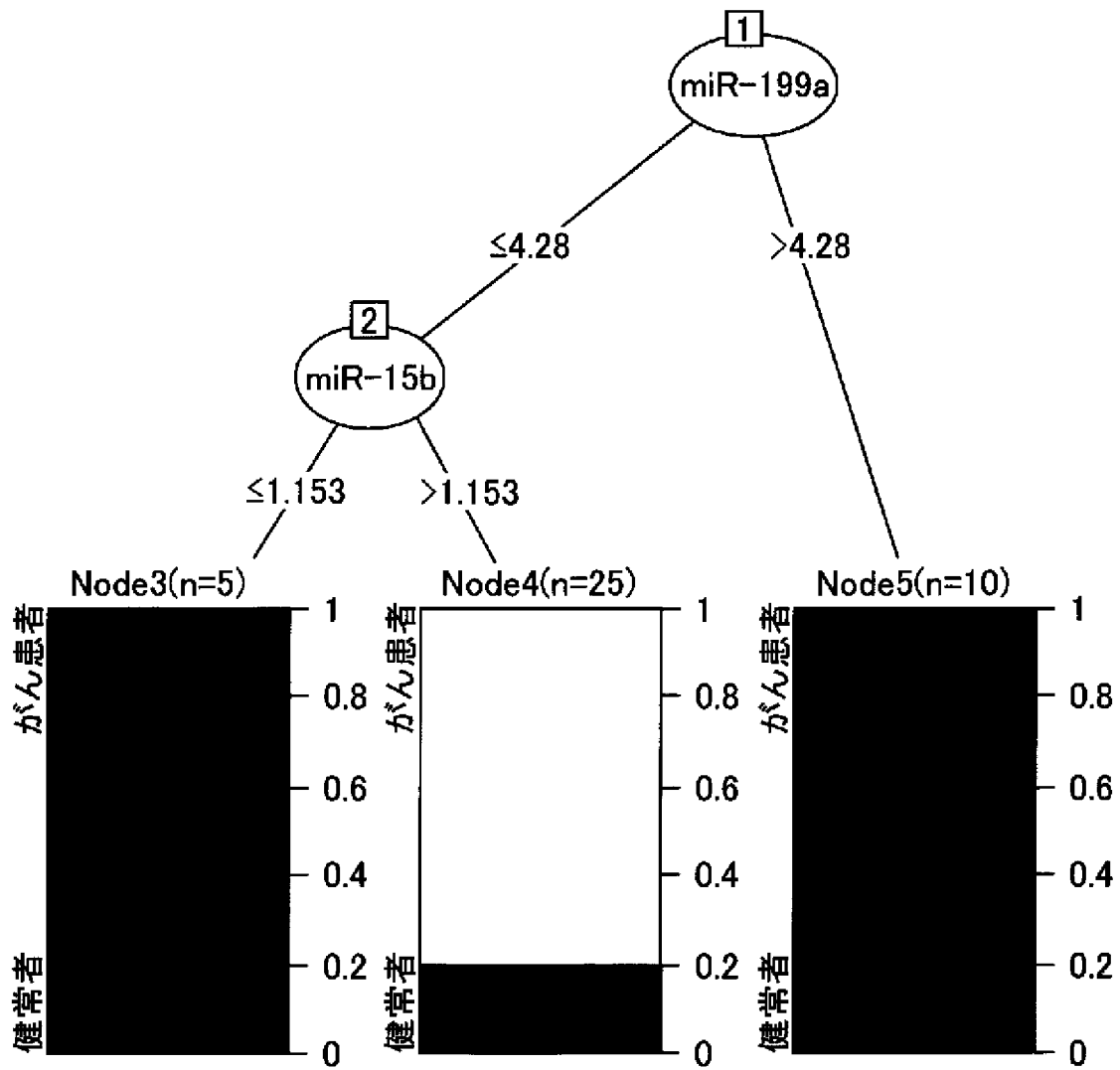
[図7A]



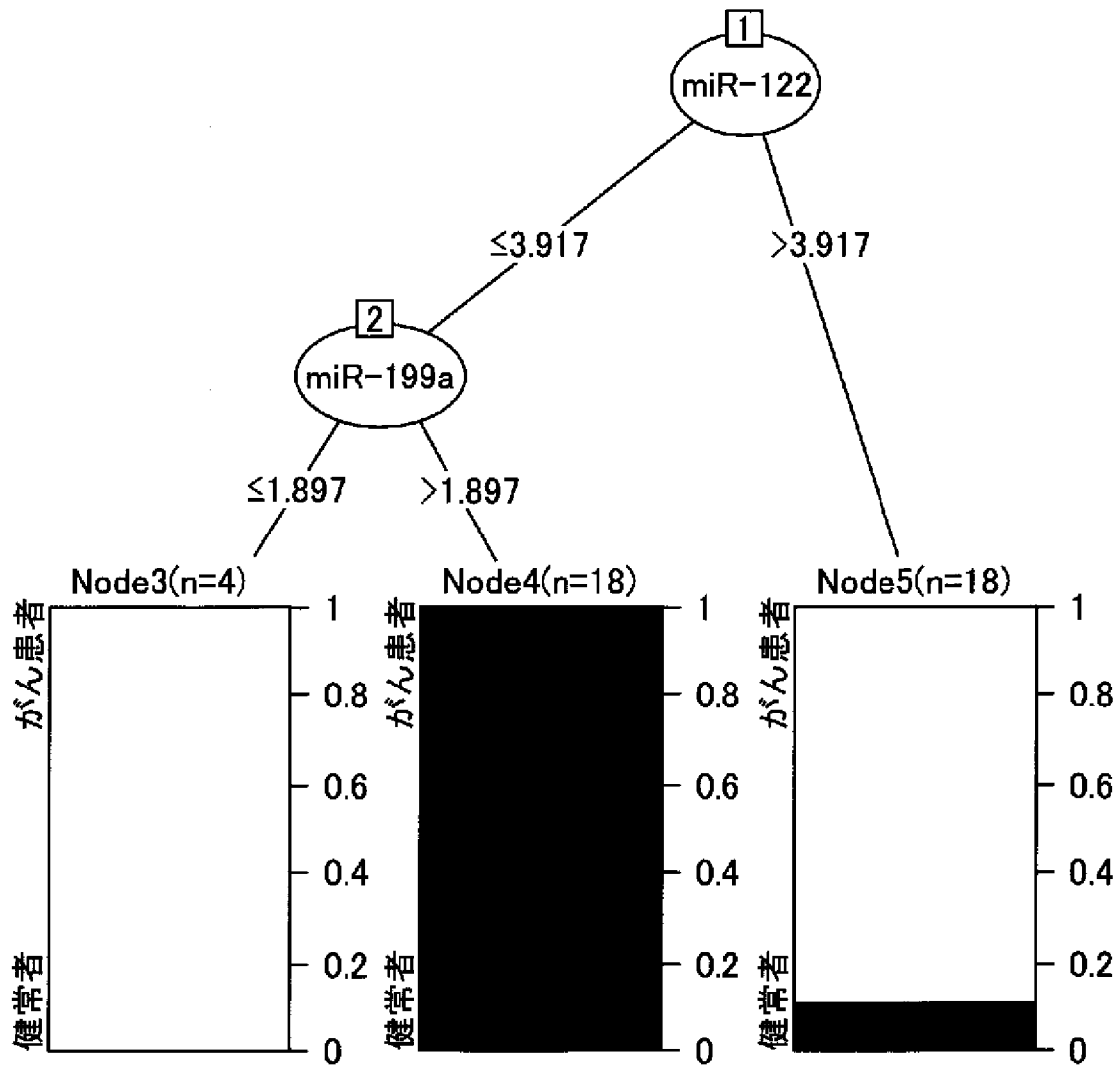
[図7B]



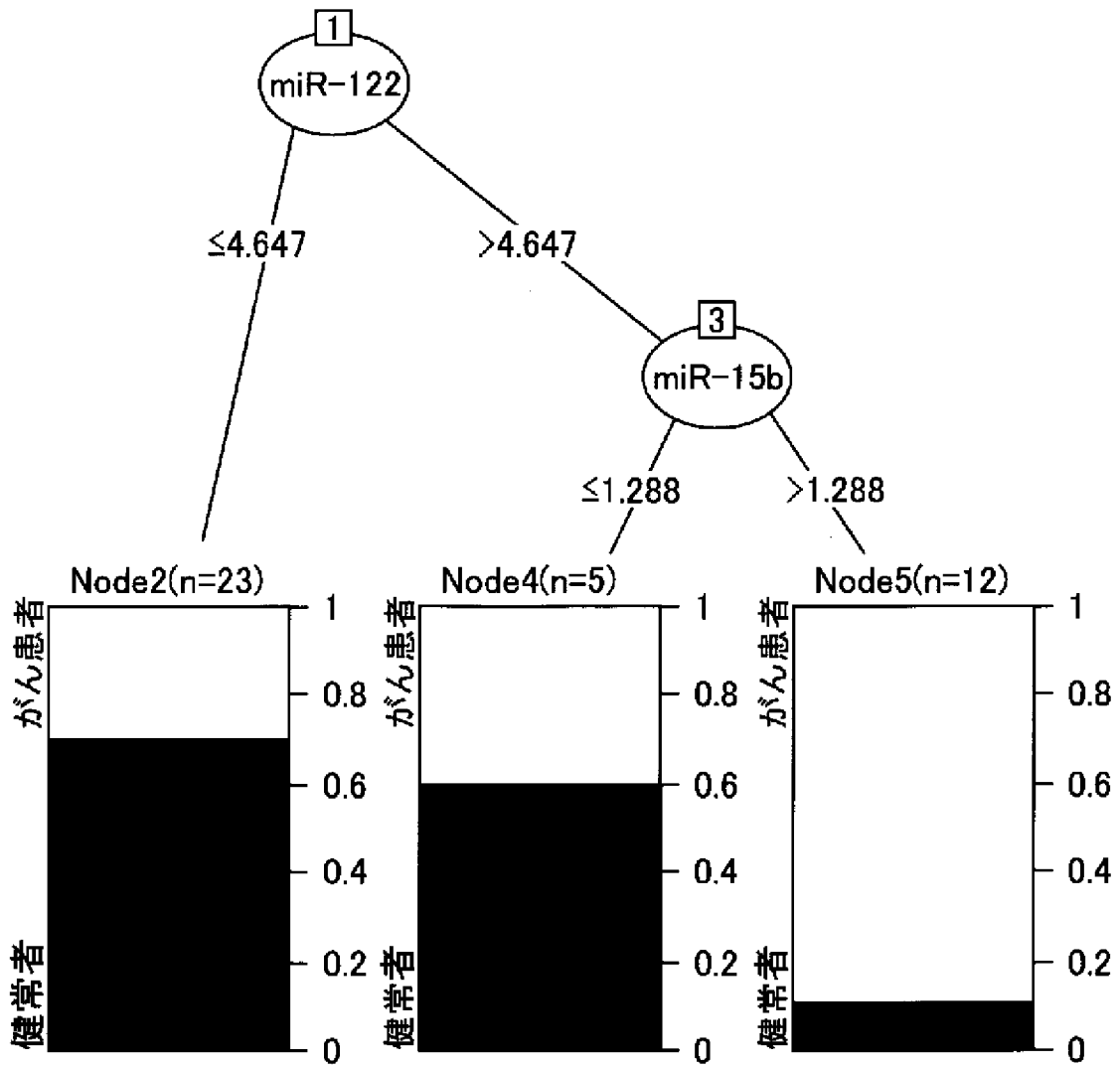
[図7C]



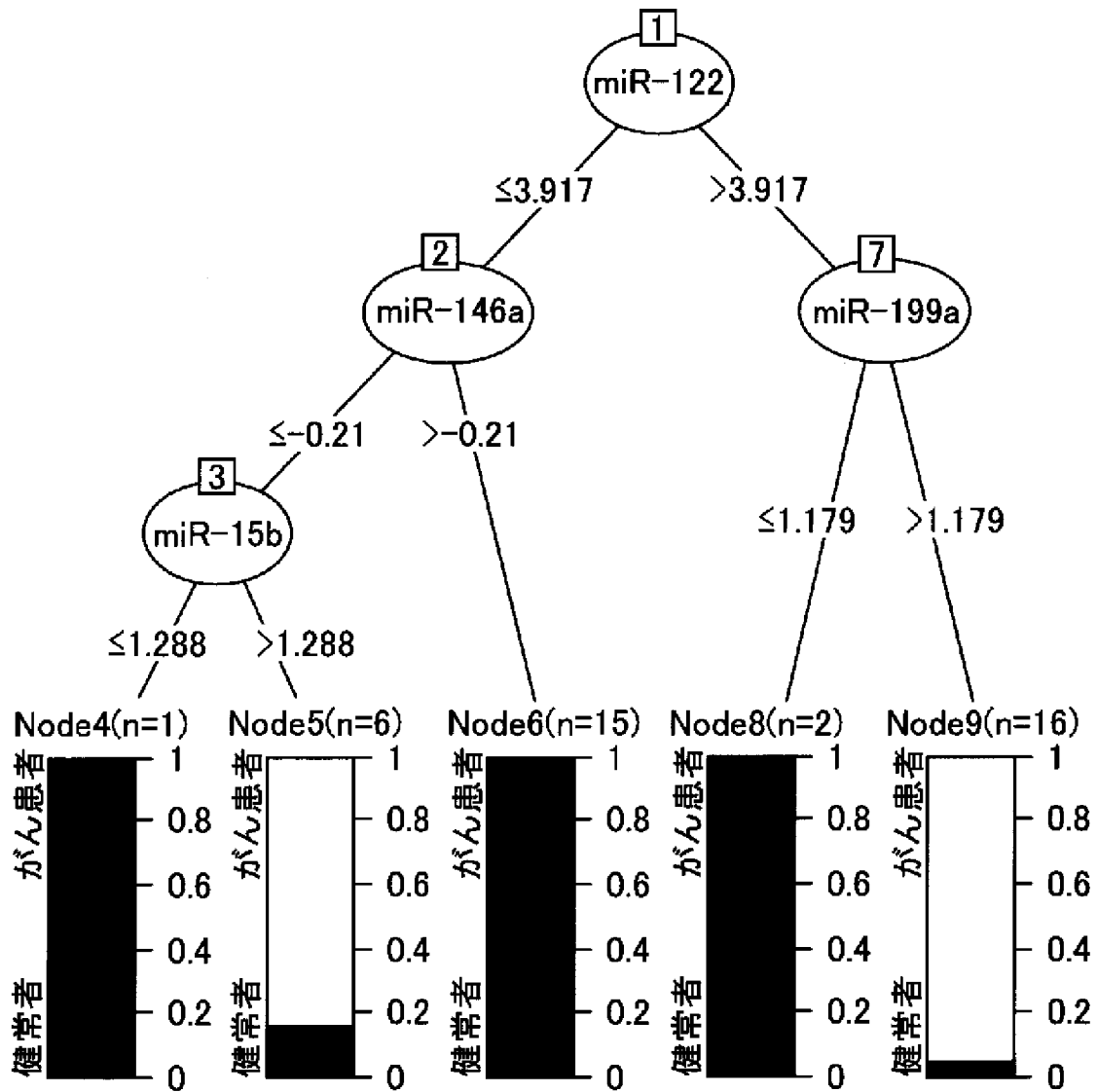
[図7D]



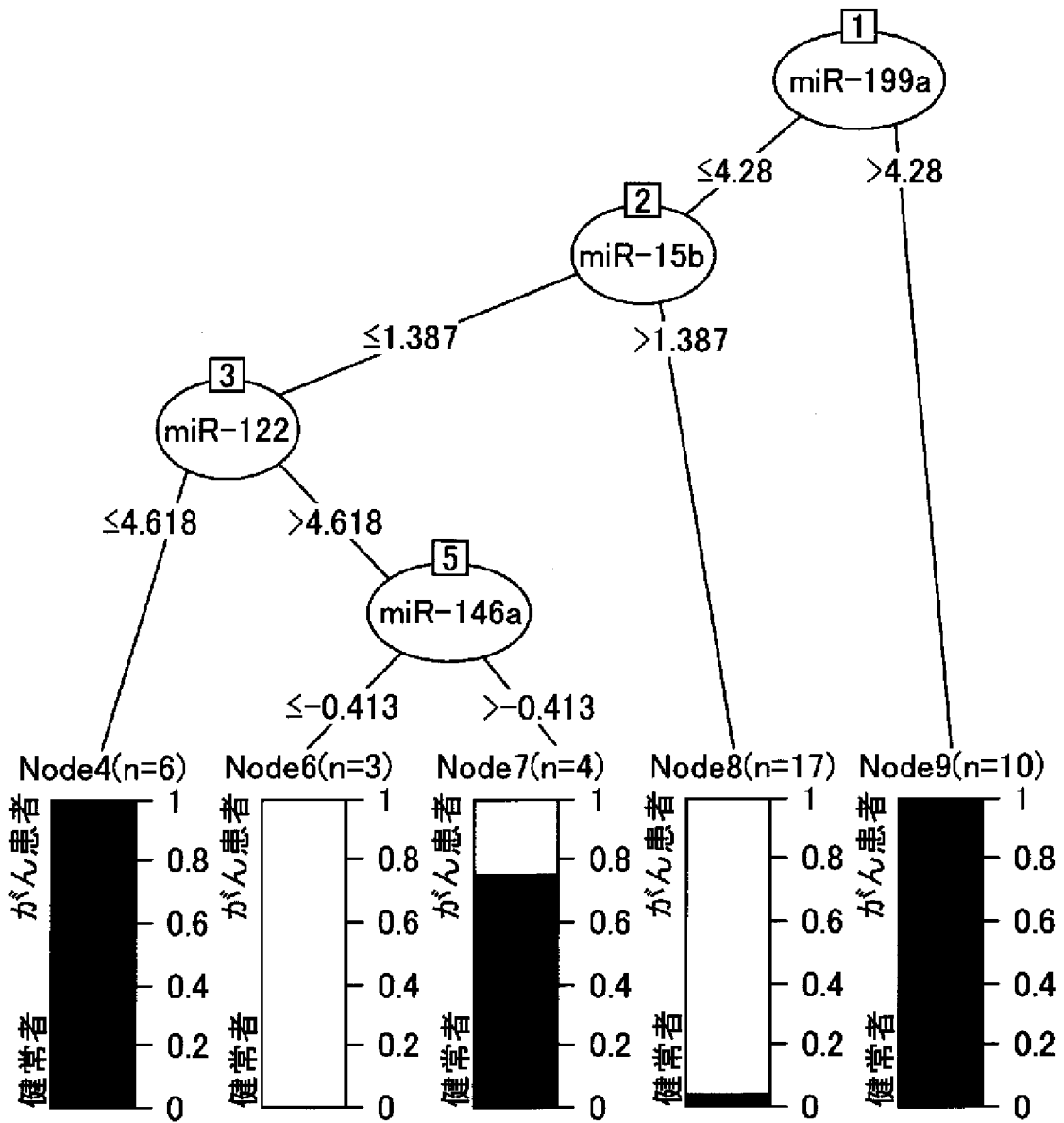
[図7E]



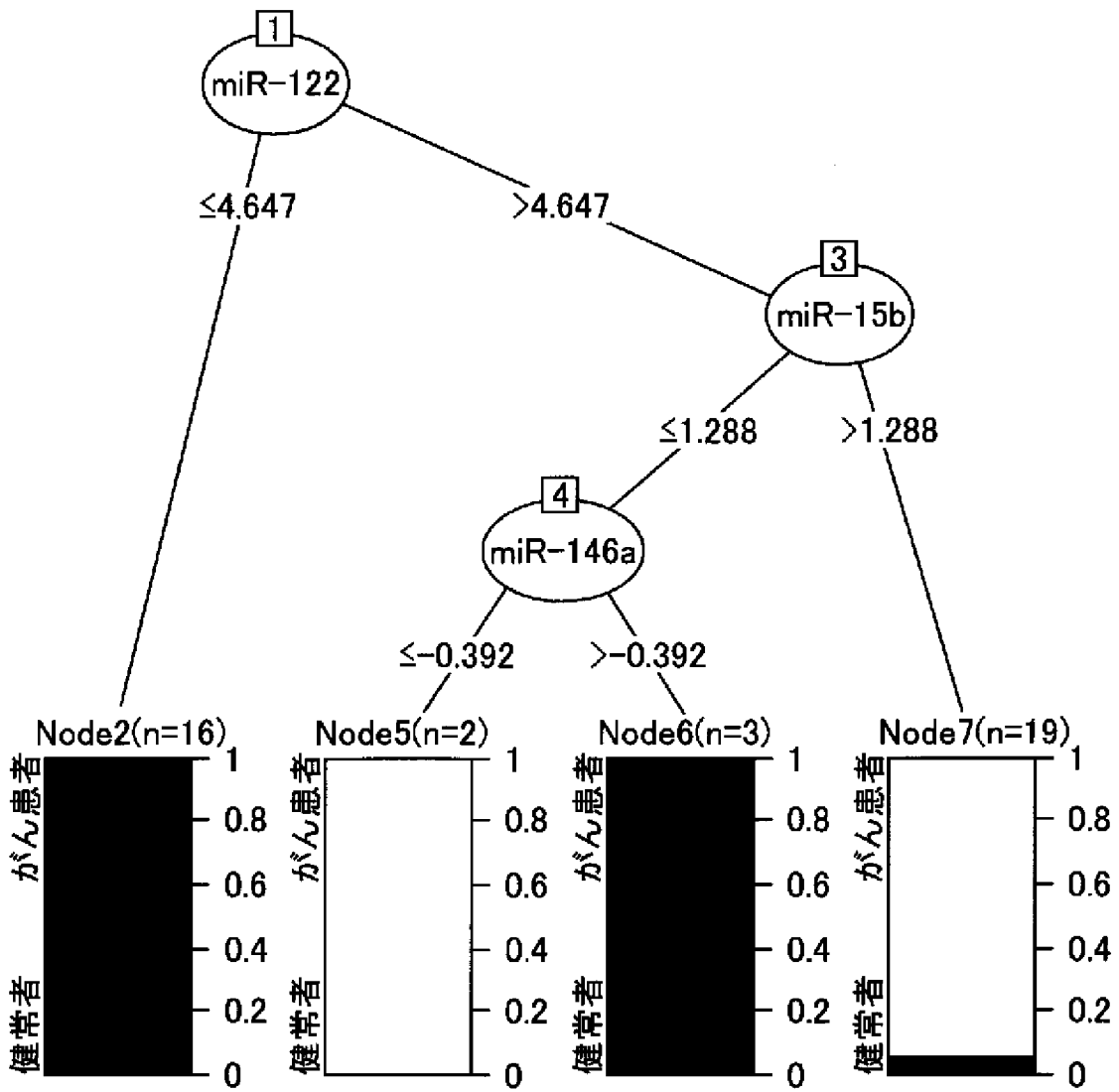
[図7F]



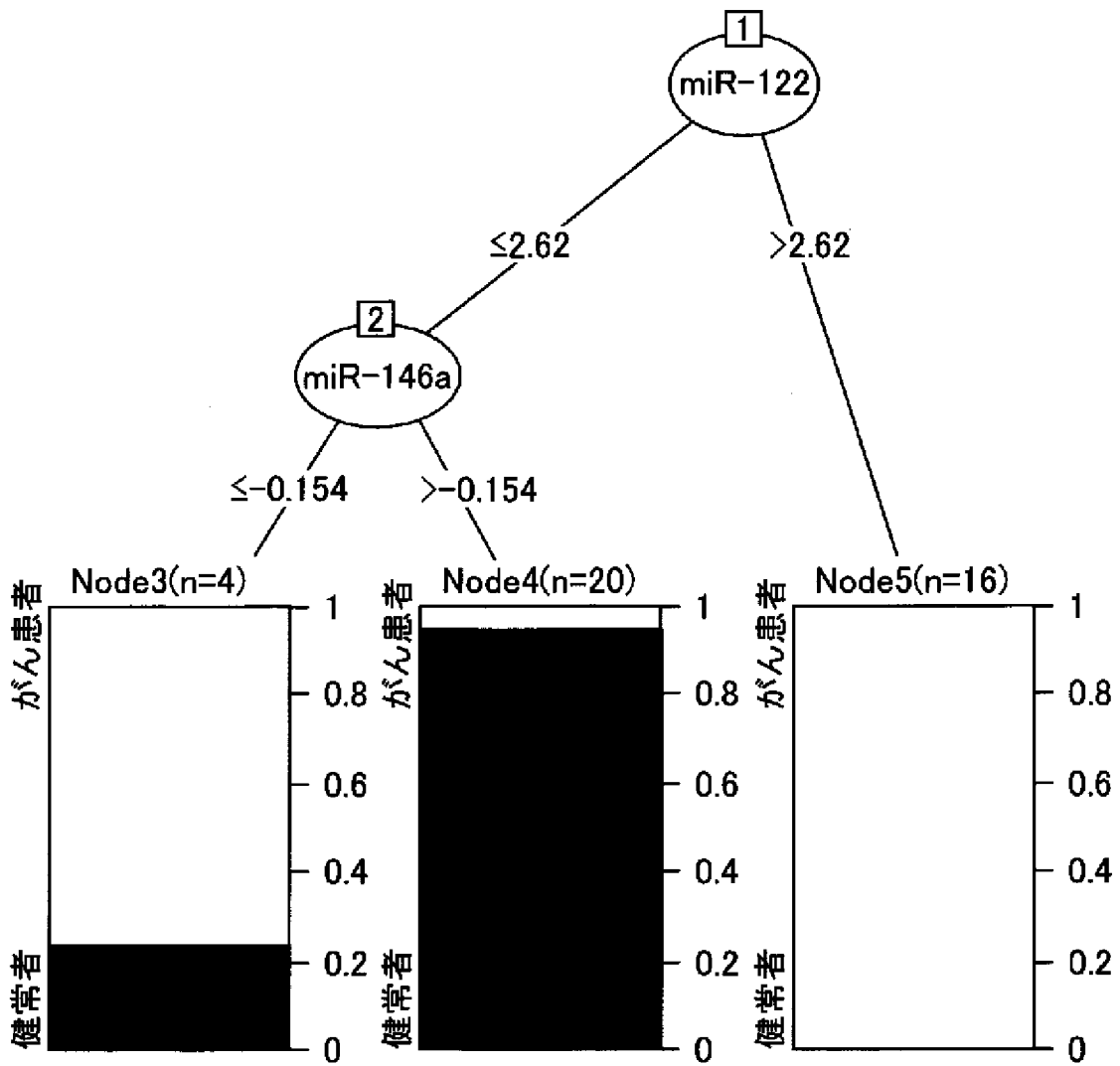
[図7G]



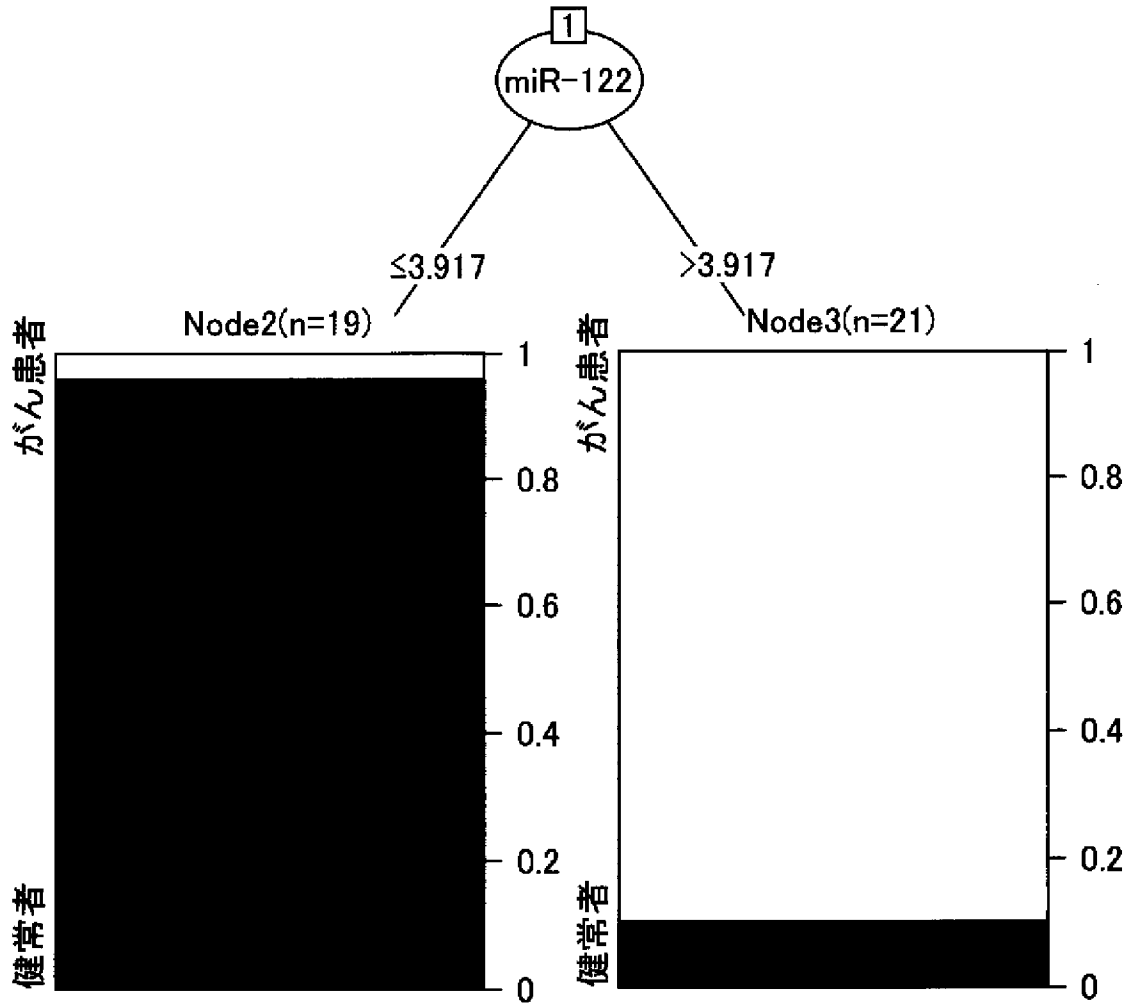
[図7H]



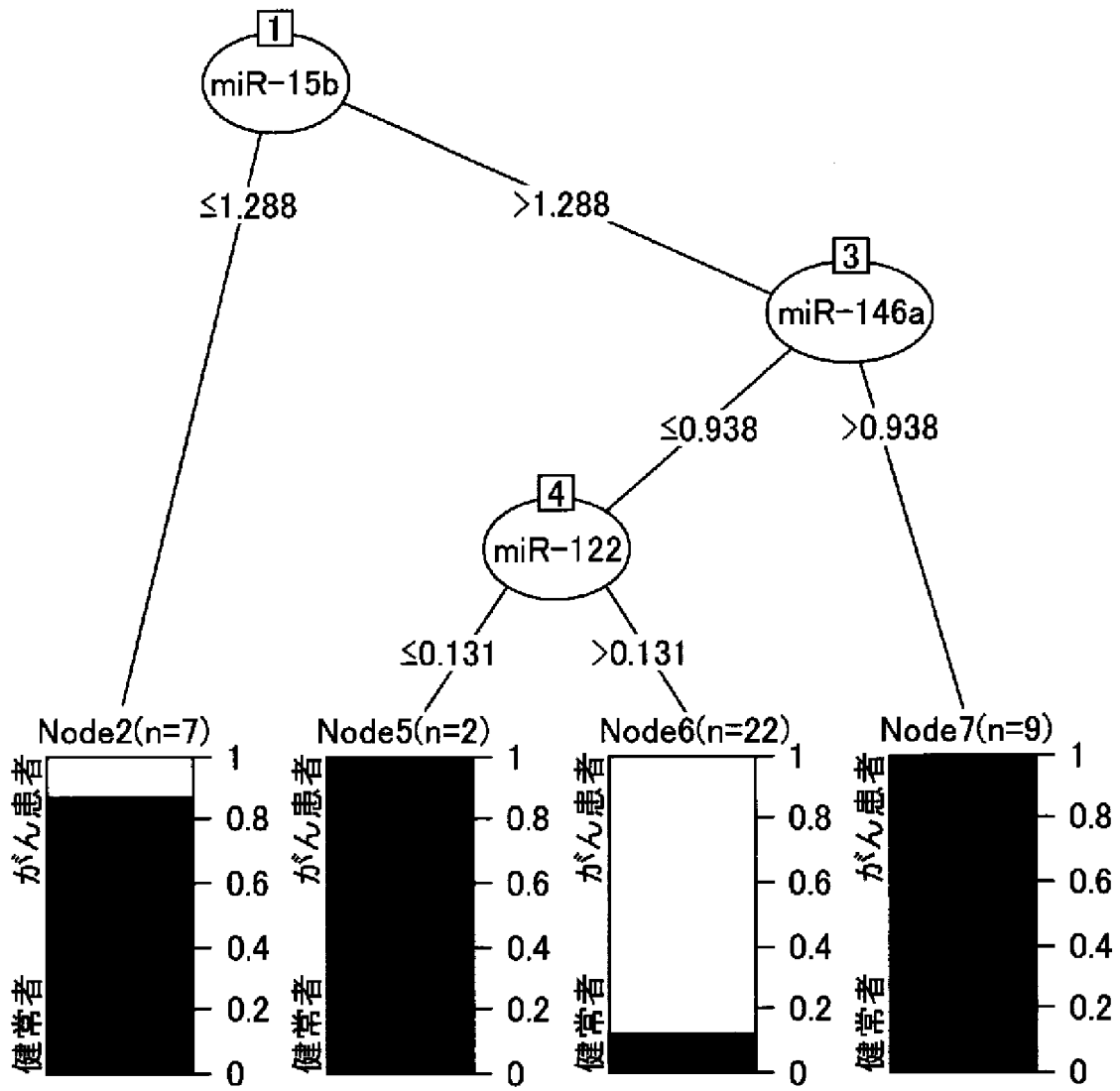
[図7I]



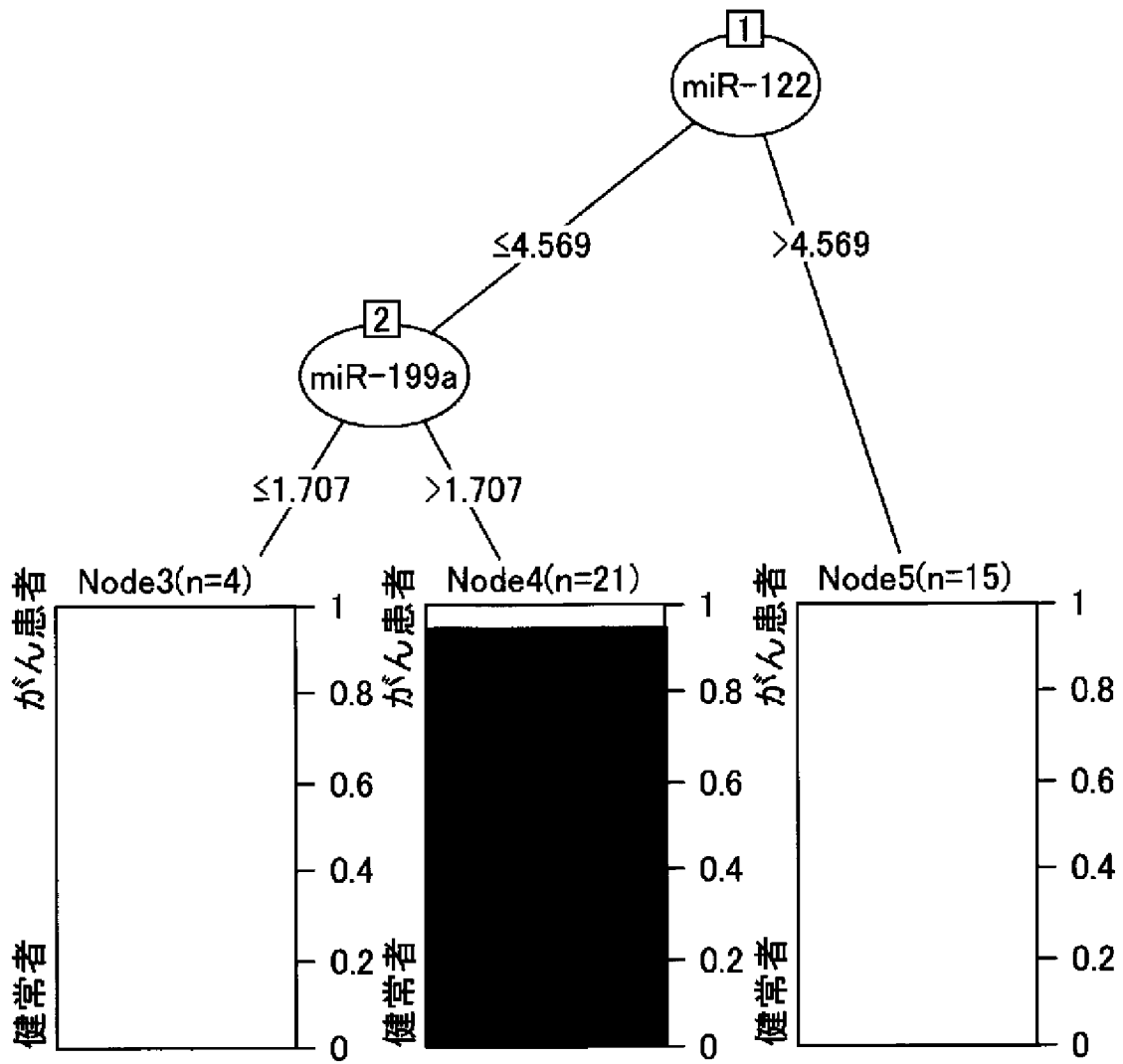
[図7J]



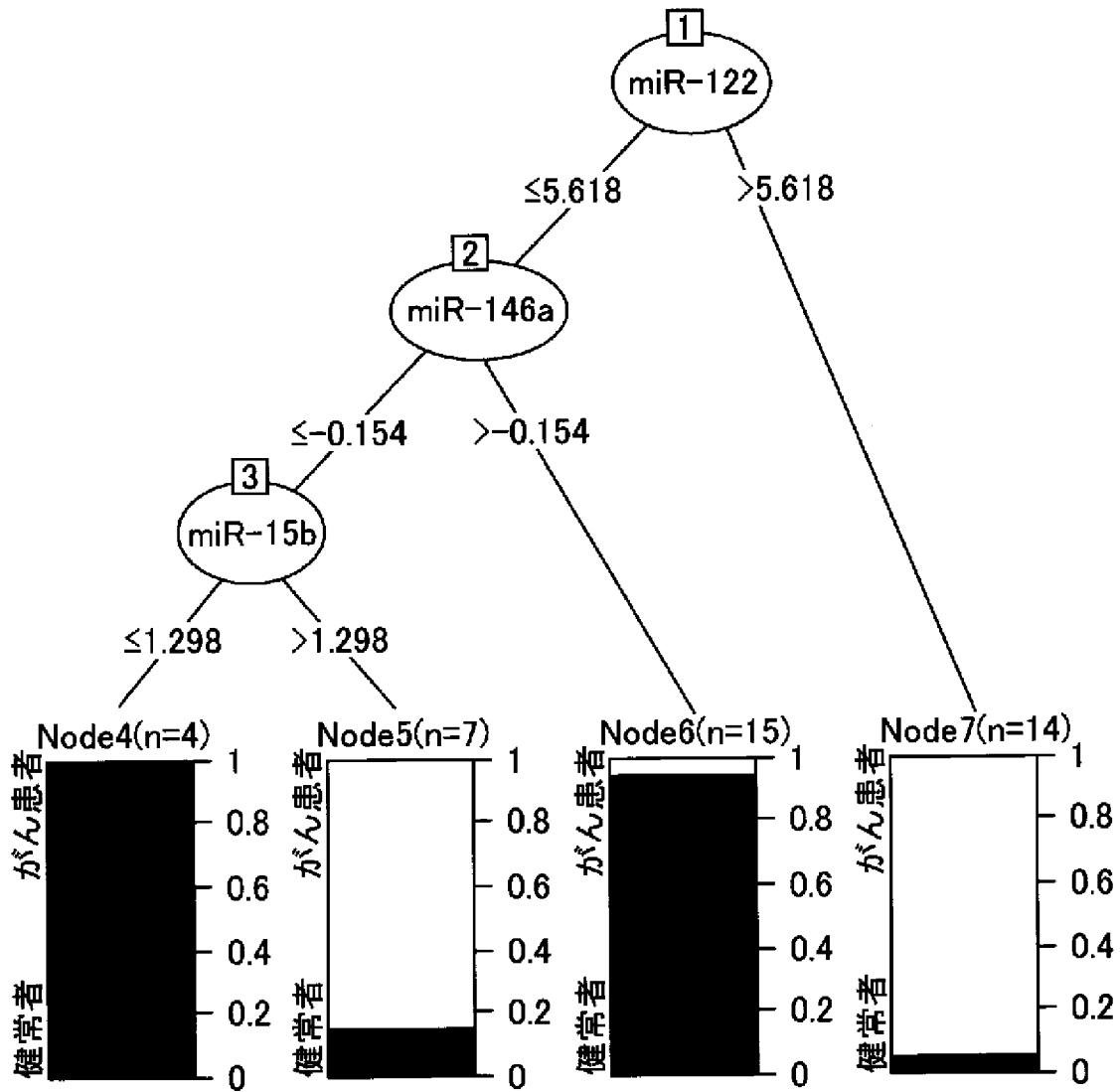
[図7K]



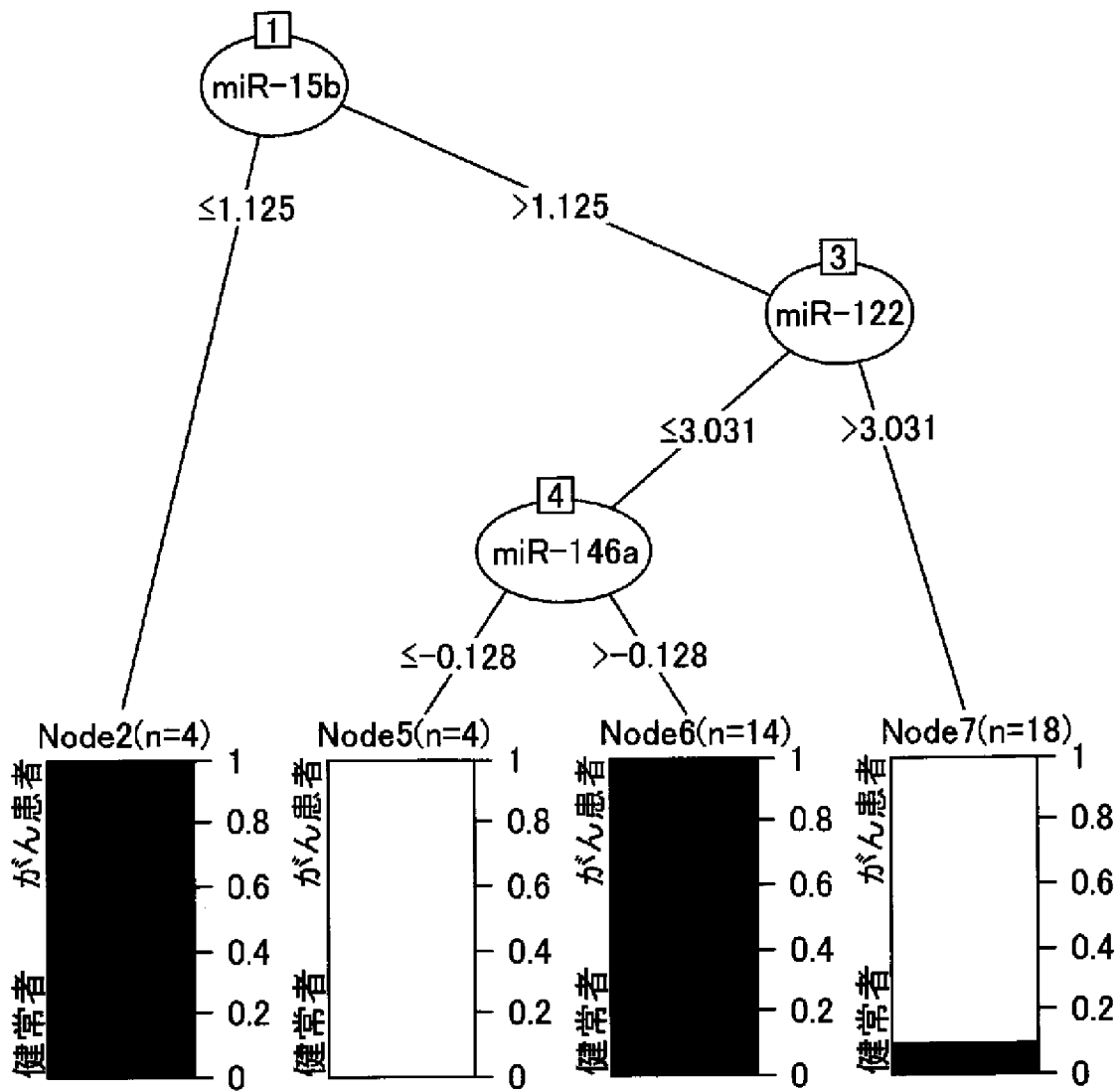
[図7L]



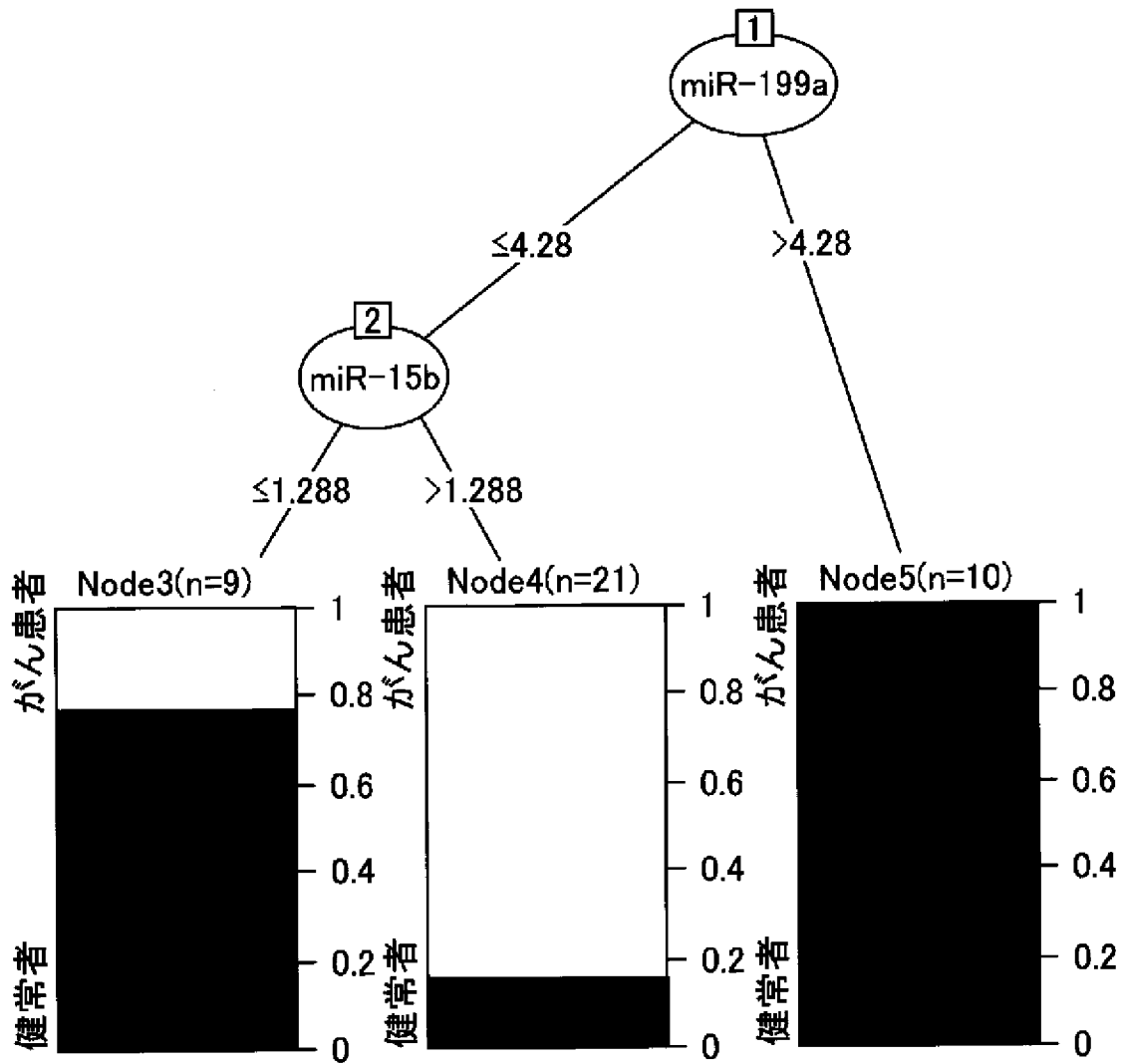
[図7M]



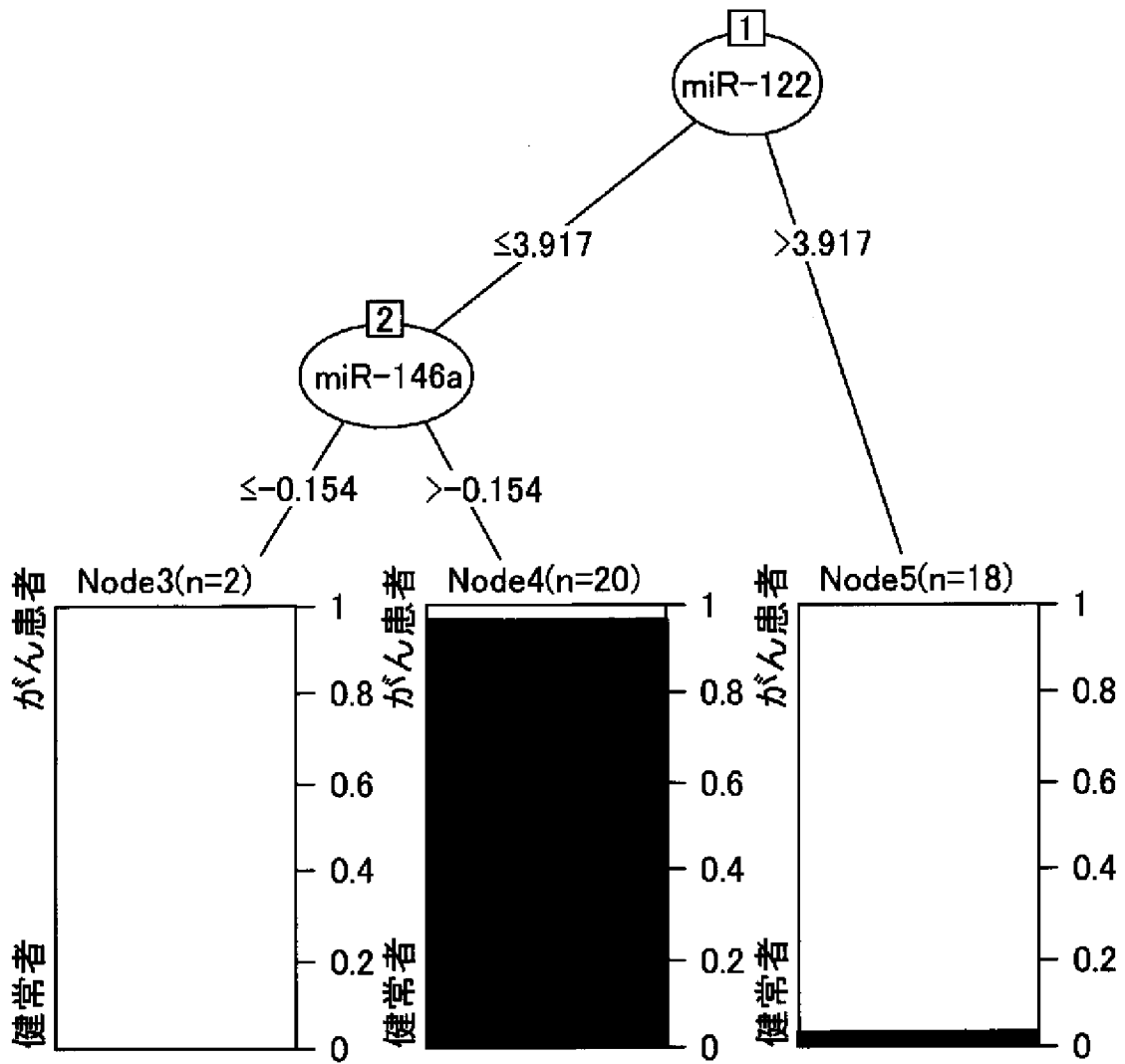
[図7N]



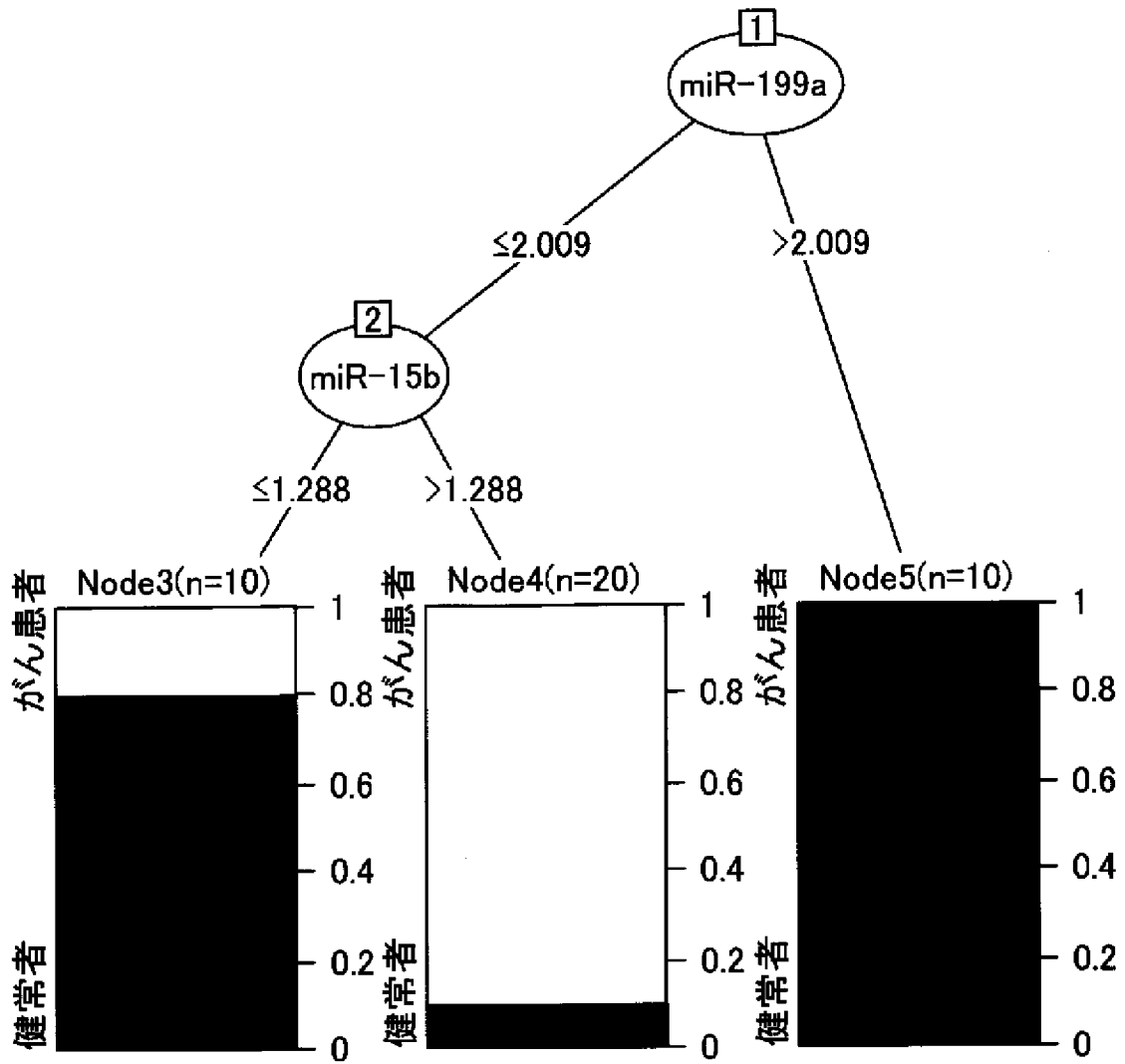
[図70]



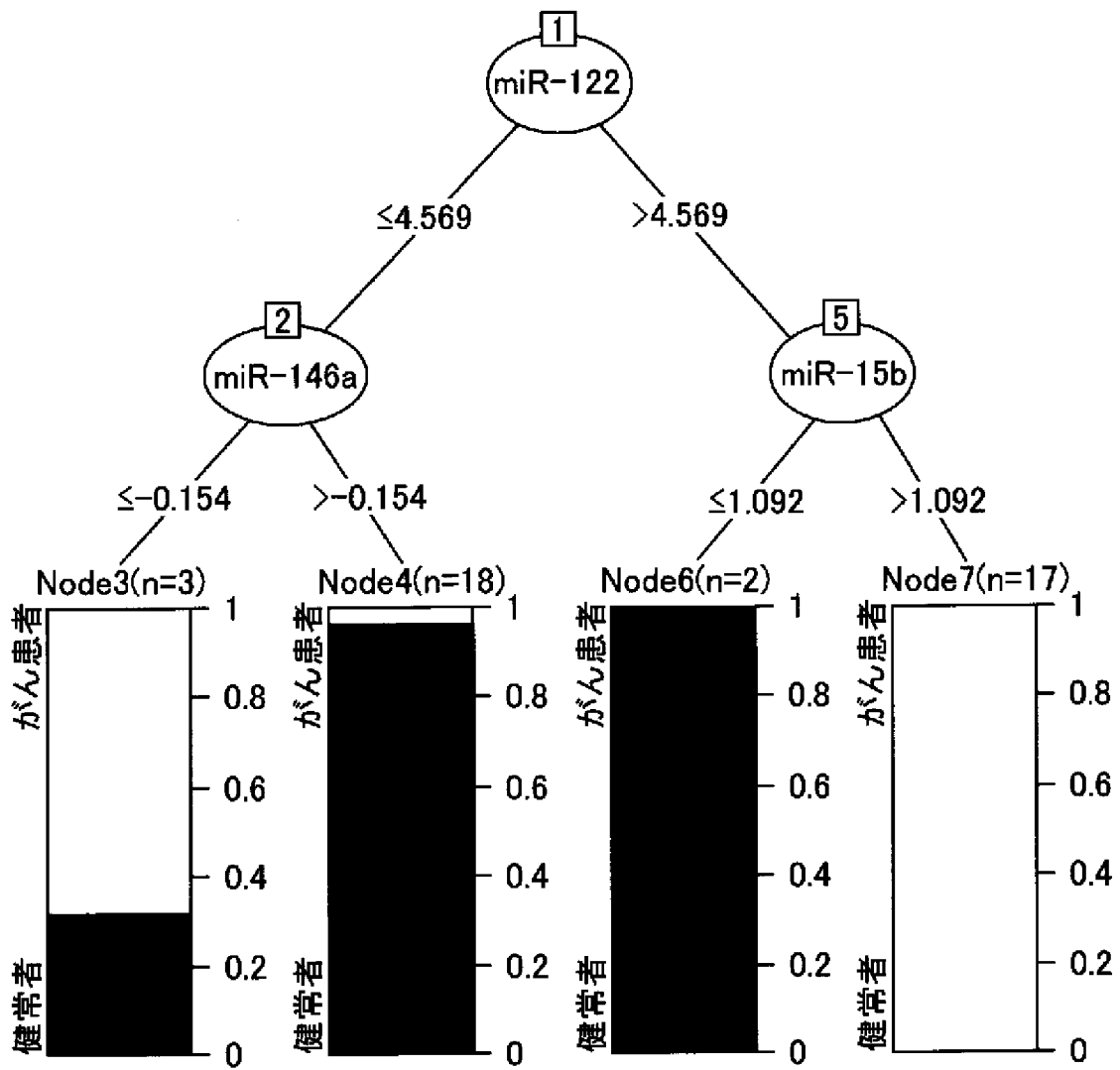
[図7P]



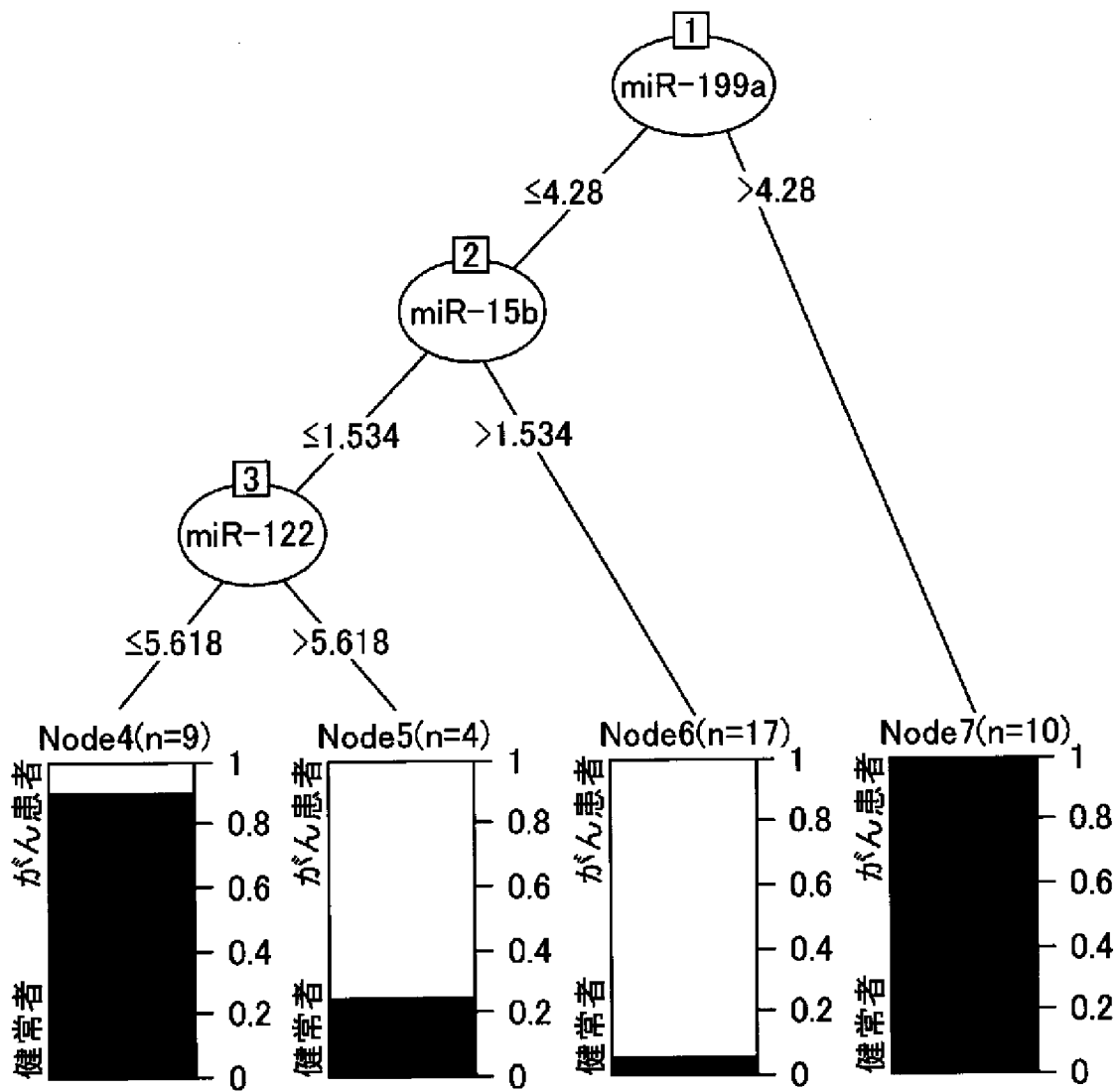
[図7Q]



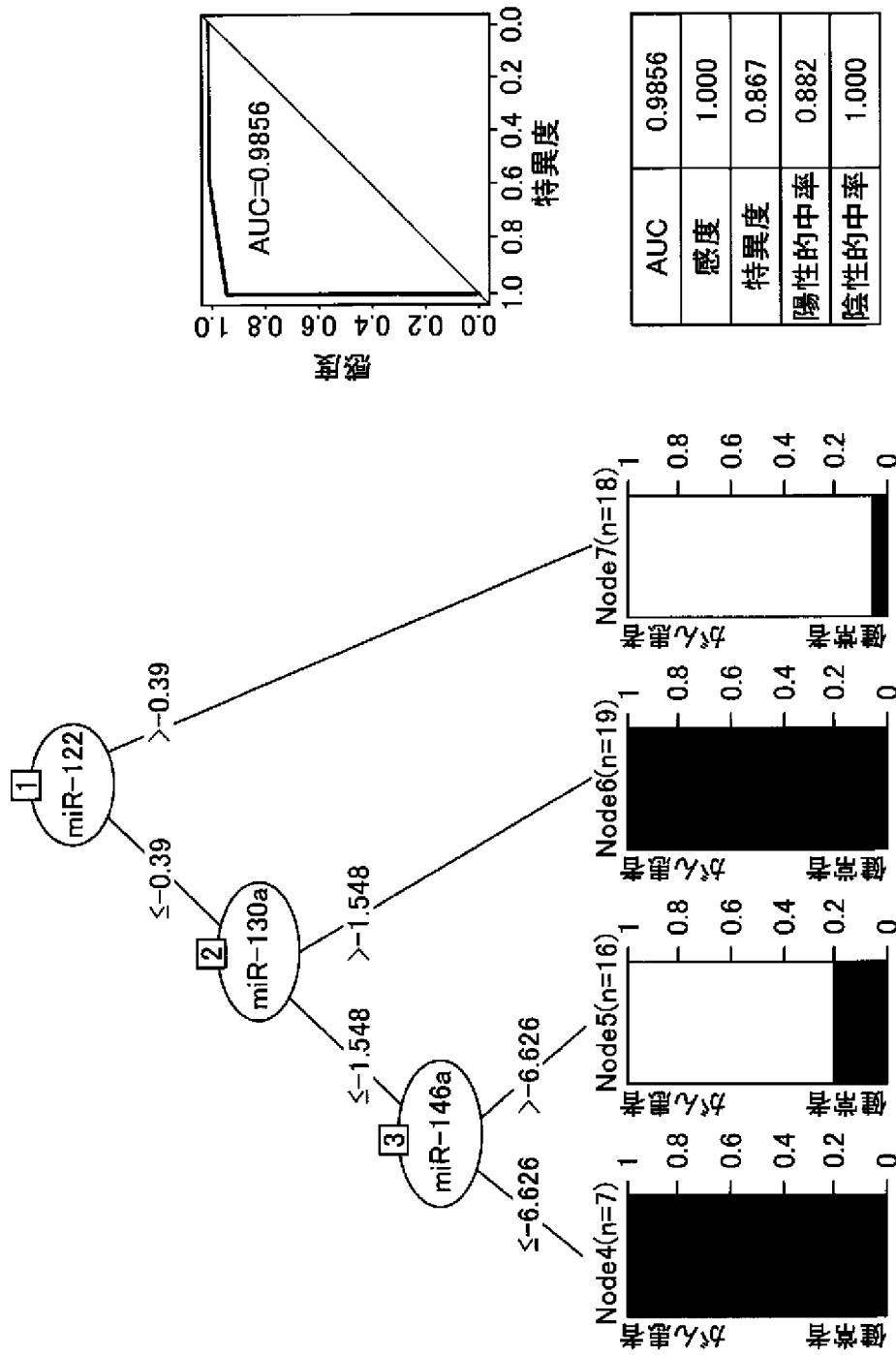
[図7R]



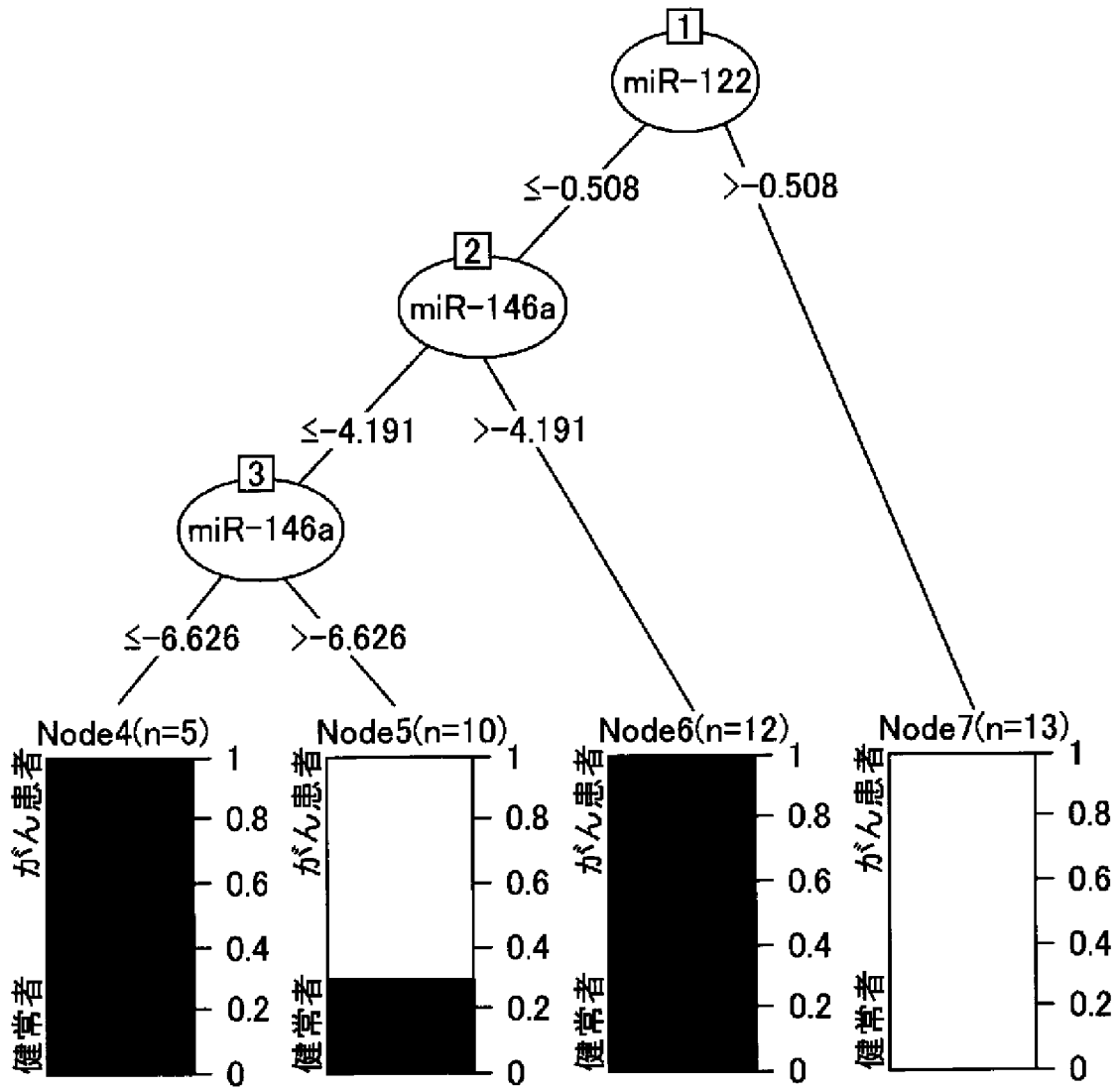
[図7S]



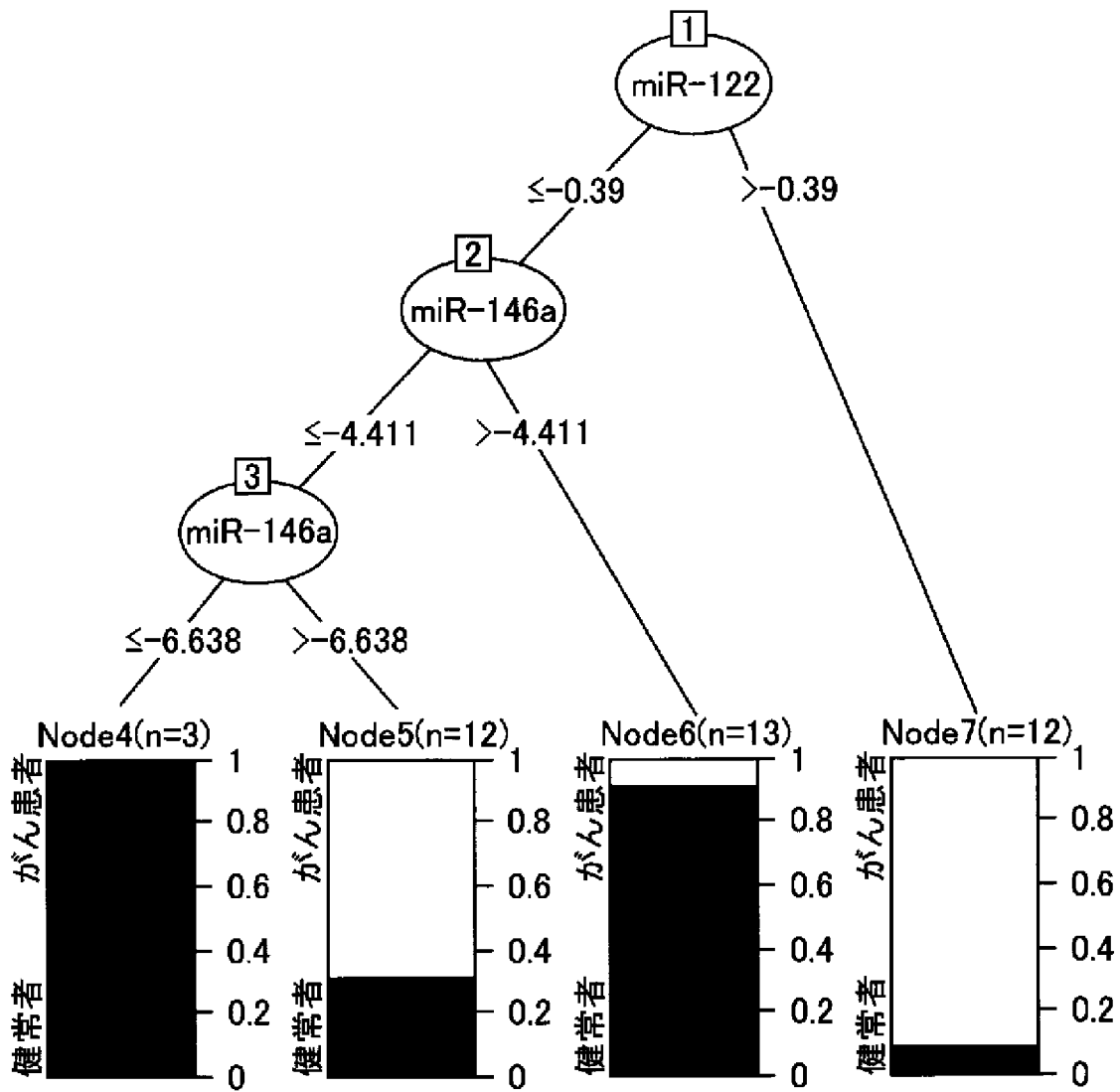
[図8A]



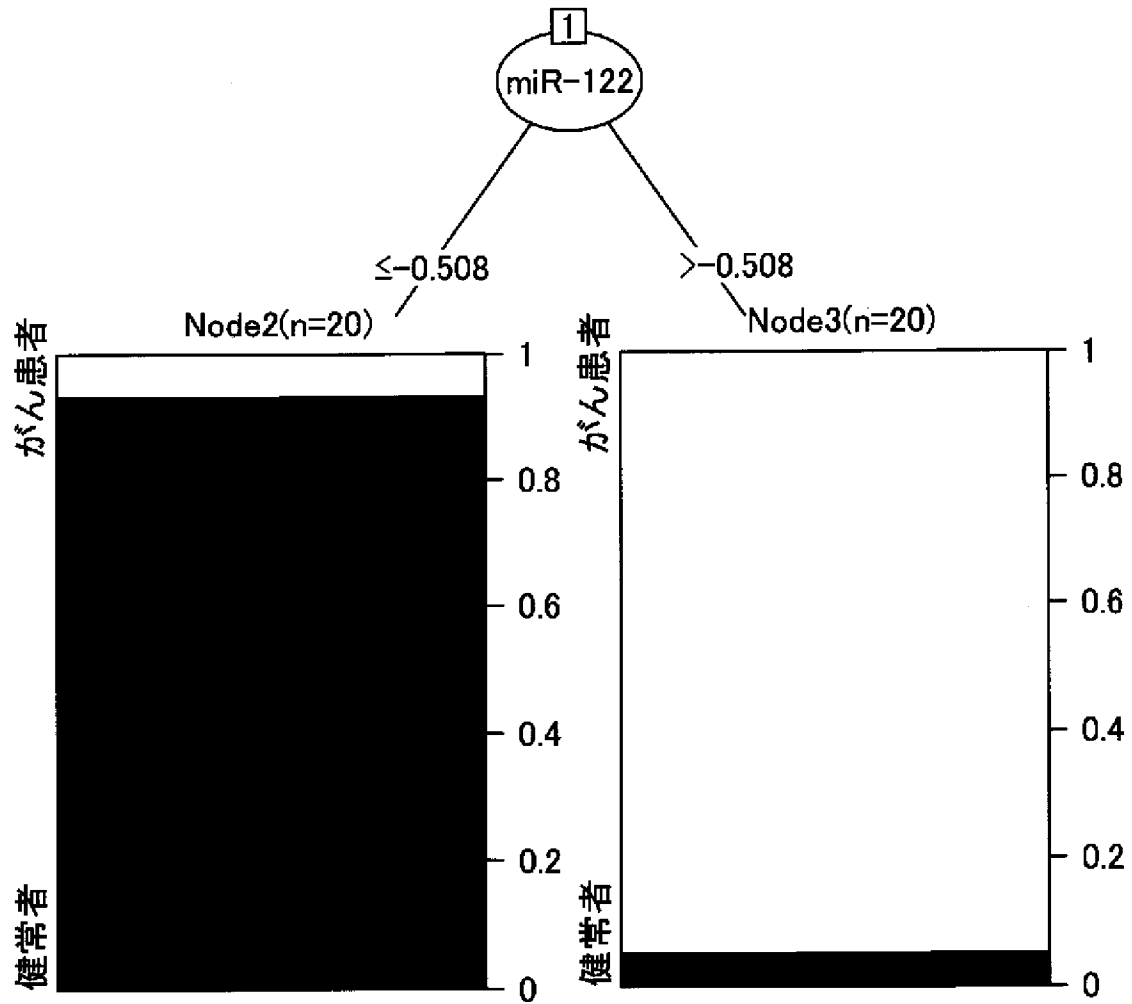
[図8B]



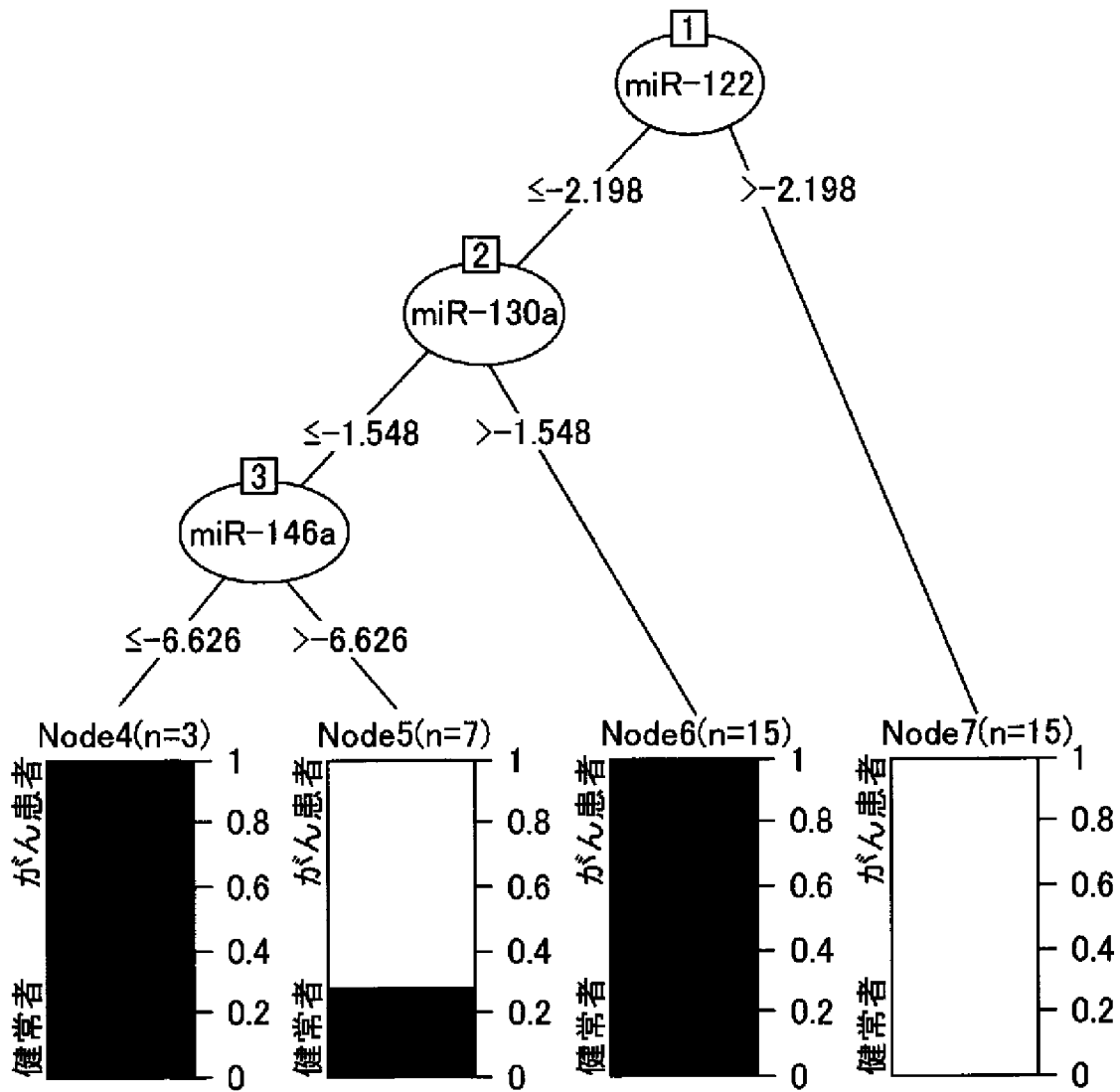
[図8C]



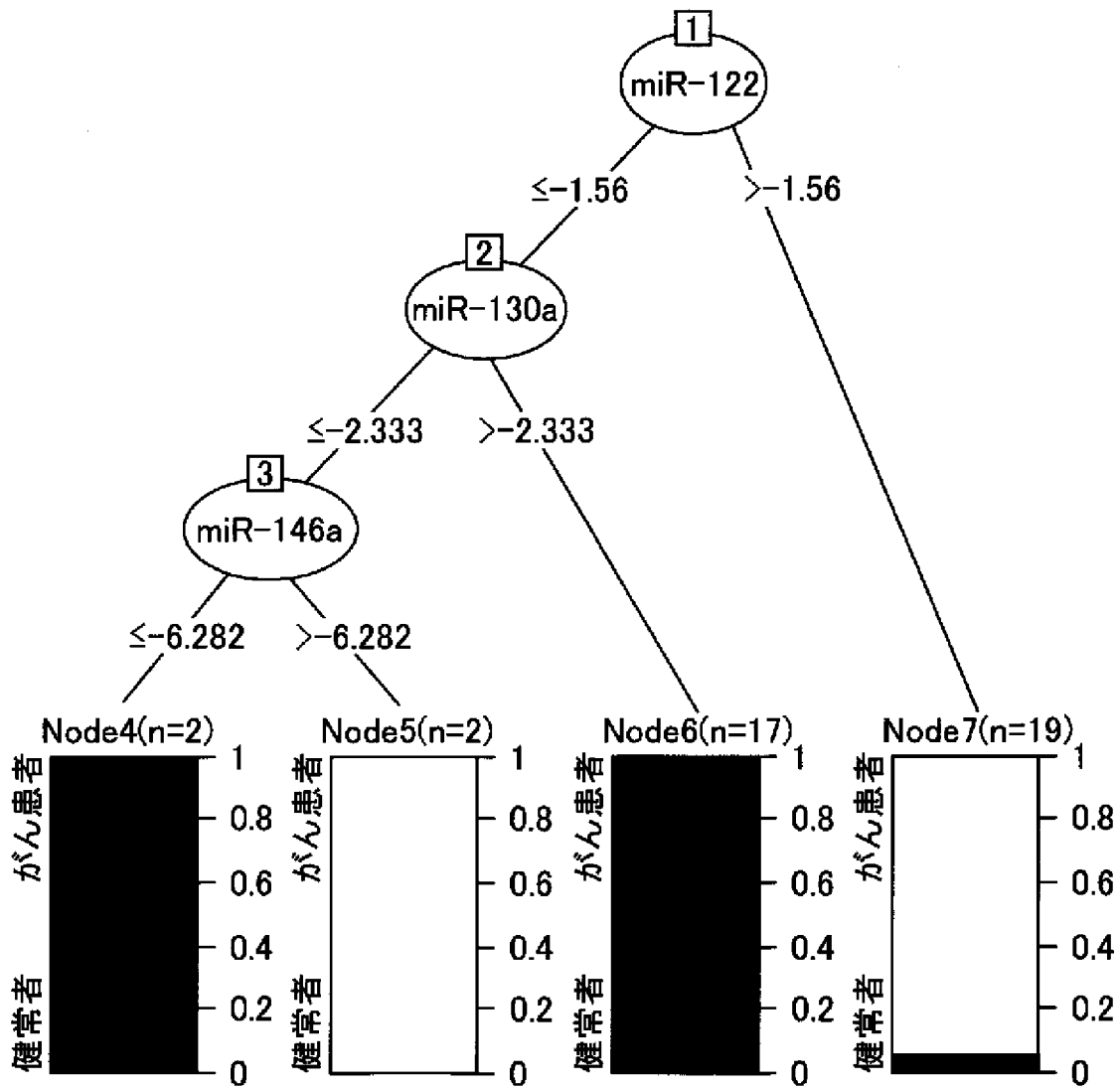
[図8D]



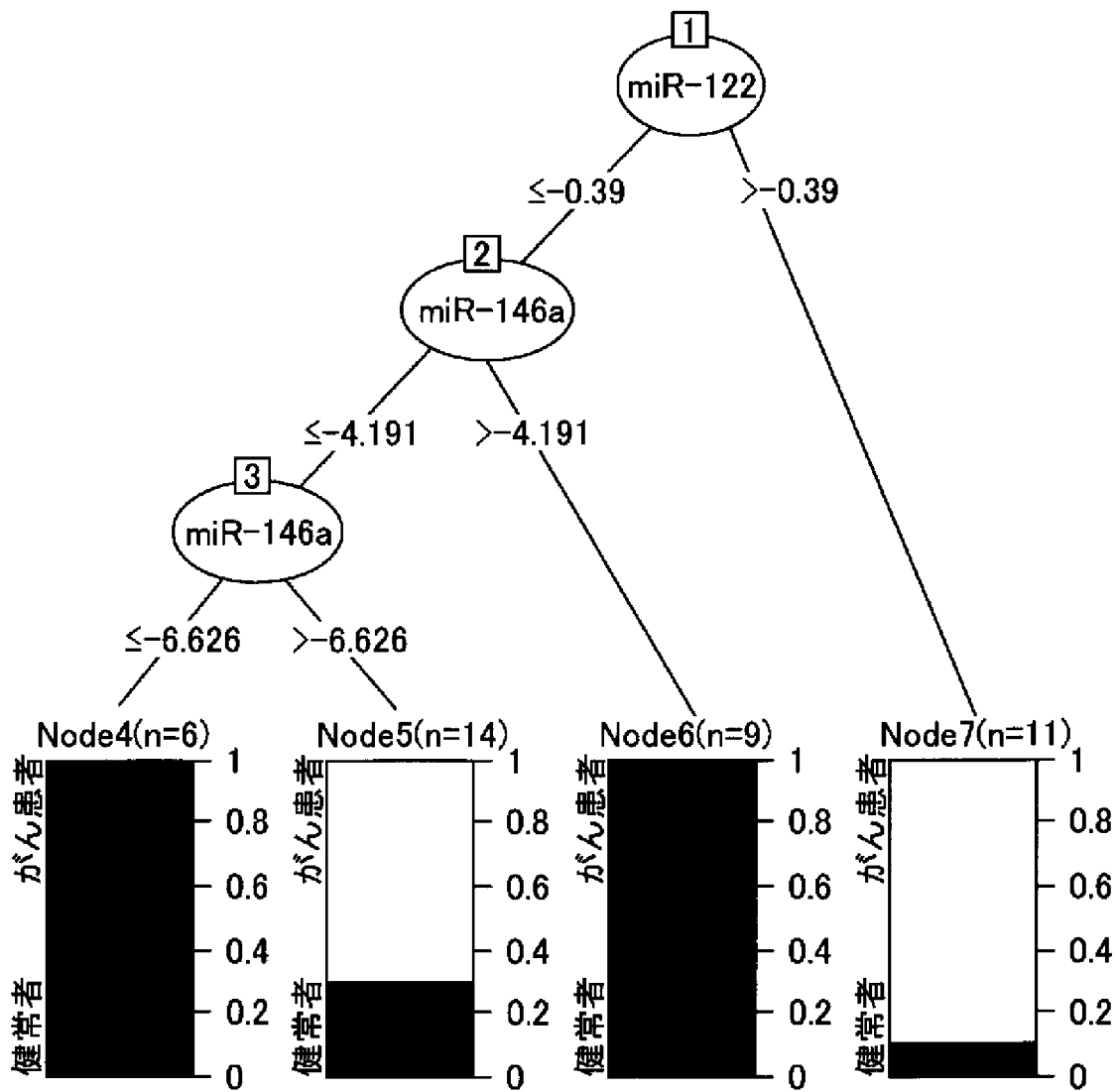
[図8E]



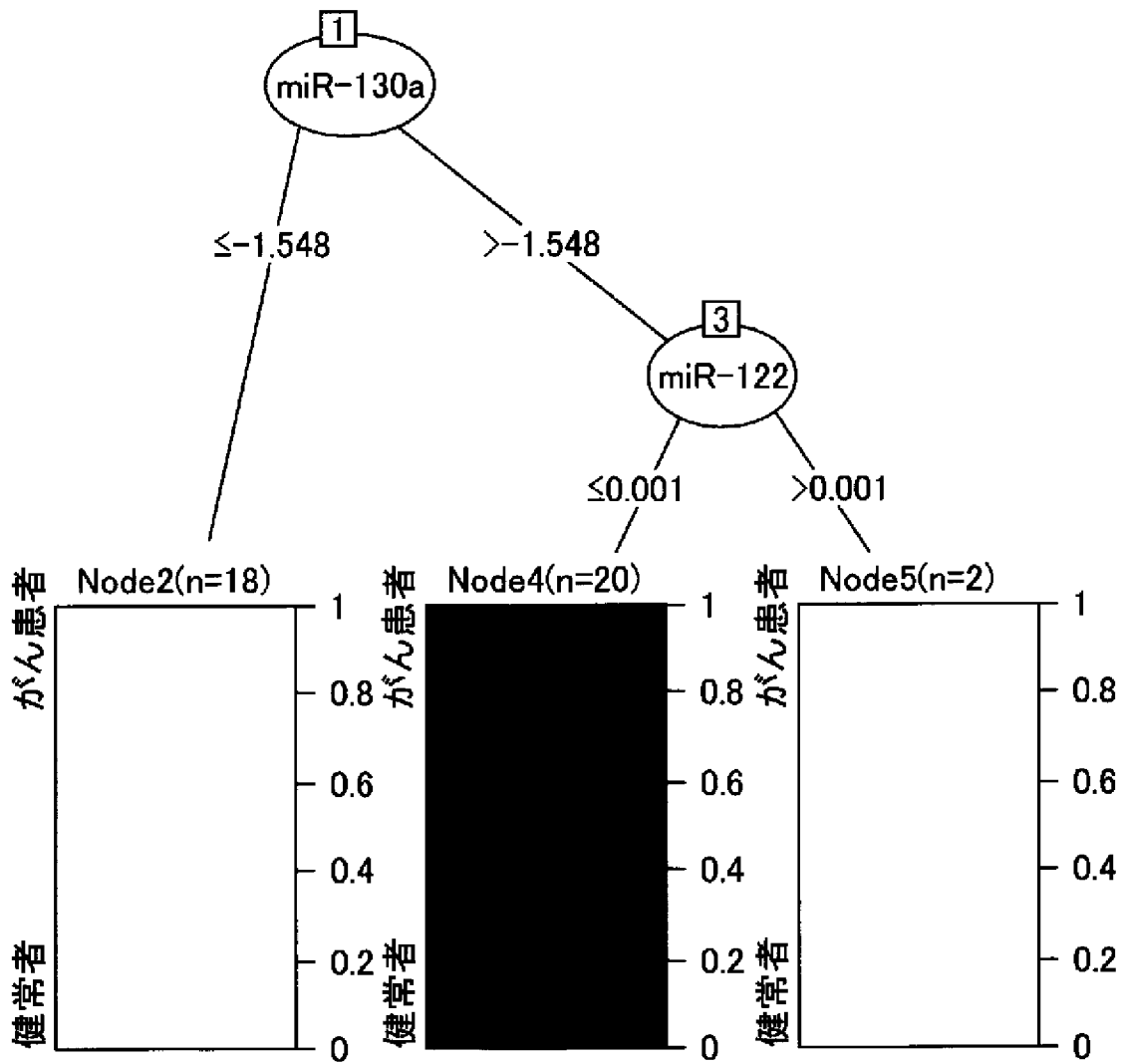
[図8F]



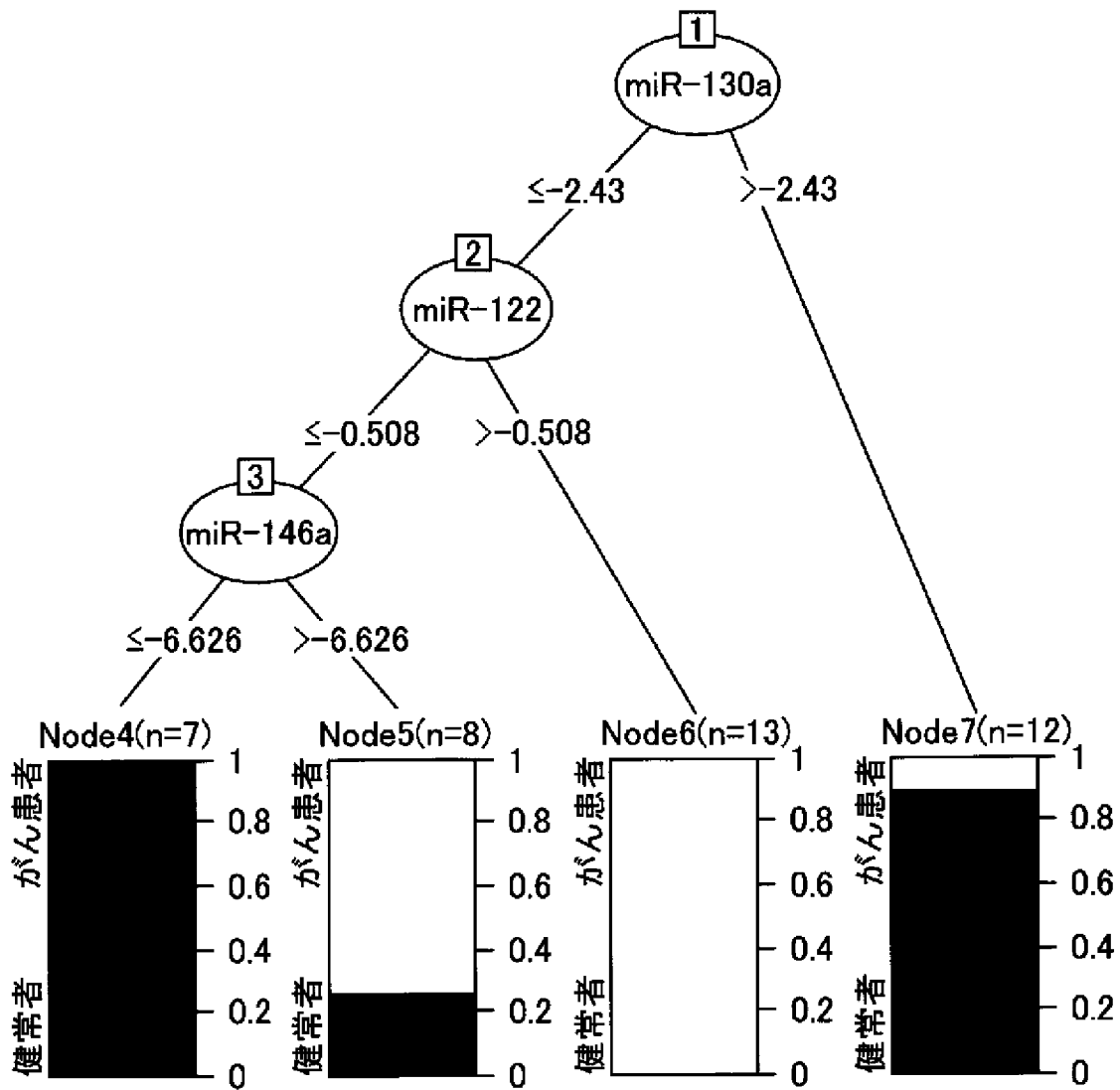
[図8G]



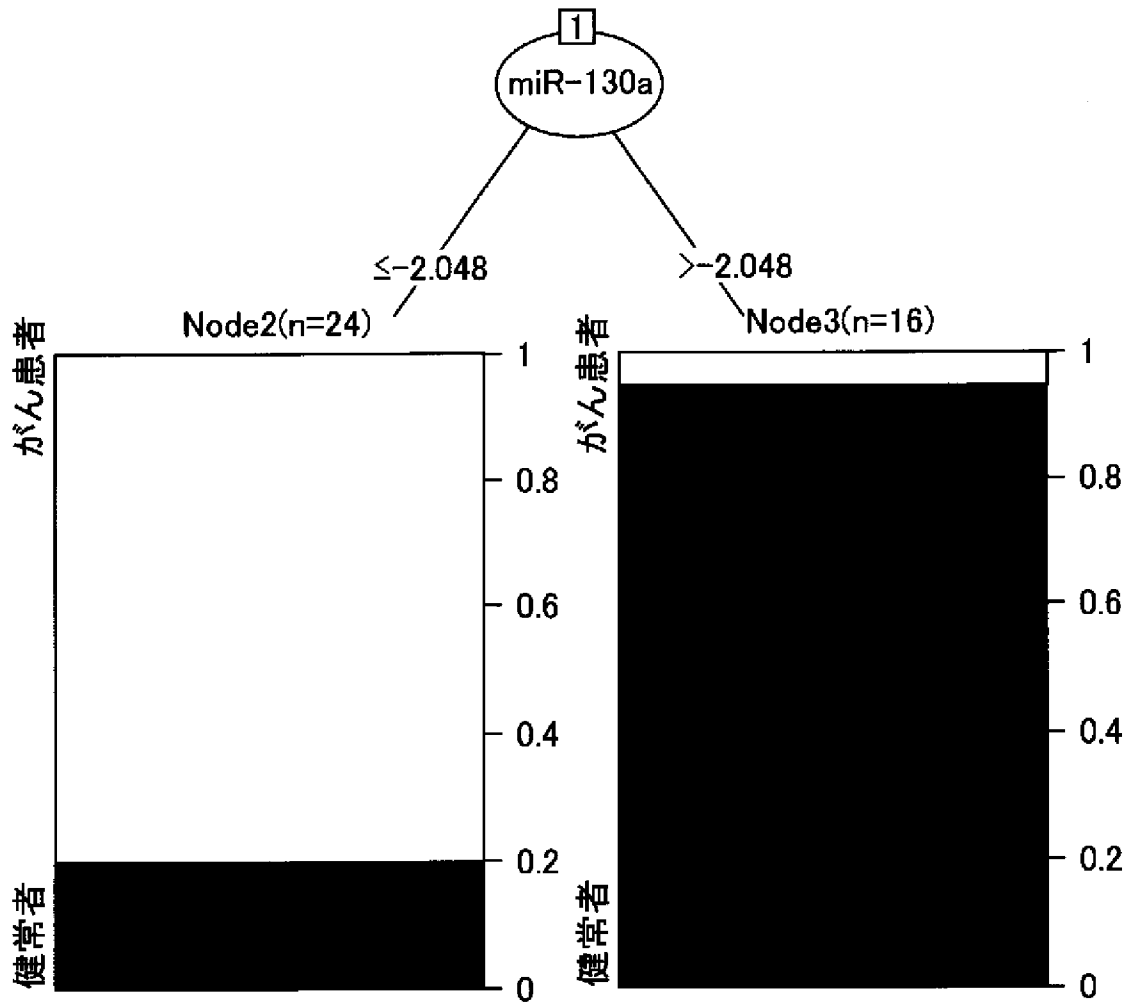
[図8H]



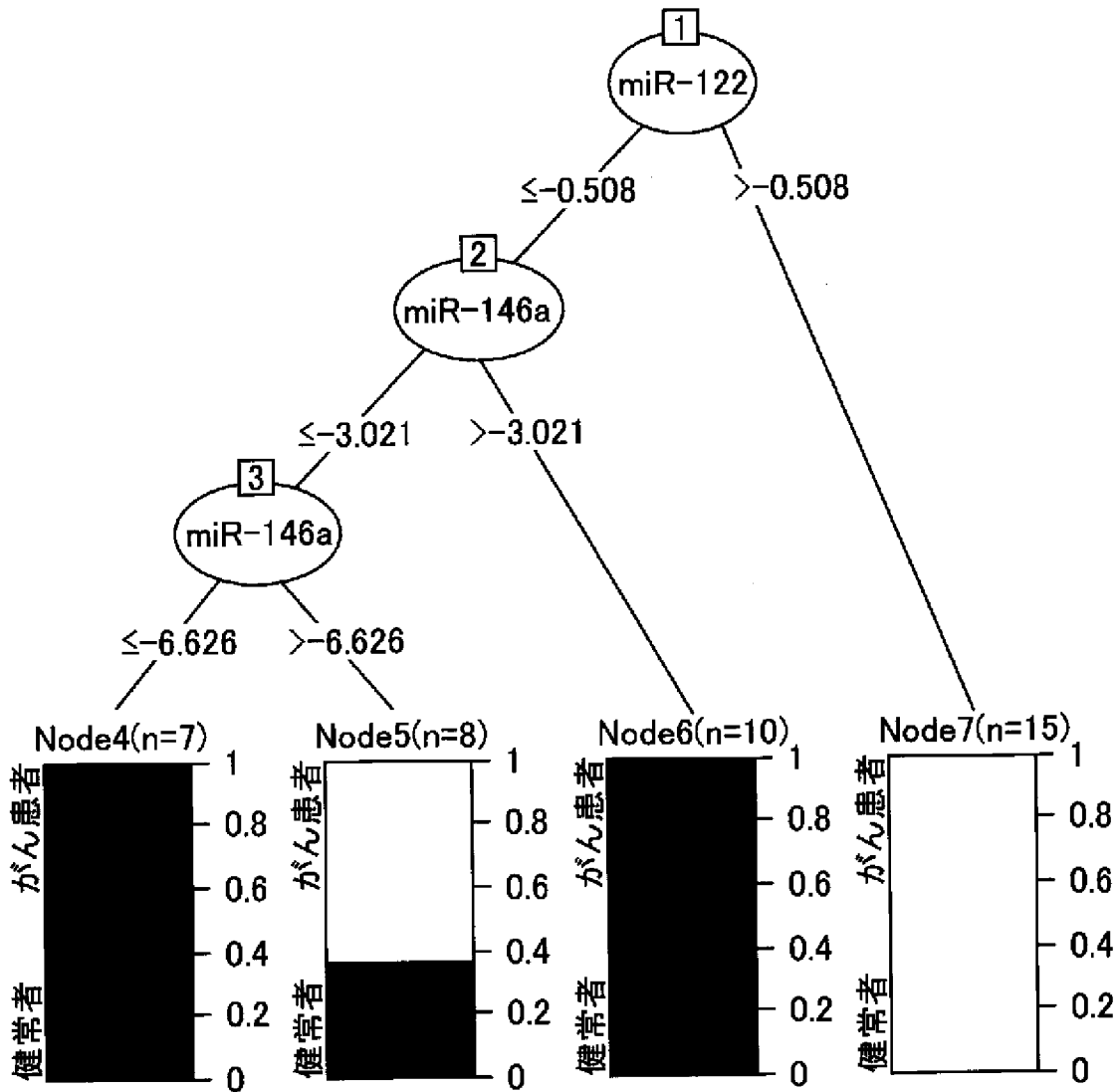
[図8I]



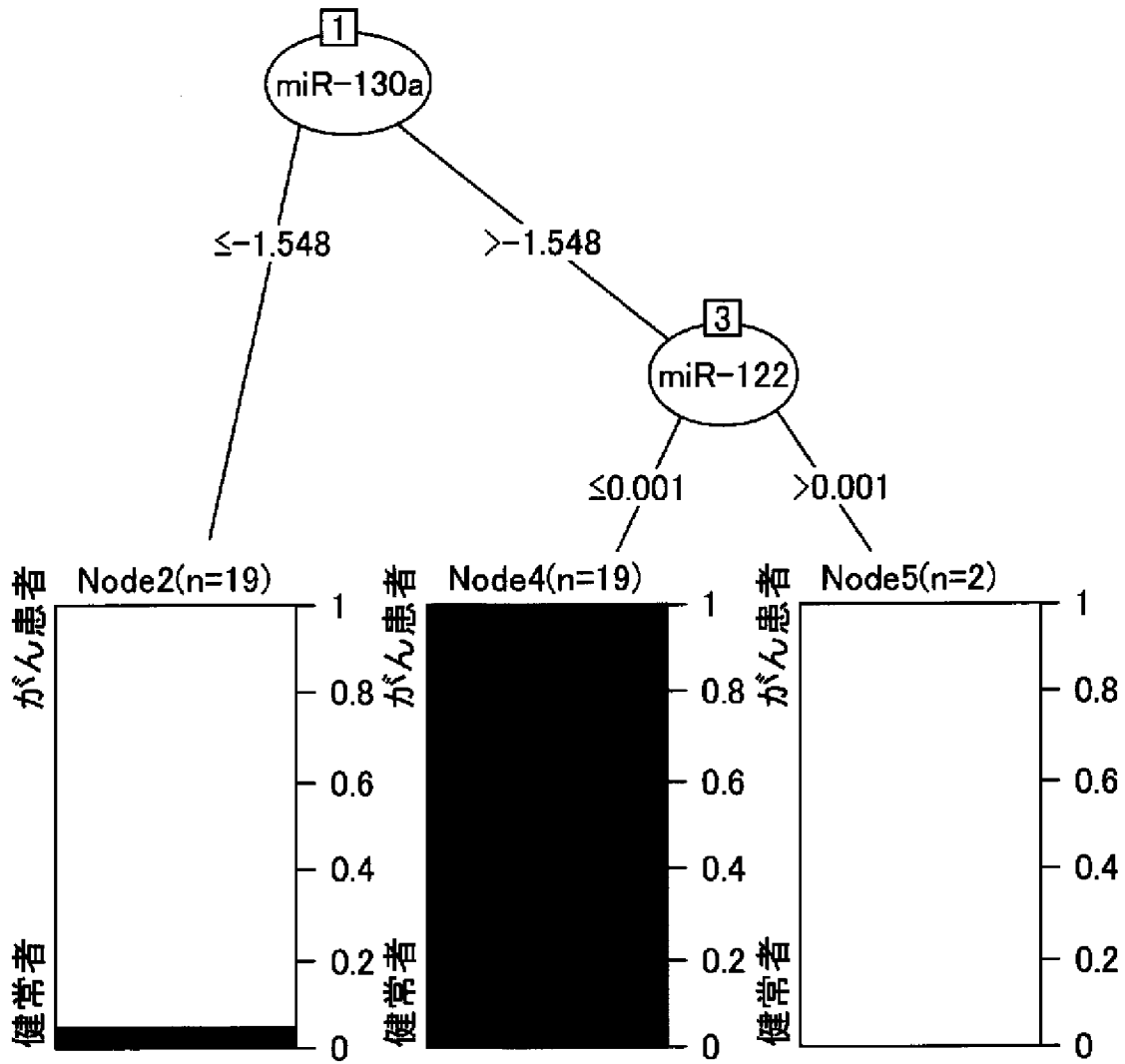
[図8J]



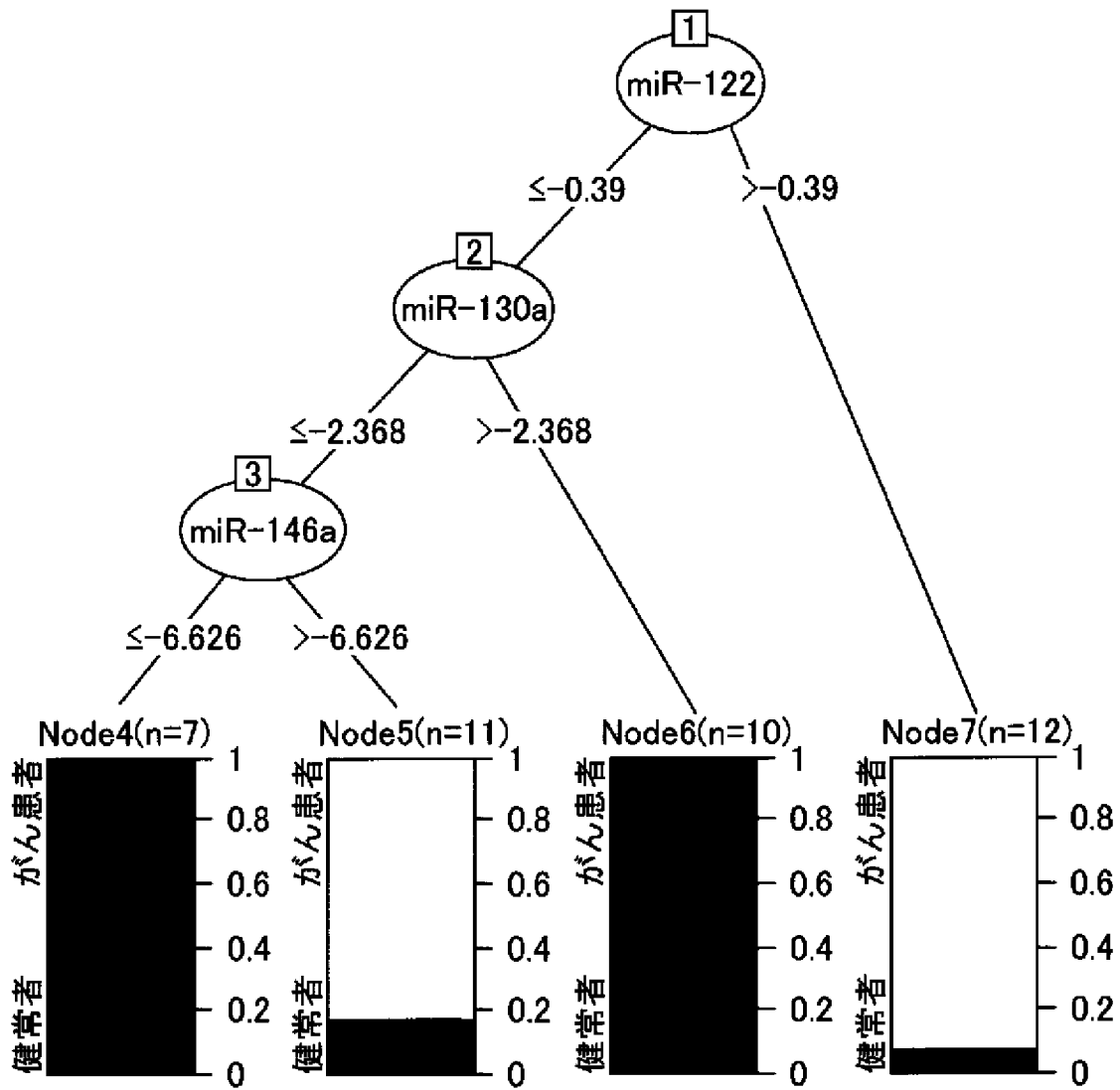
[図8K]



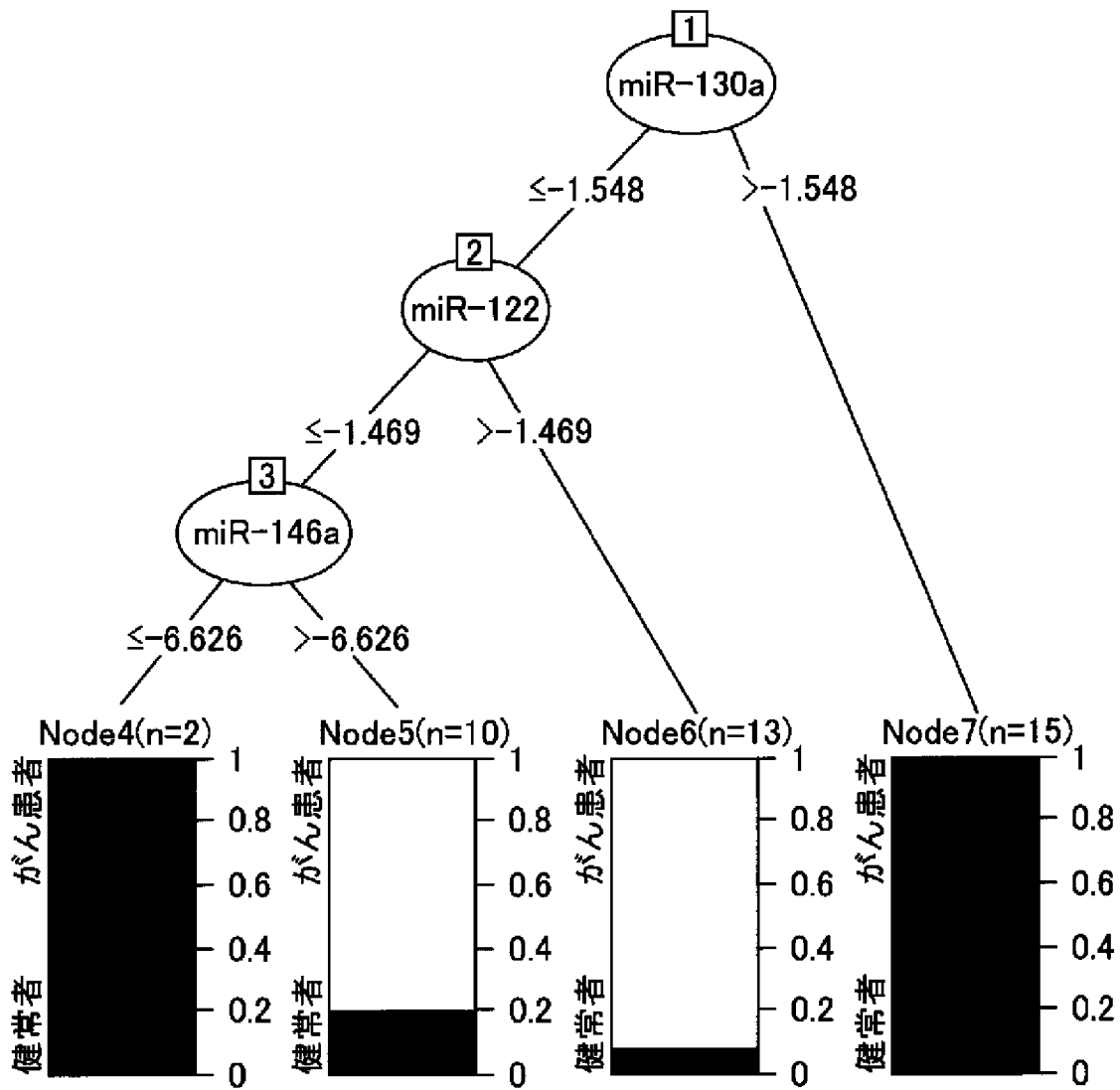
[図8L]



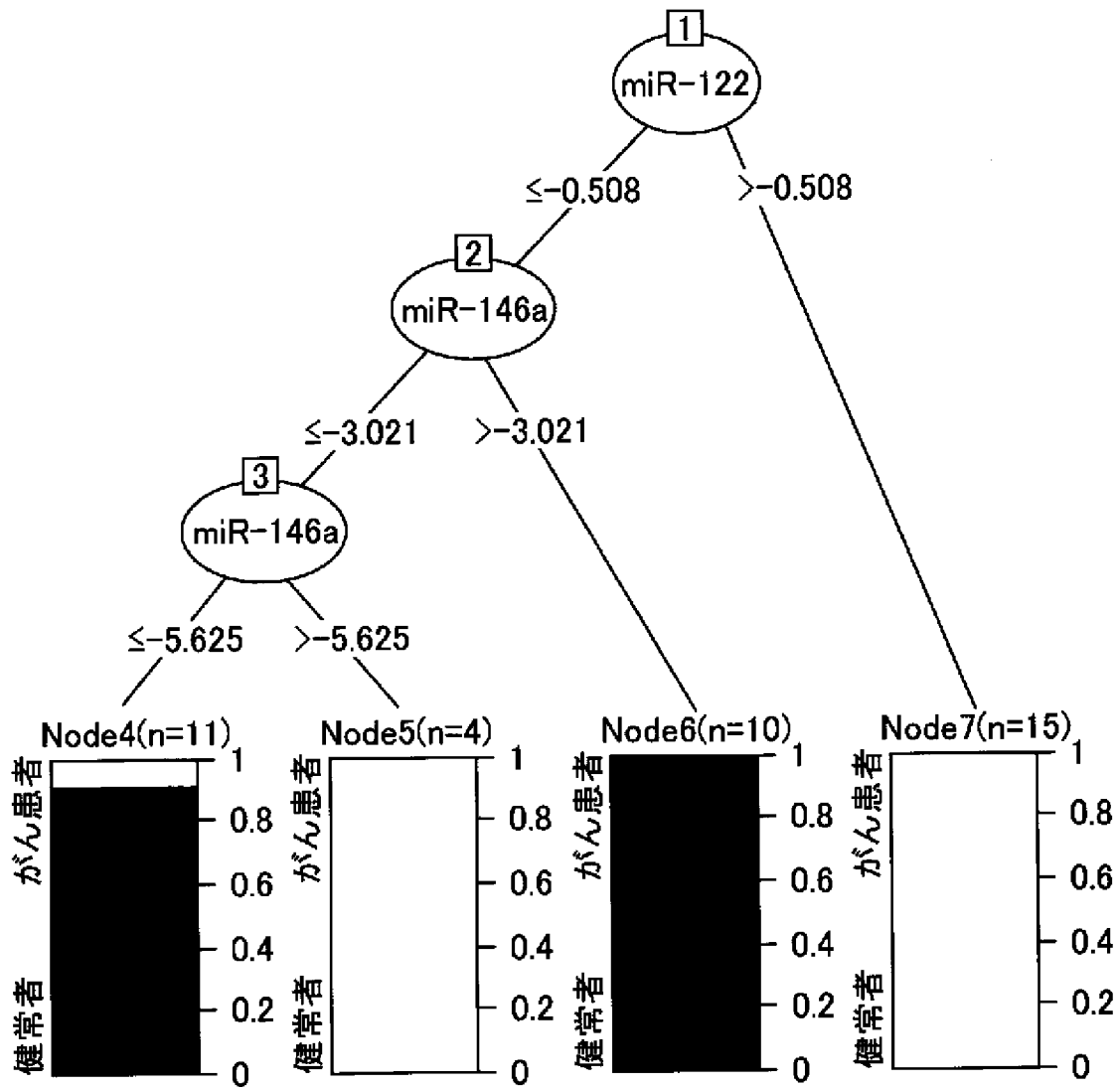
[図8M]



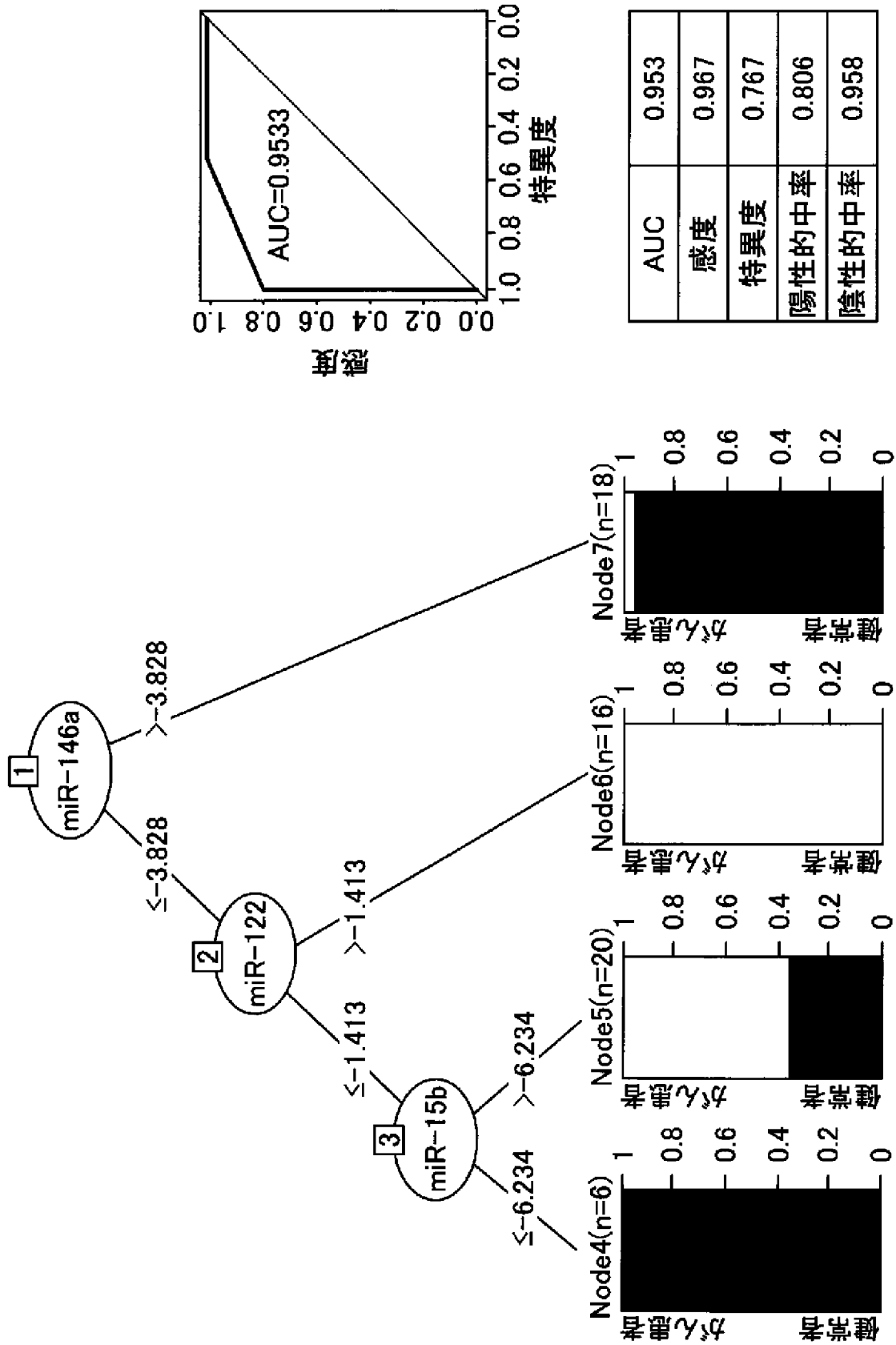
[図8N]



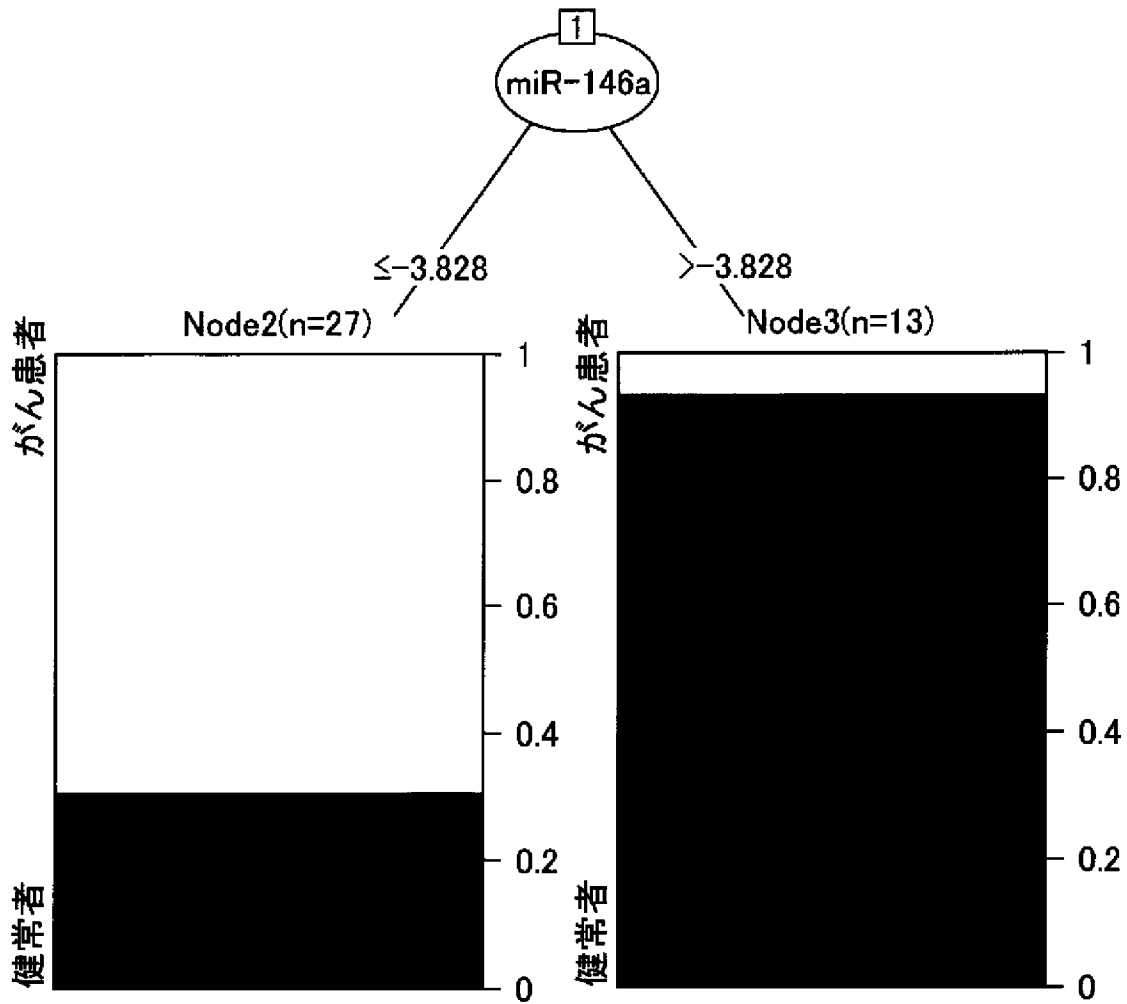
[図80]



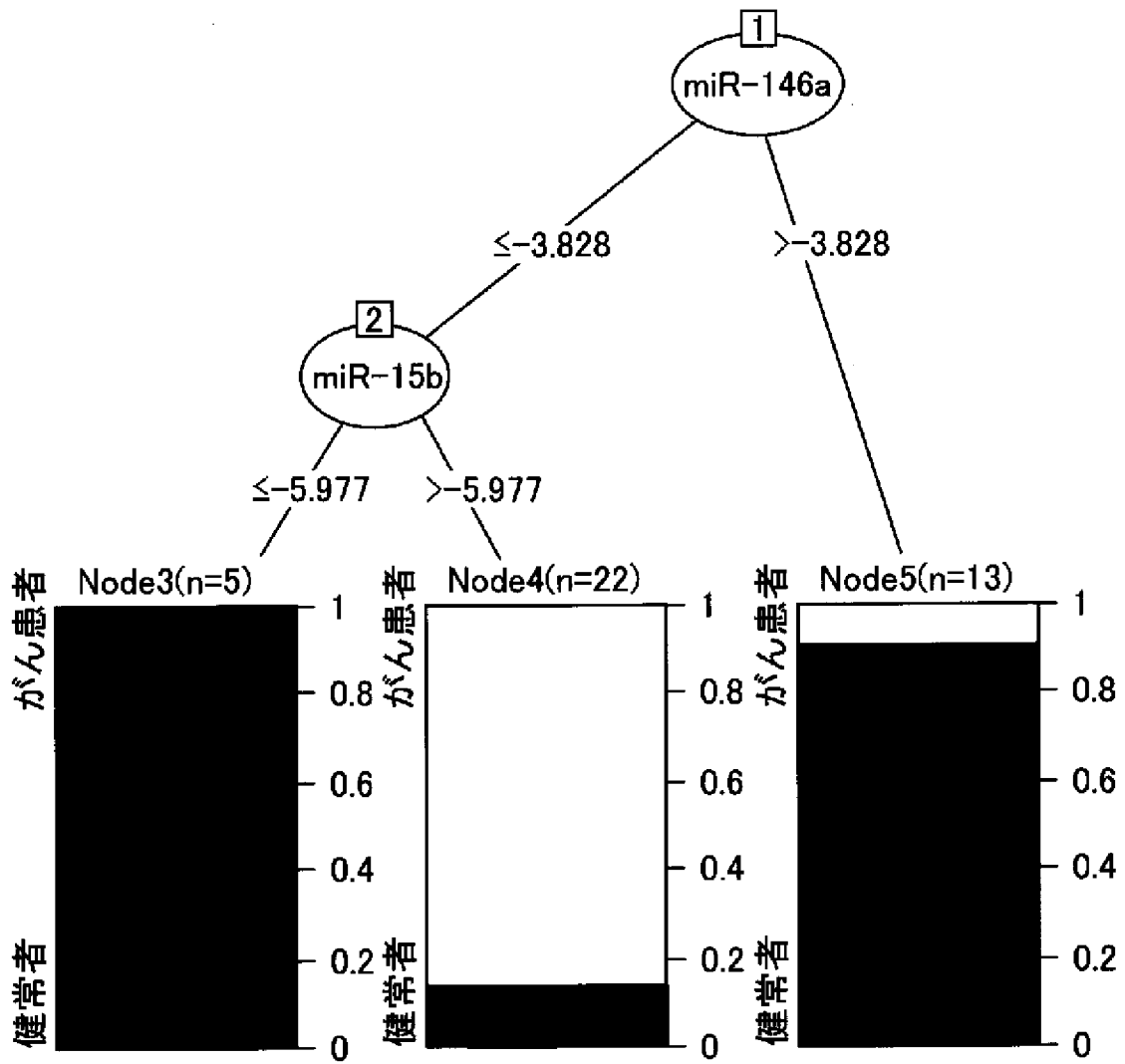
[図9A]



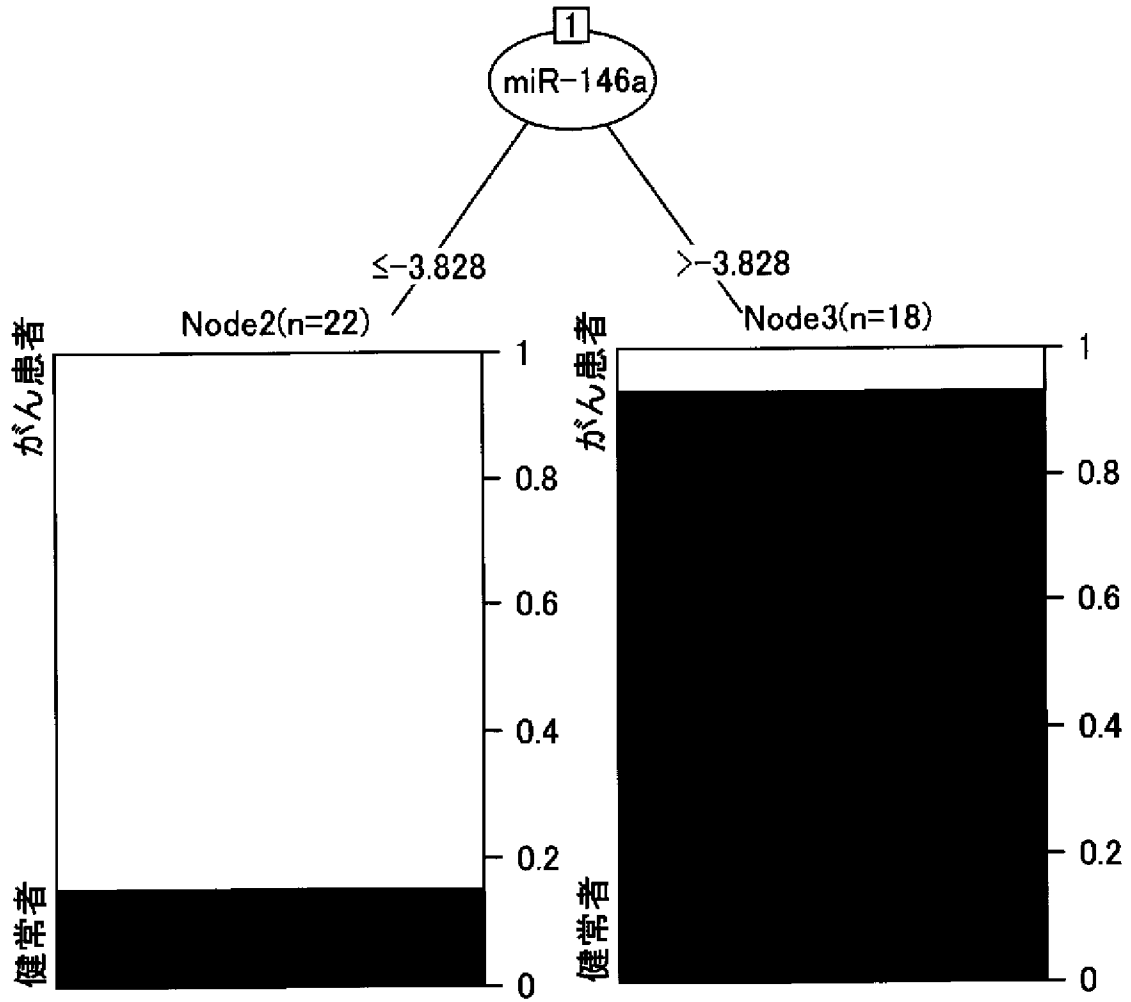
[図9B]



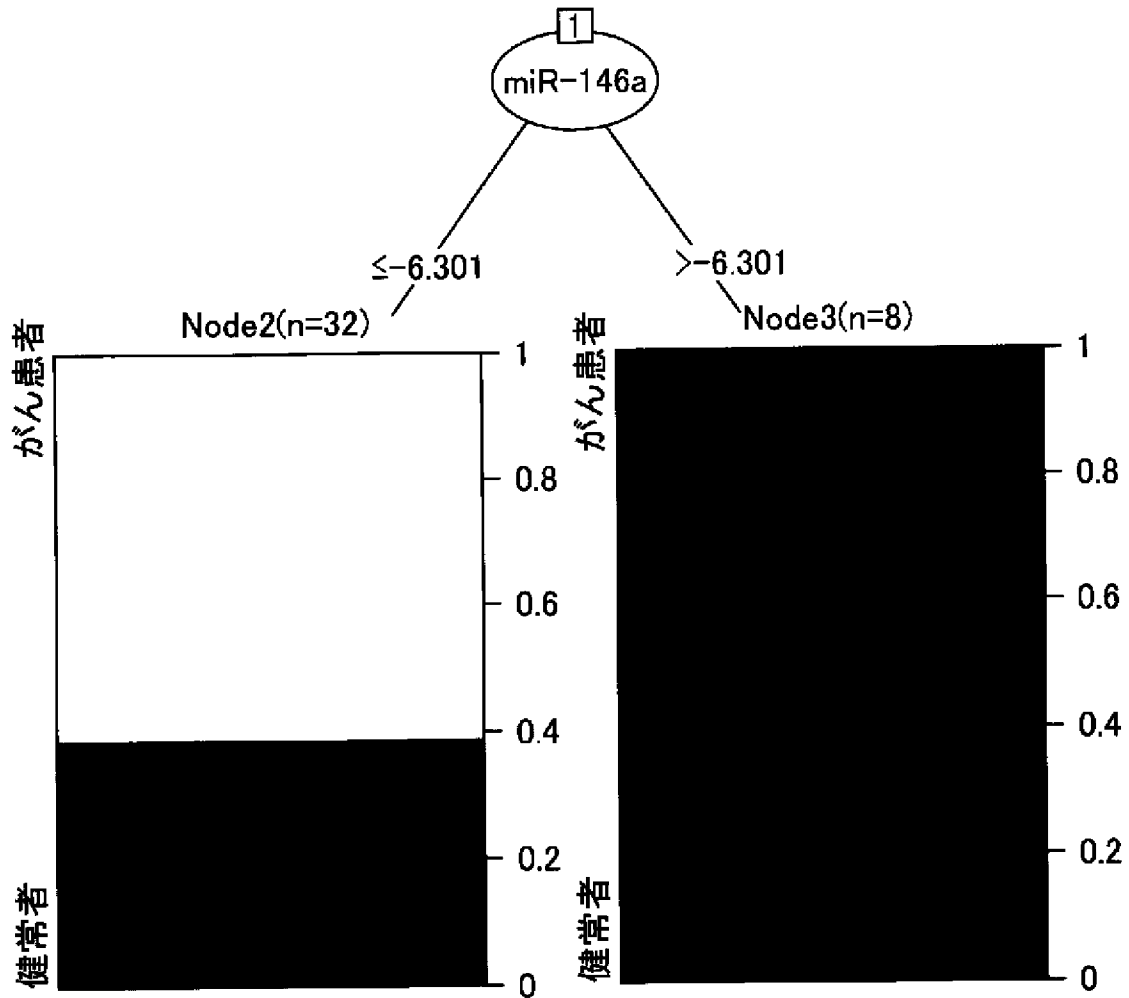
[図9C]



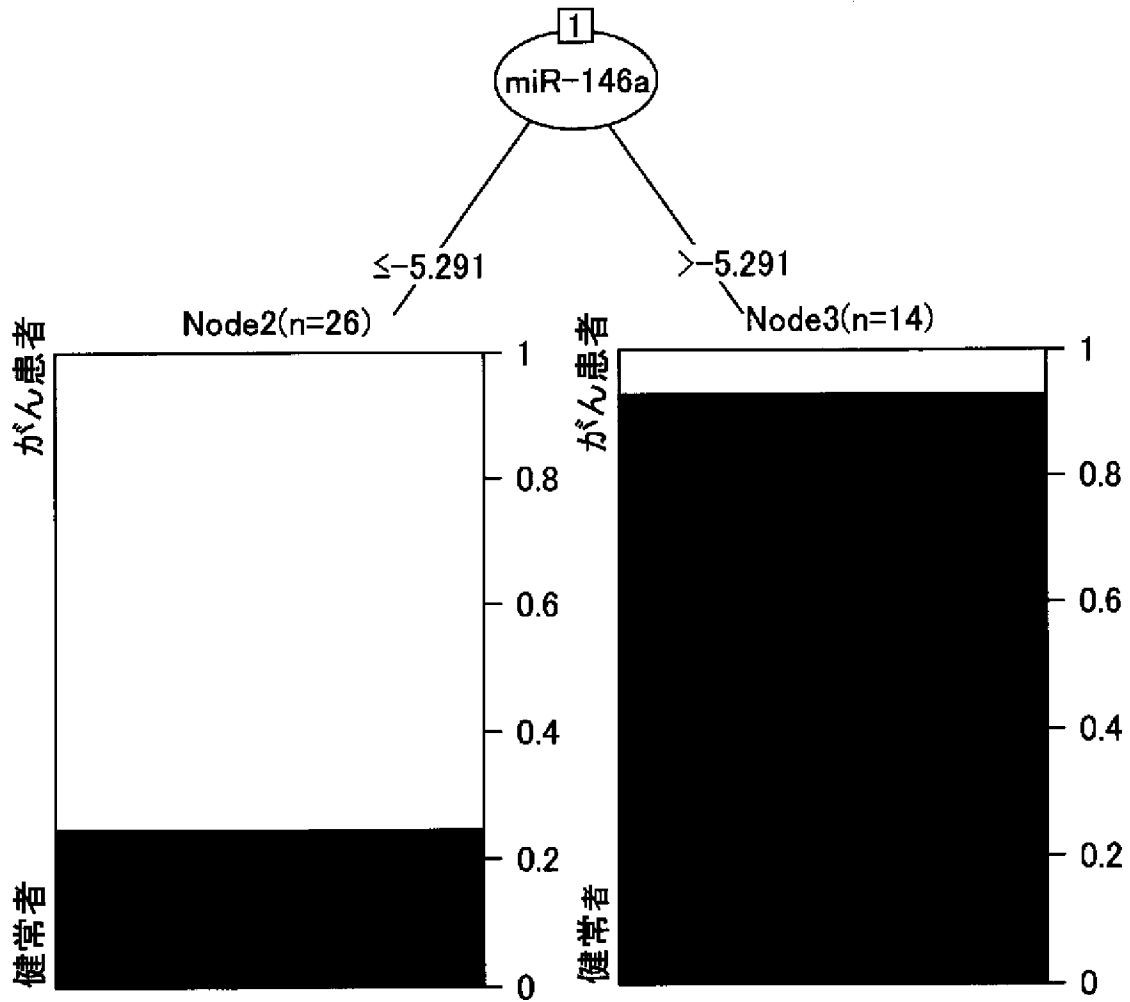
[図9D]



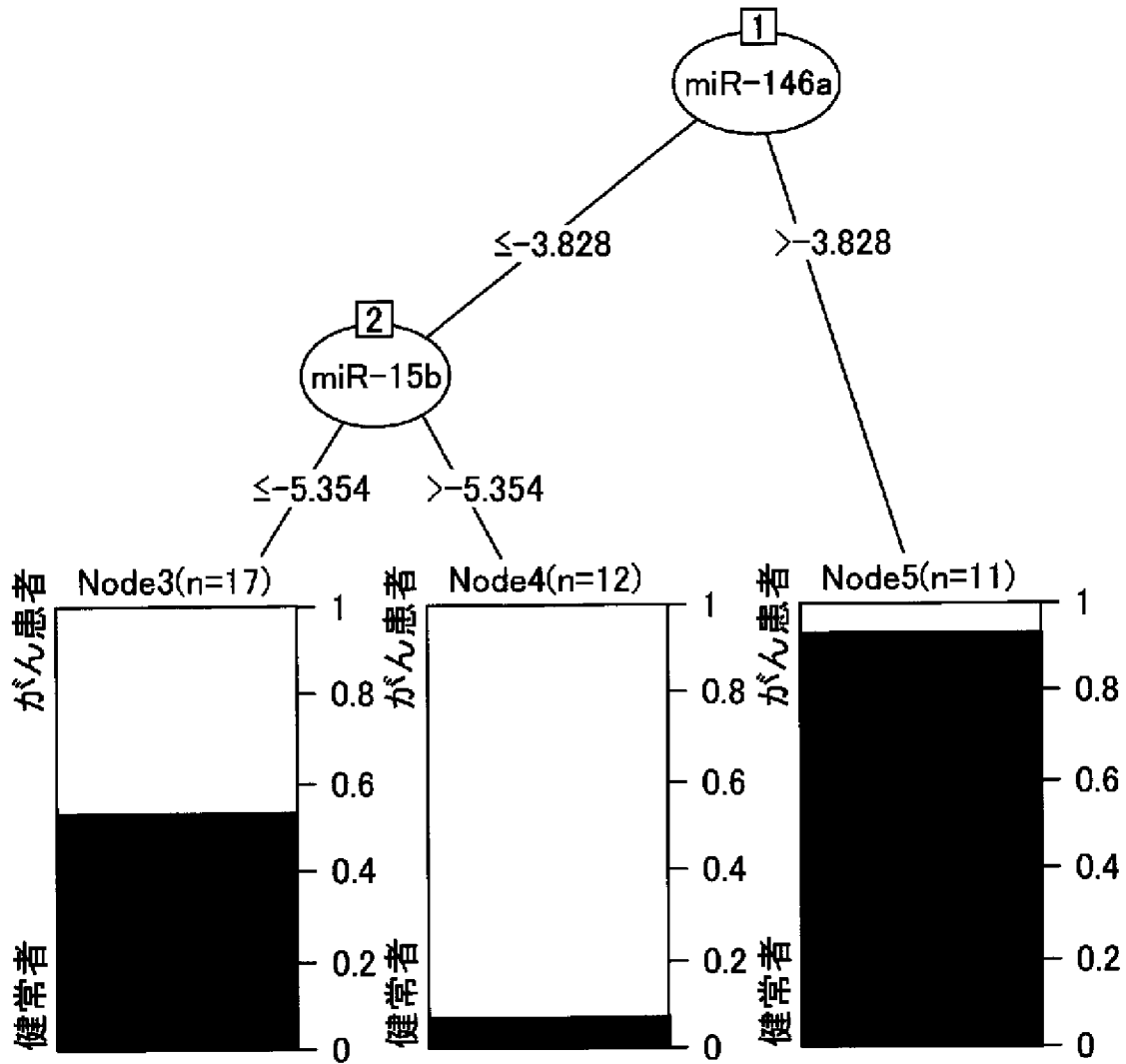
[図9E]



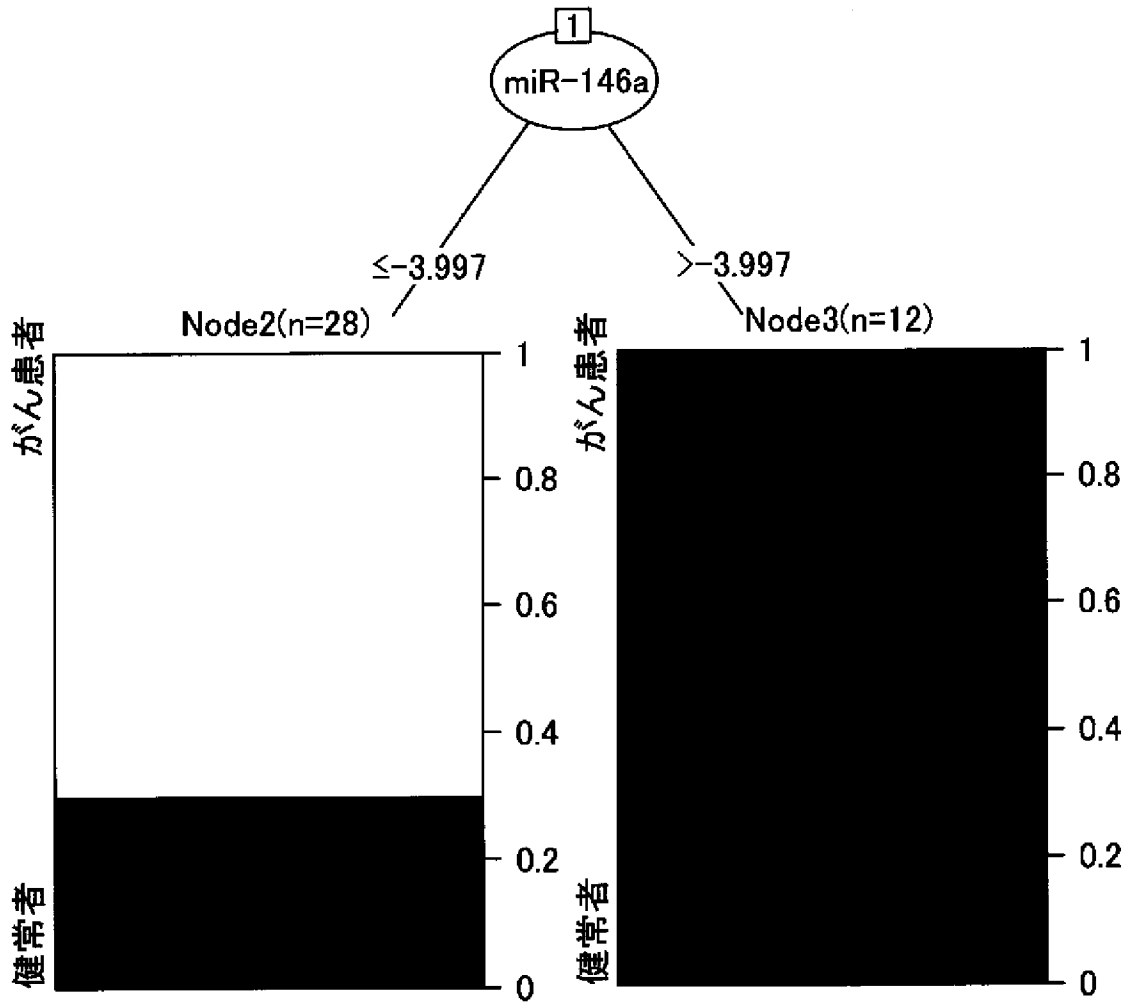
[図9F]



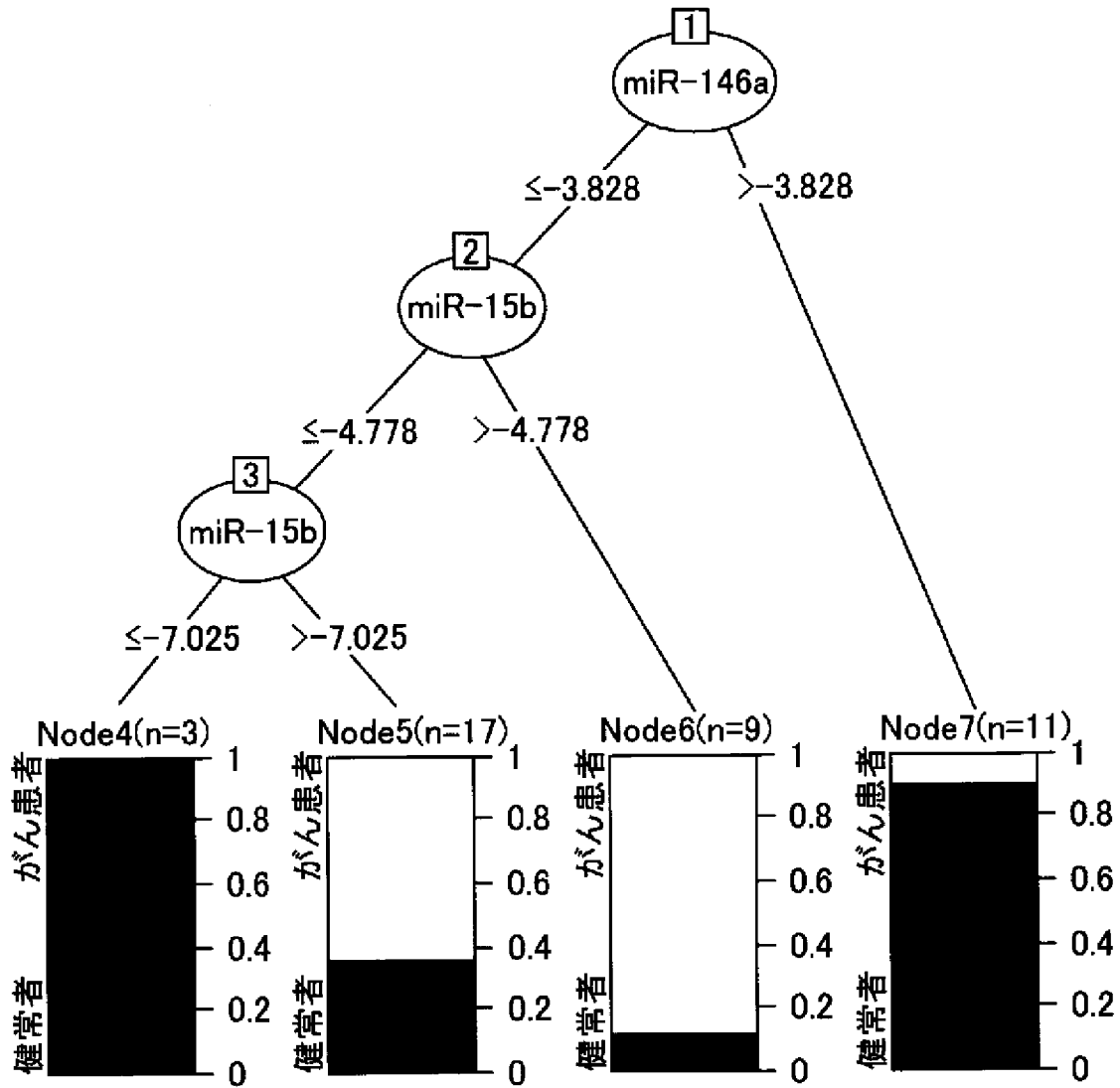
[図9G]



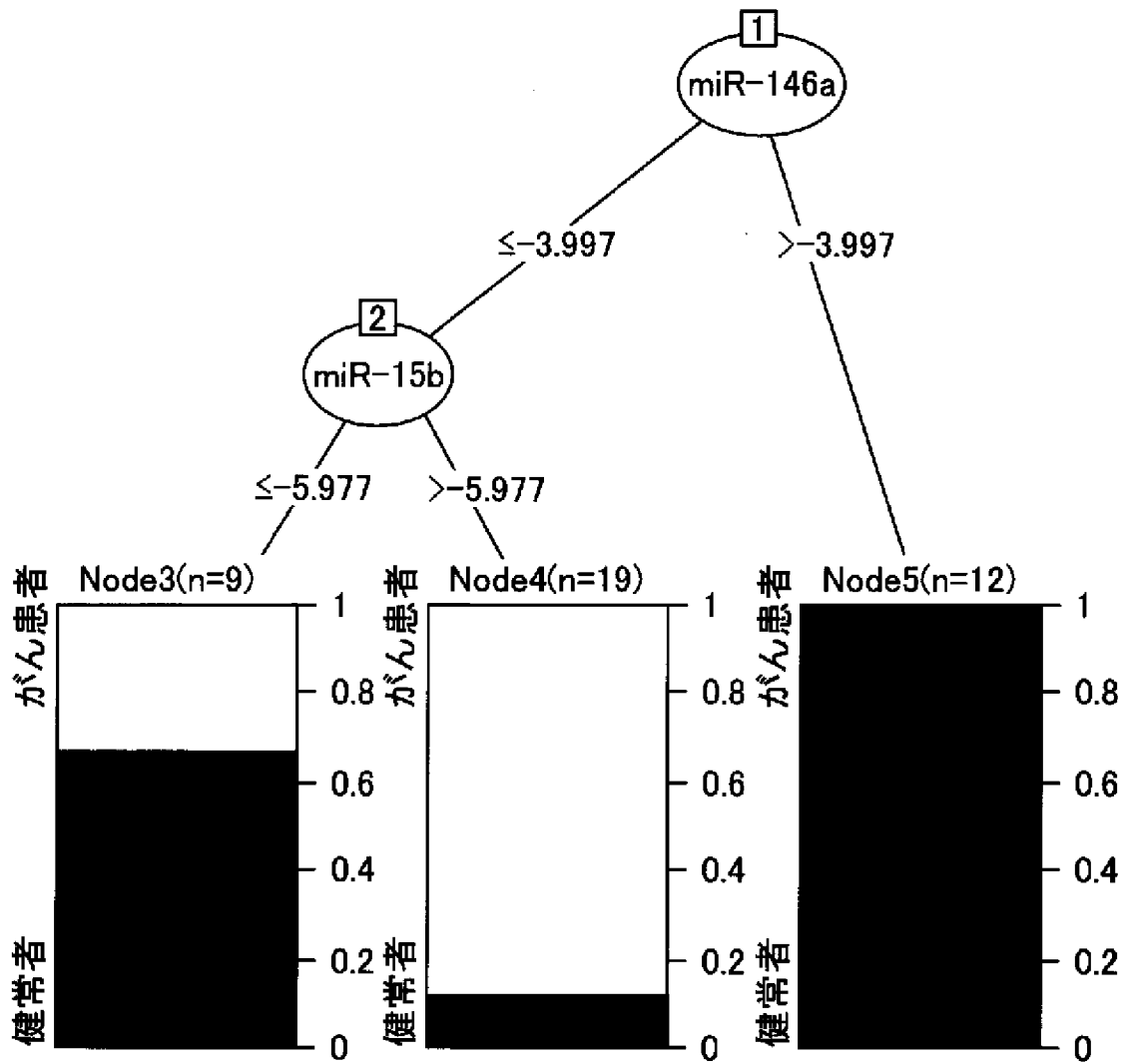
[図9H]



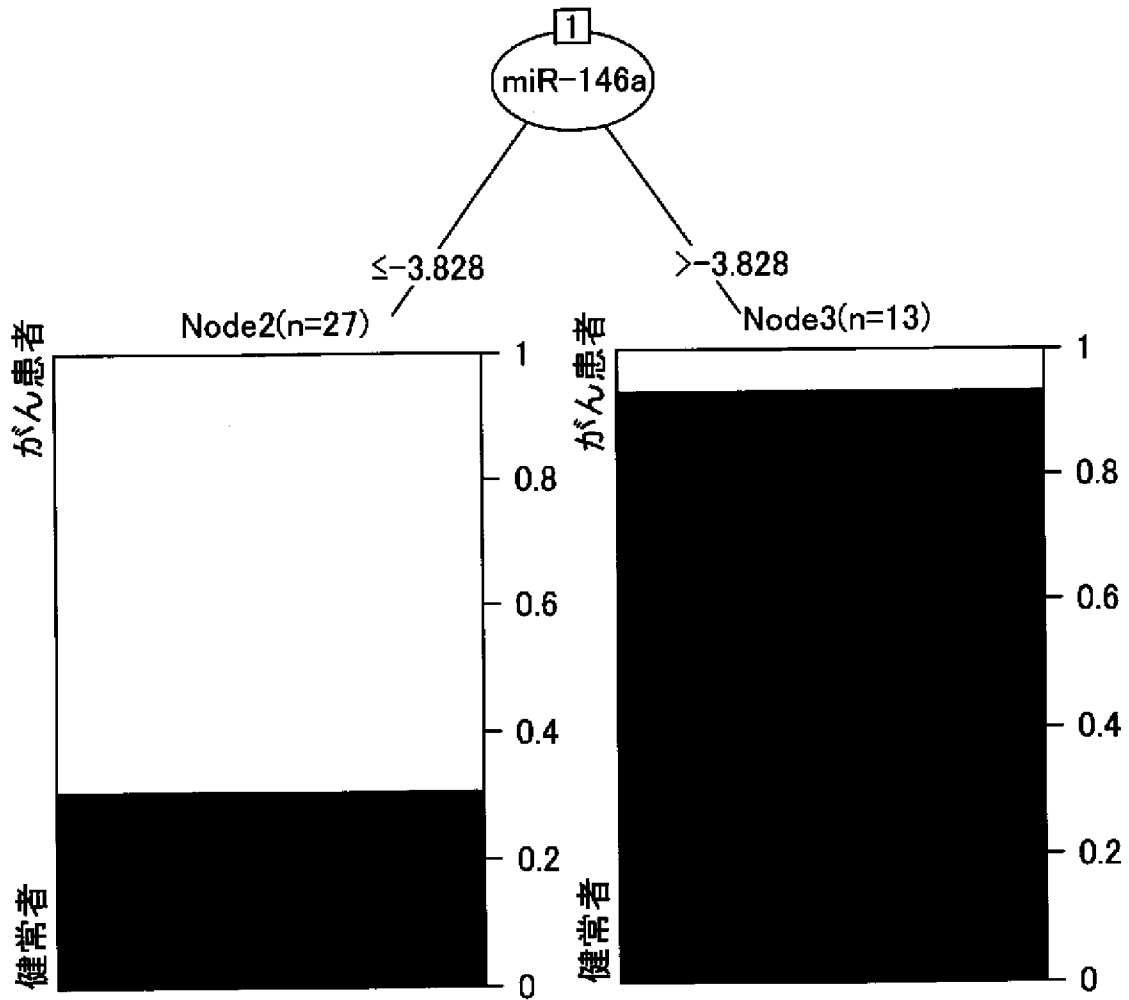
[図9I]



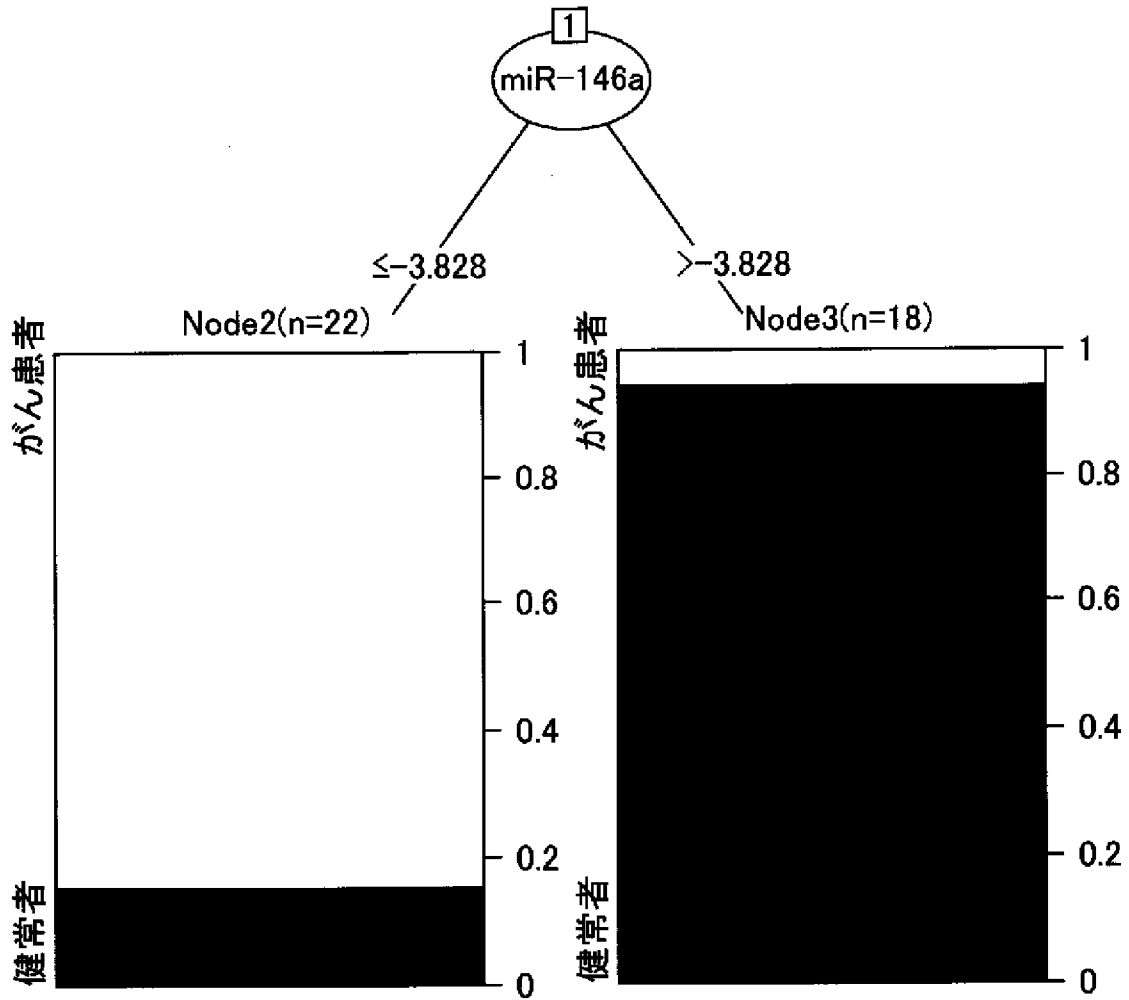
[図9J]



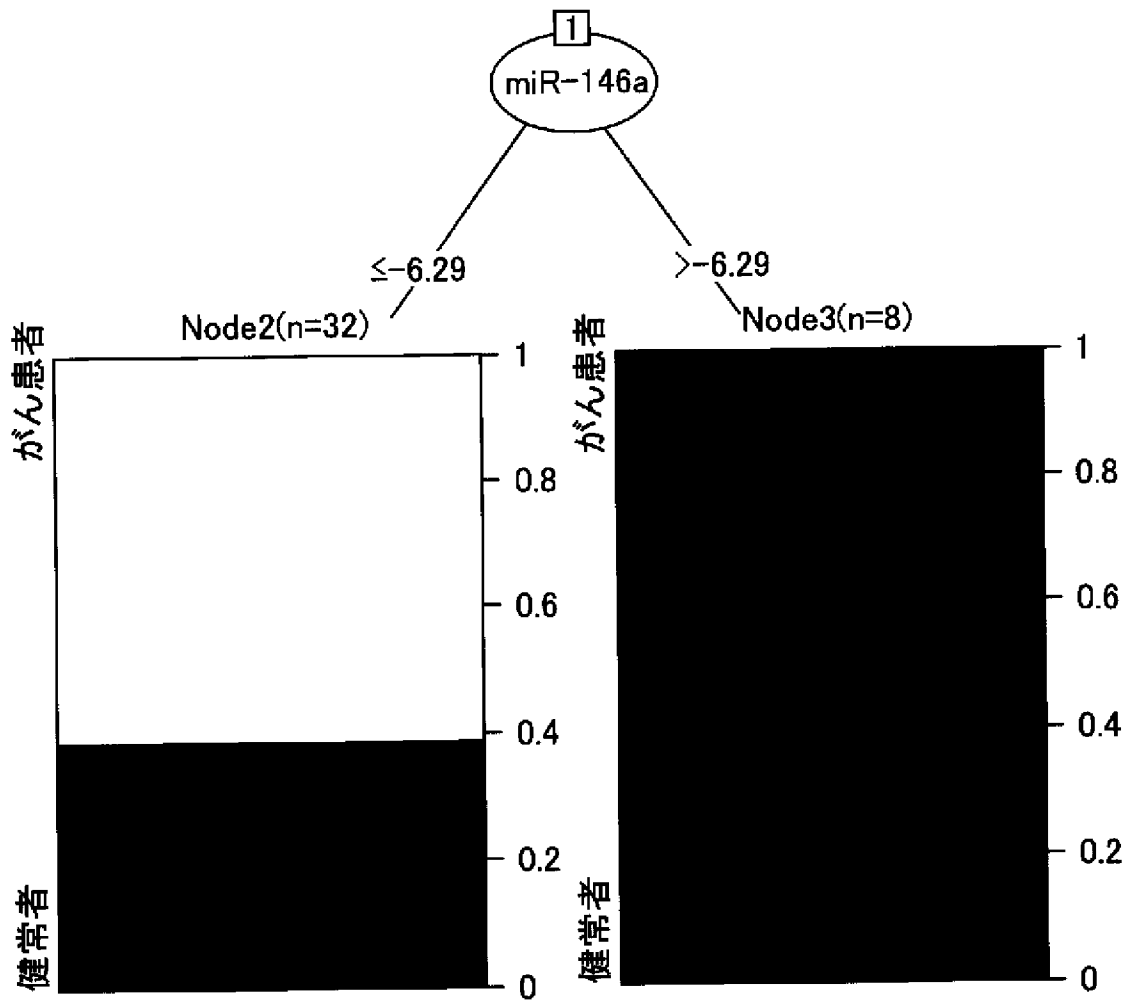
[図9K]



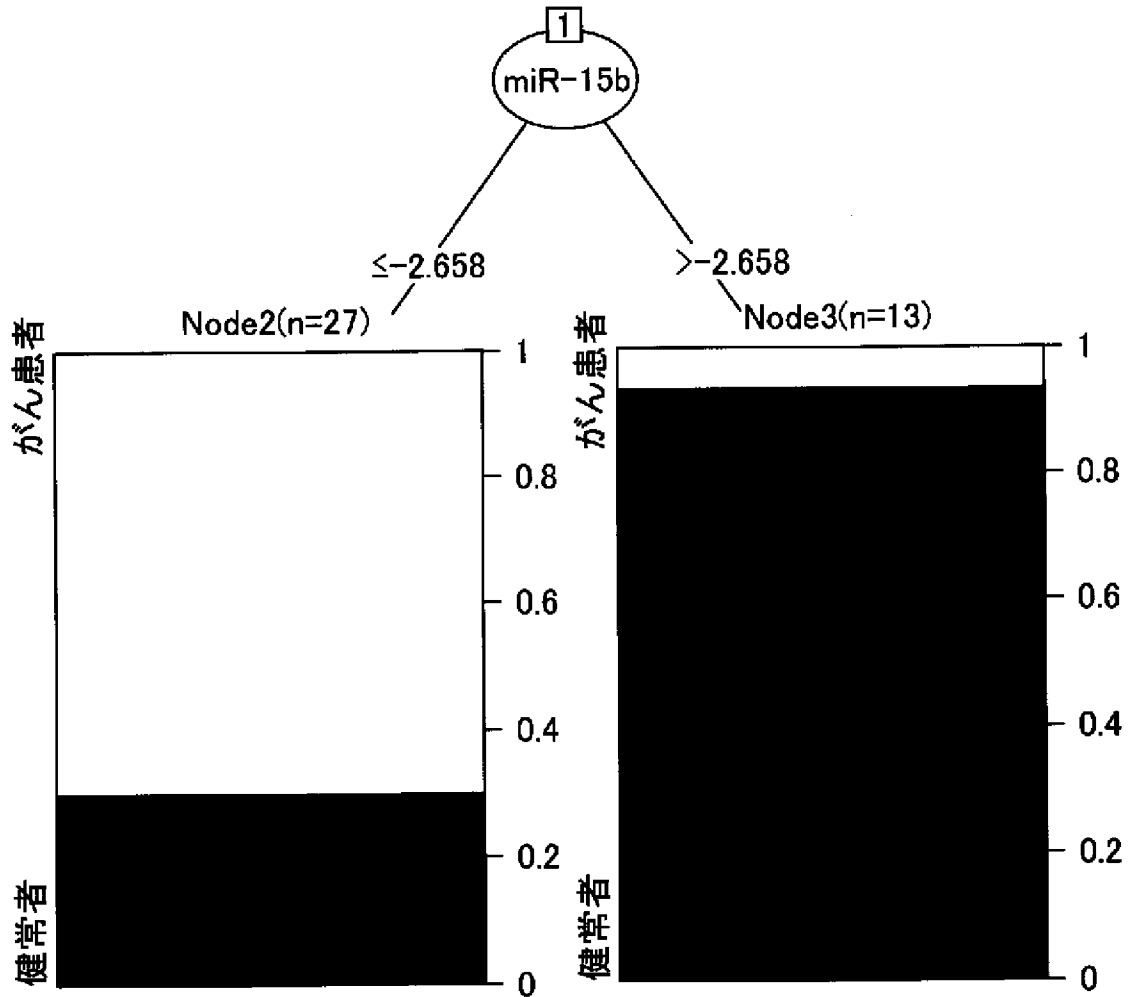
[図9L]



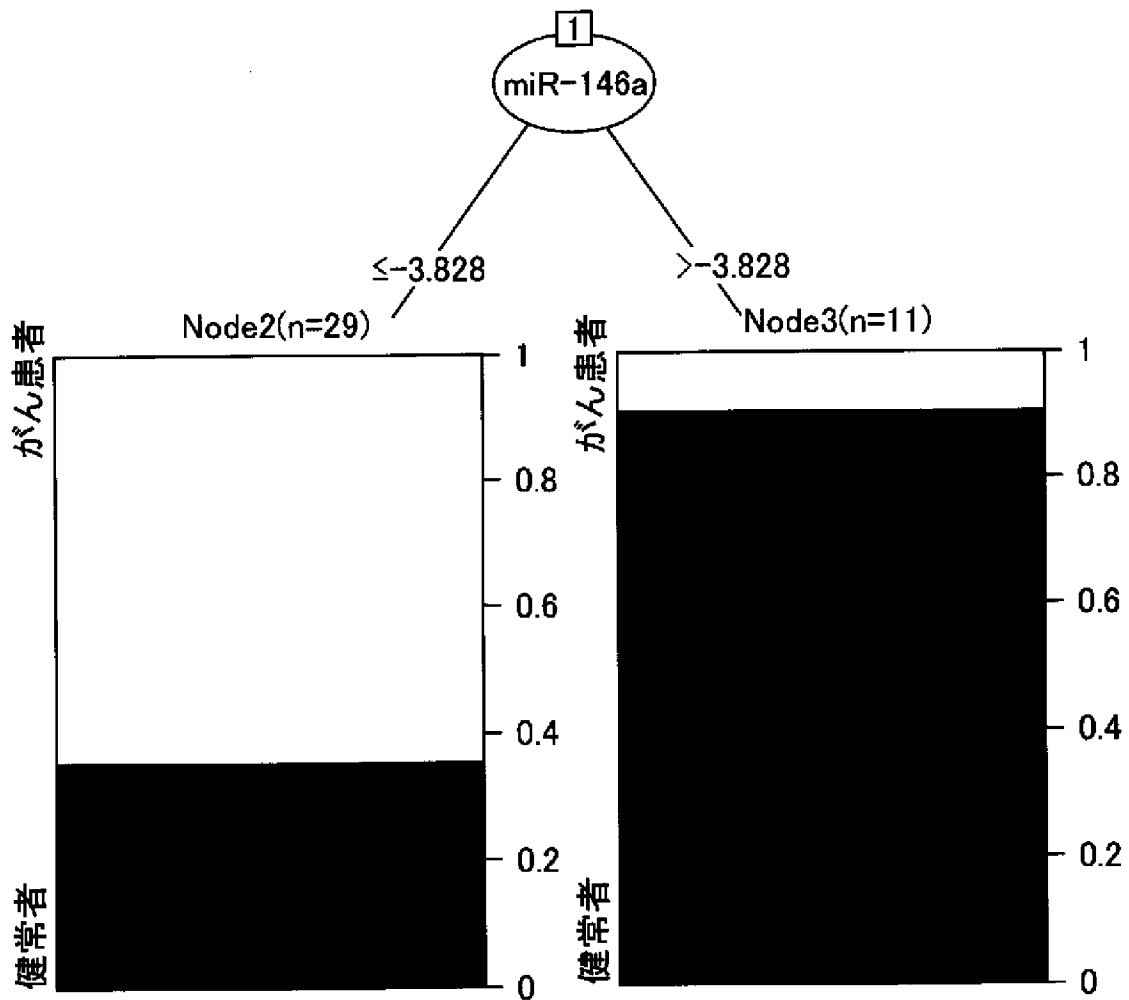
[図9M]



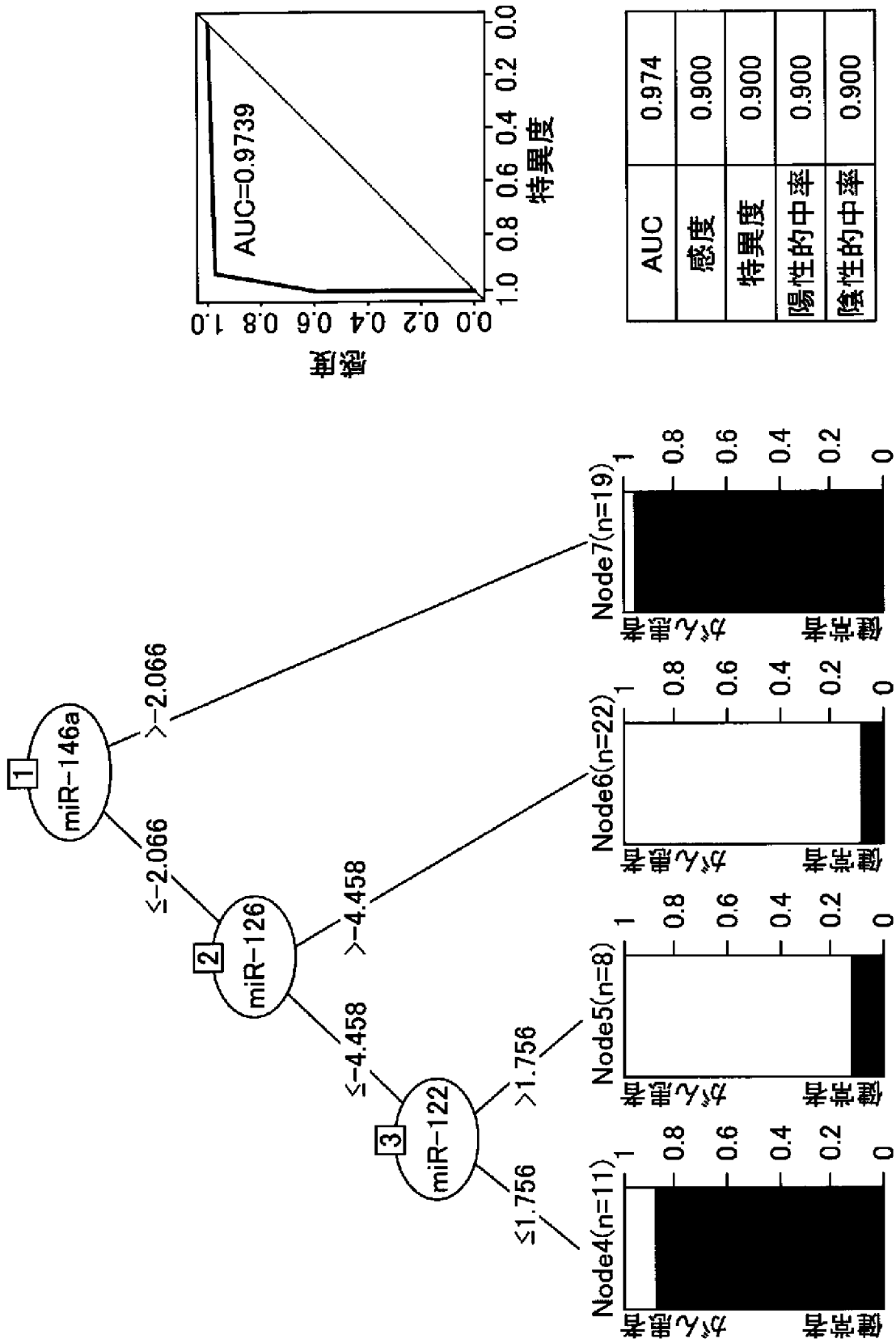
[図9N]



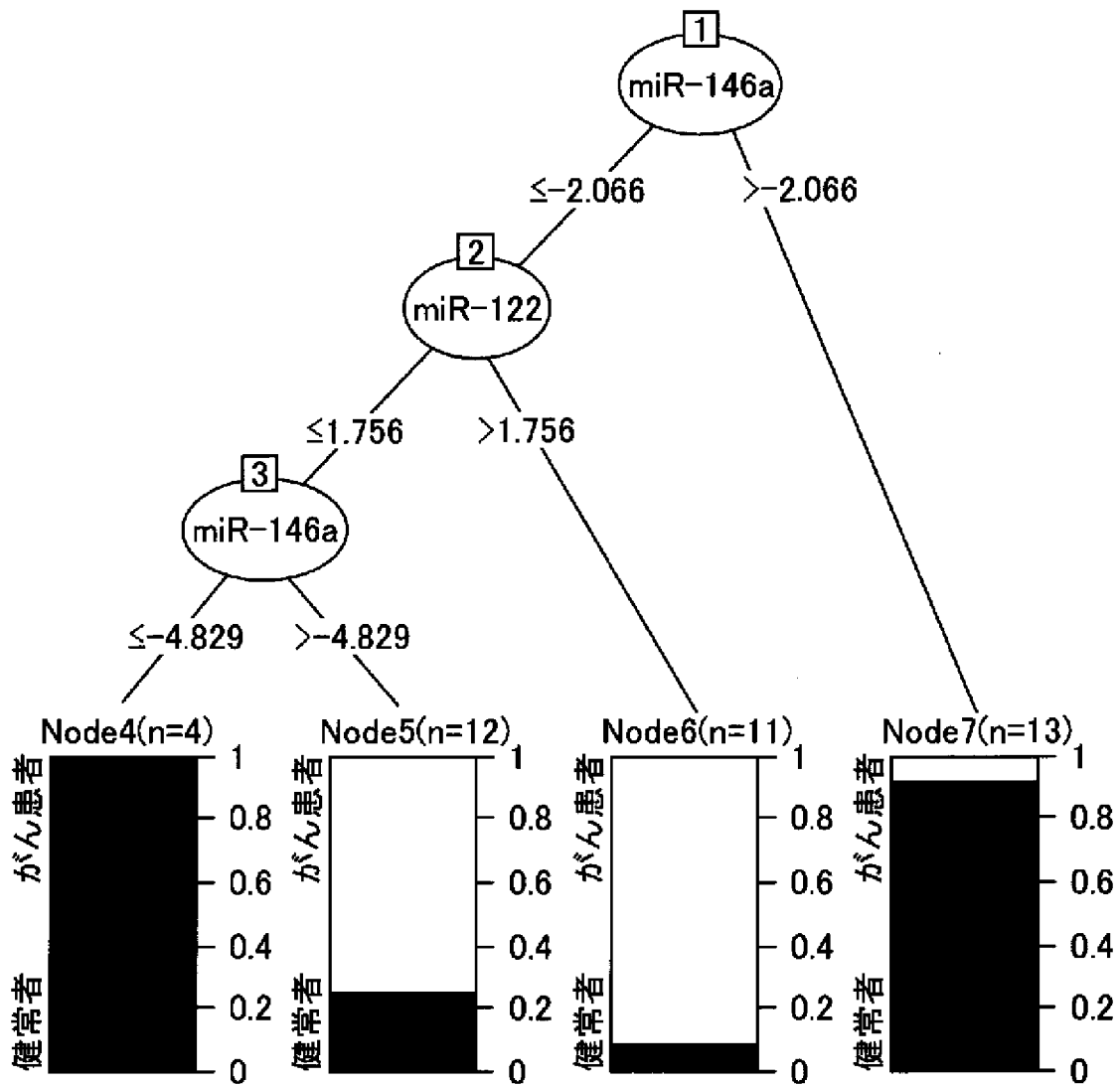
[図90]



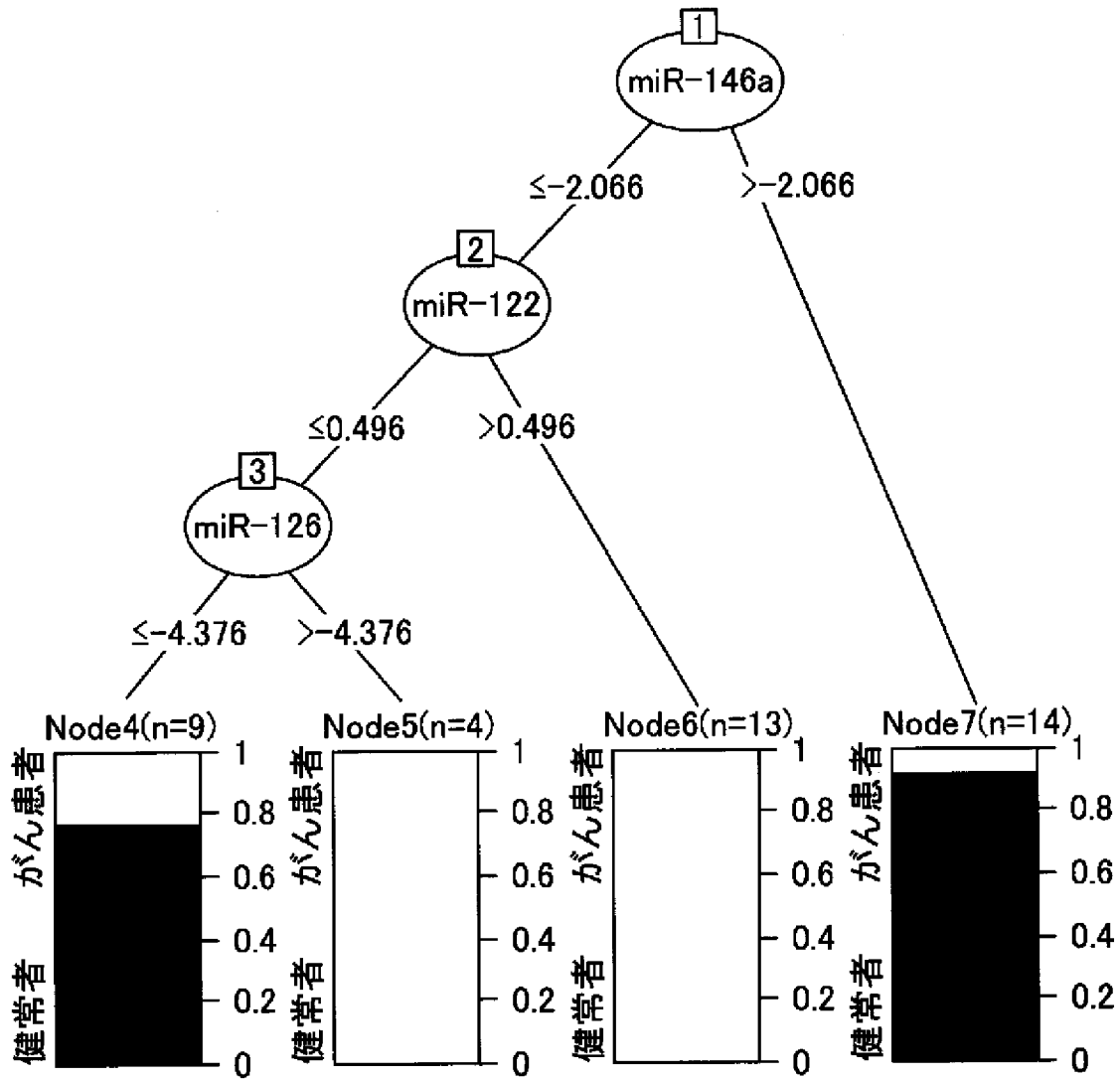
[図10A]



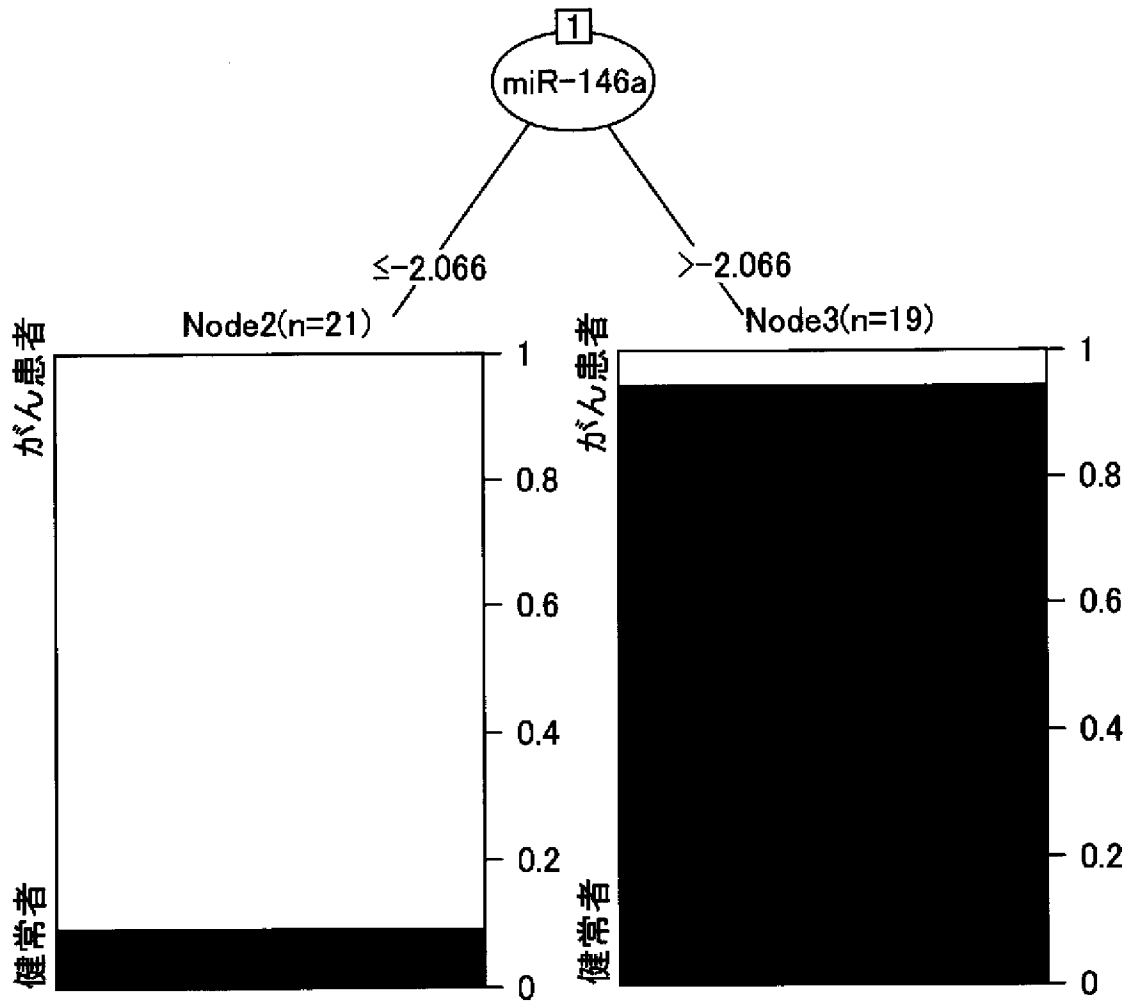
[図10B]



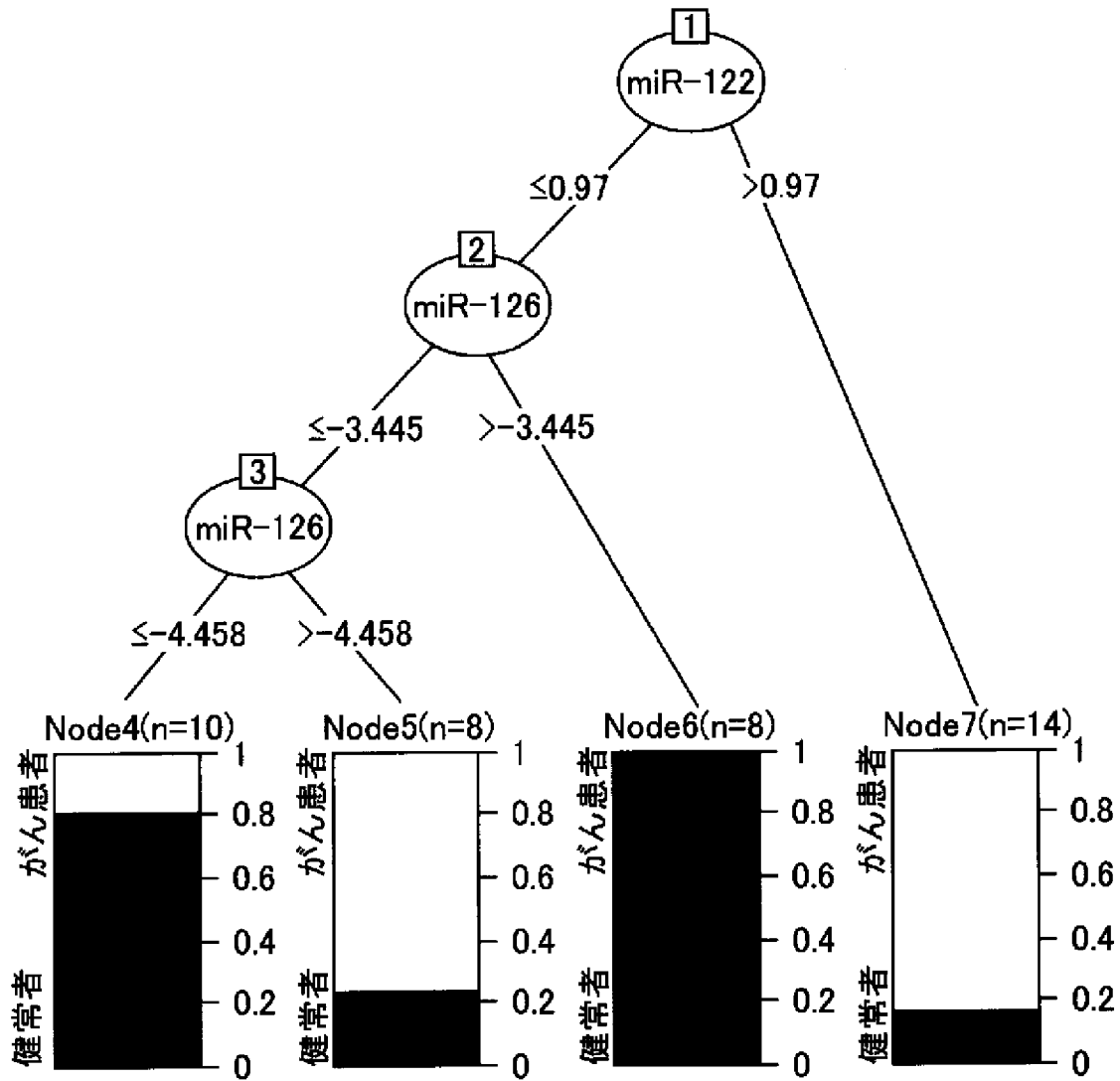
[図10C]



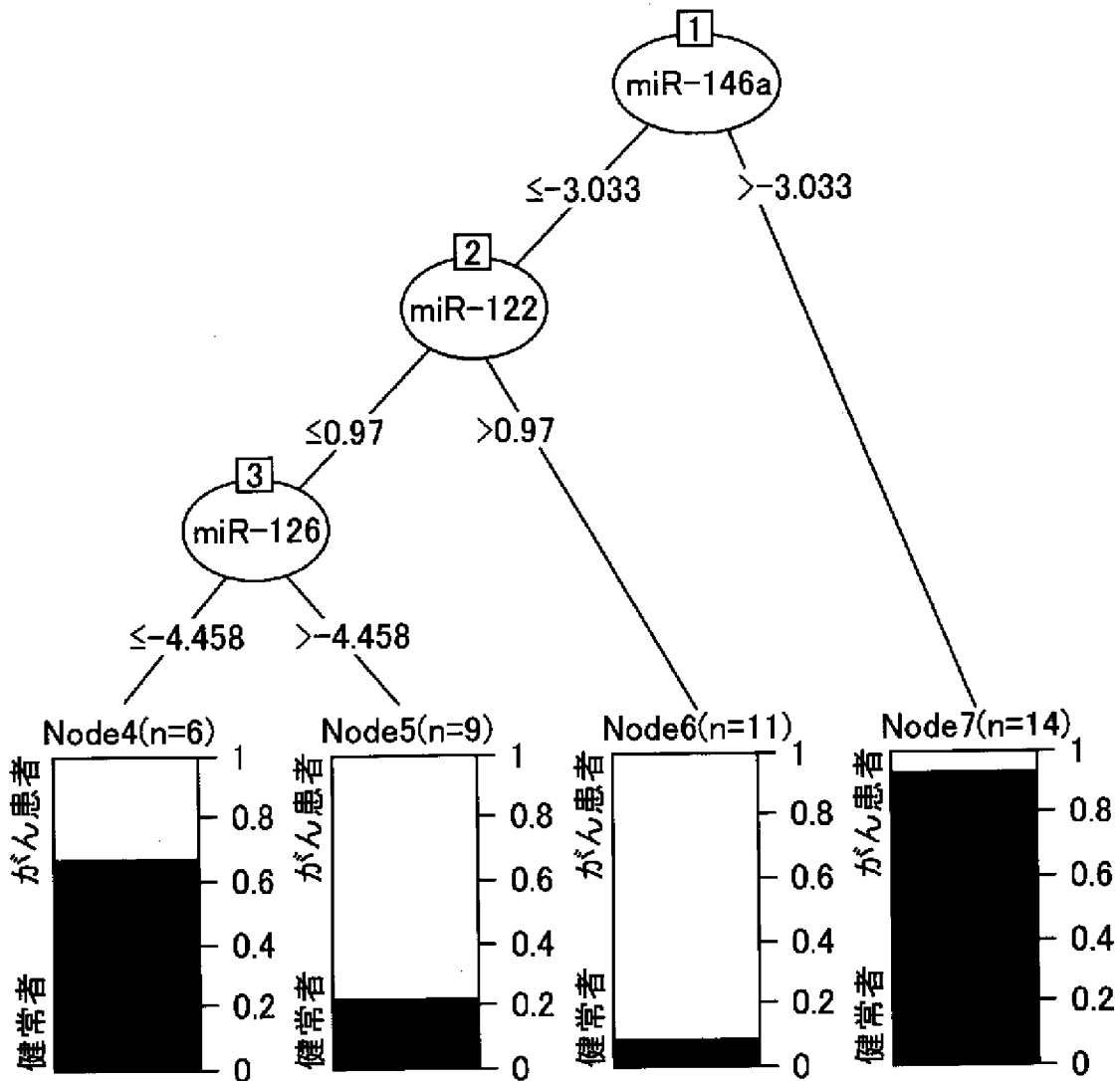
[図10D]



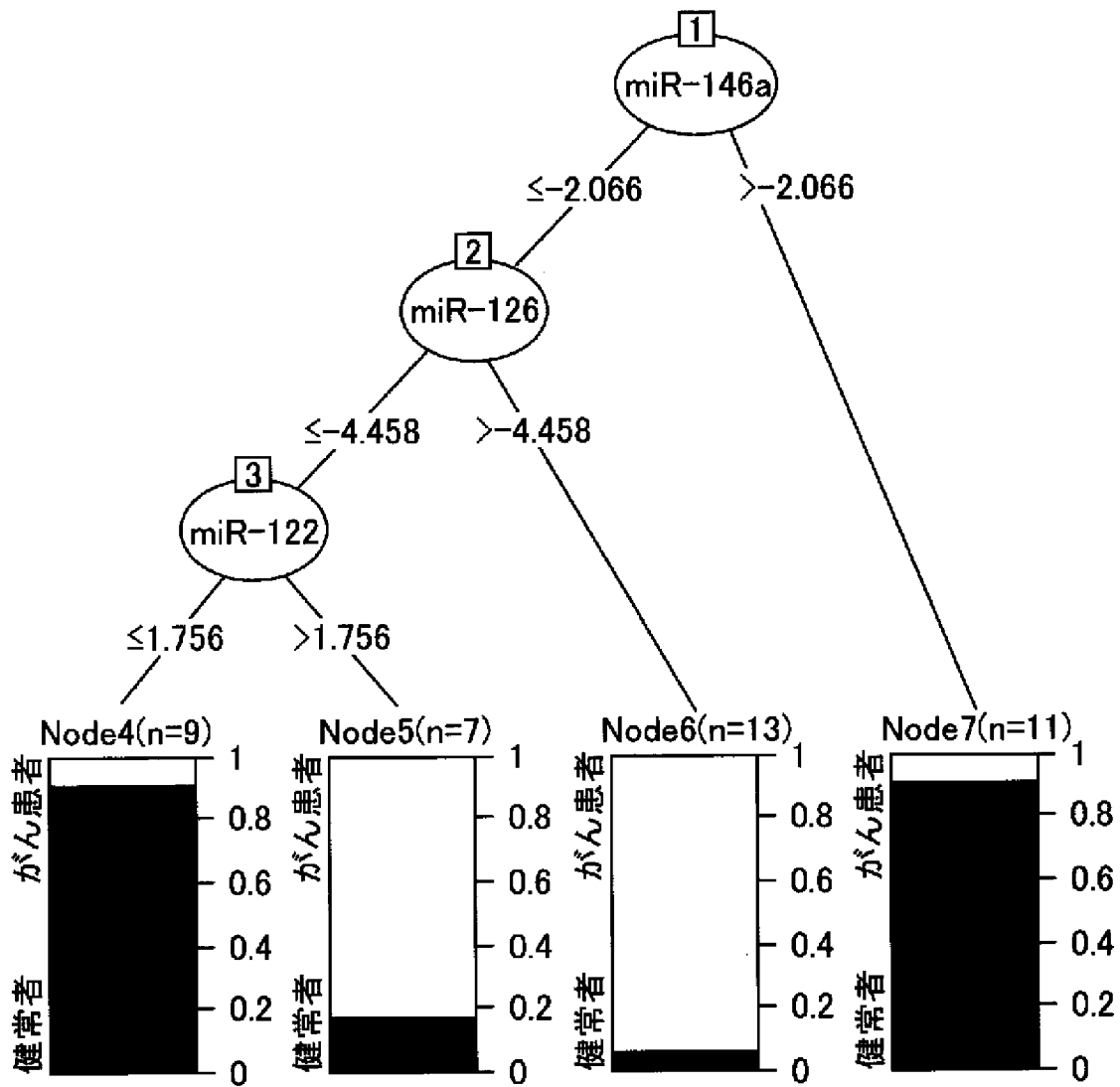
[図10E]



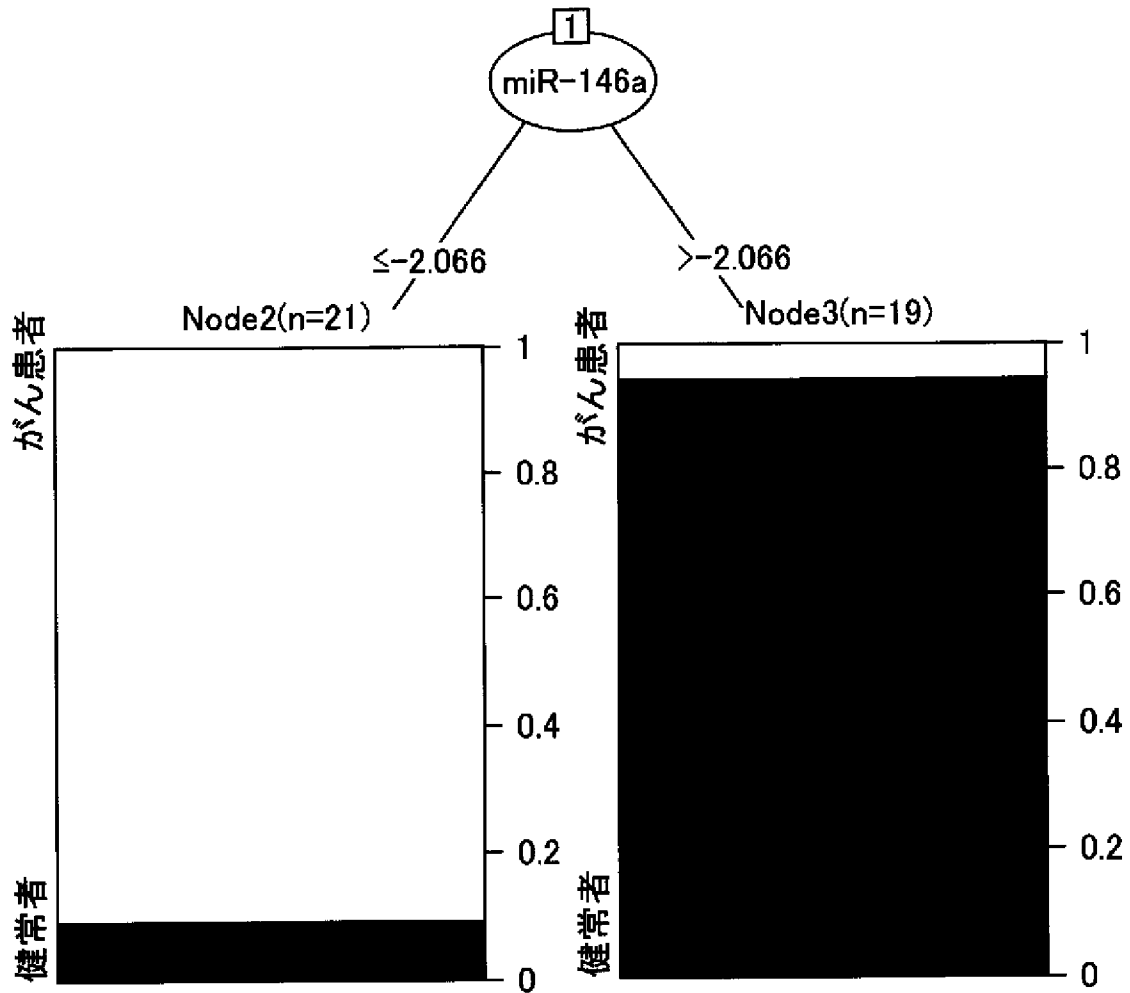
[図10F]



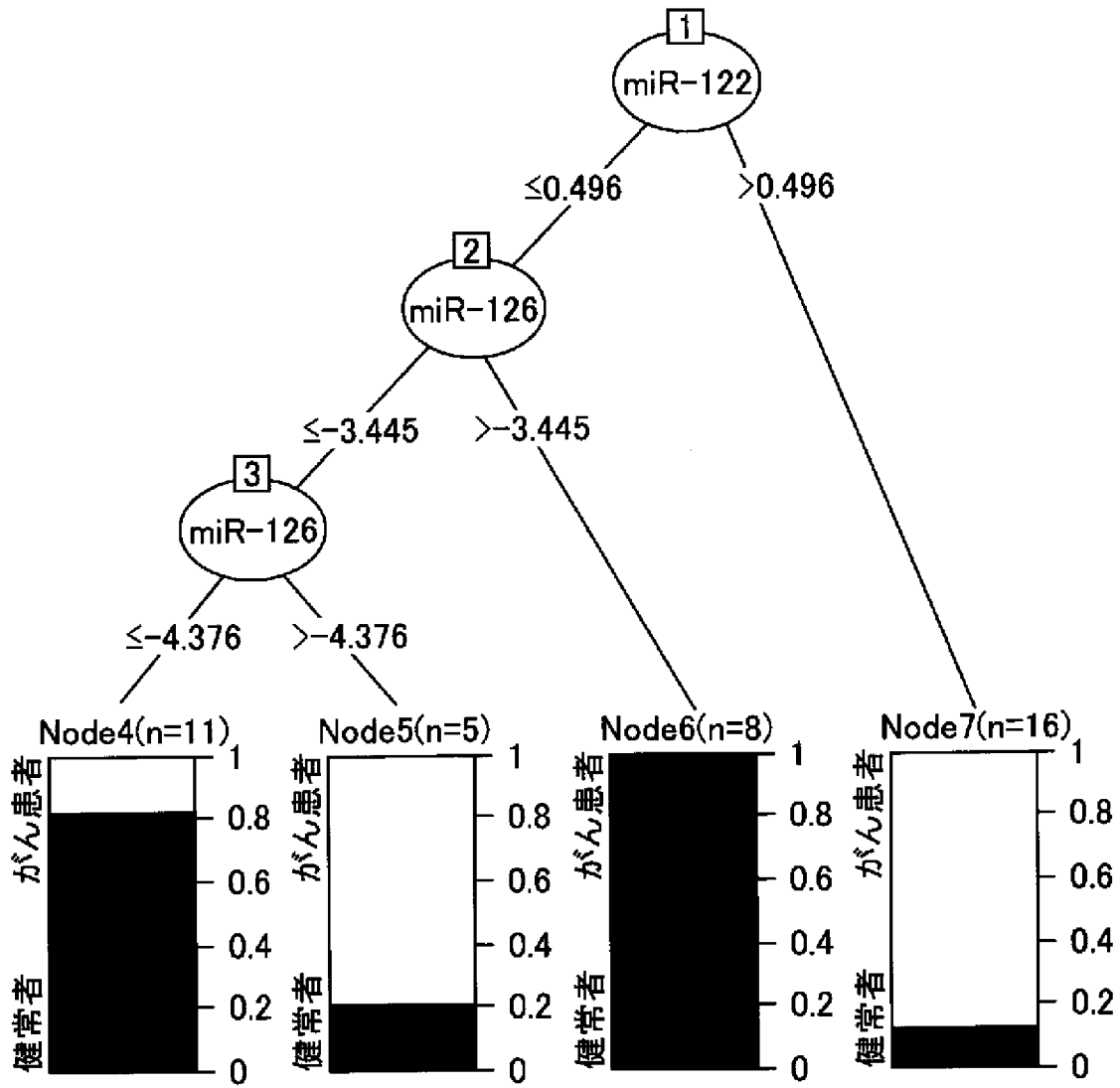
[図10G]



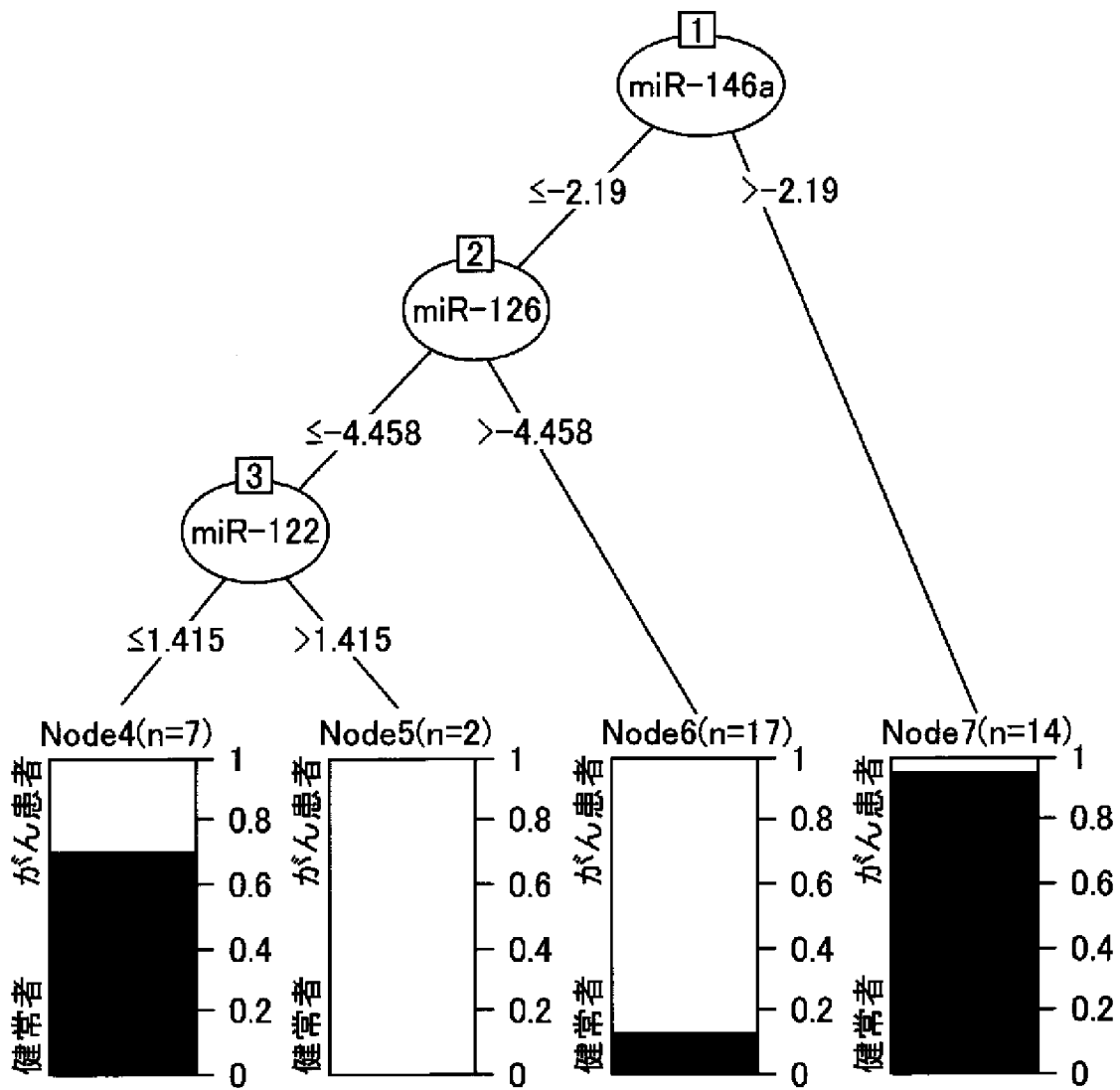
[図10H]



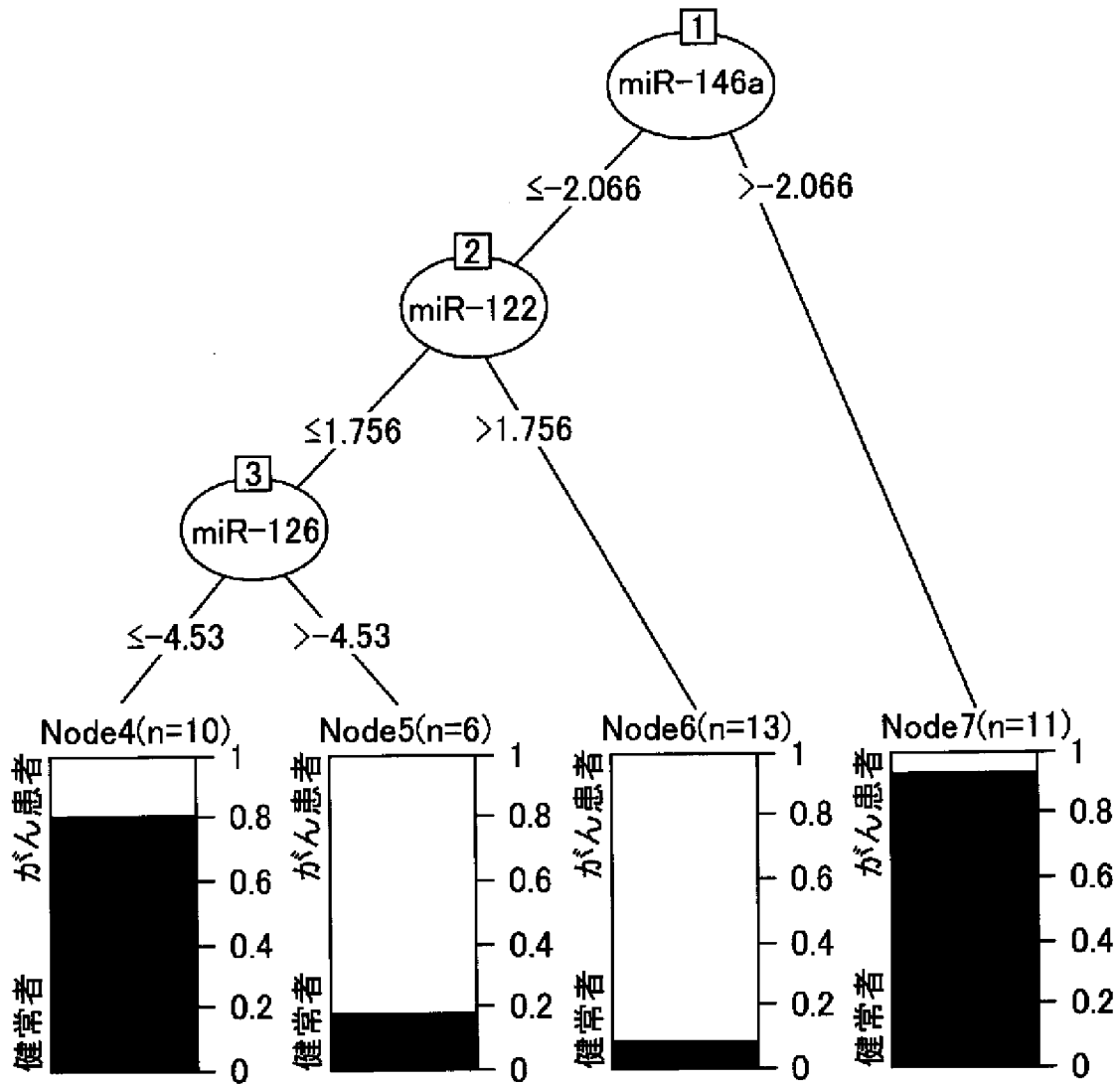
[図10I]



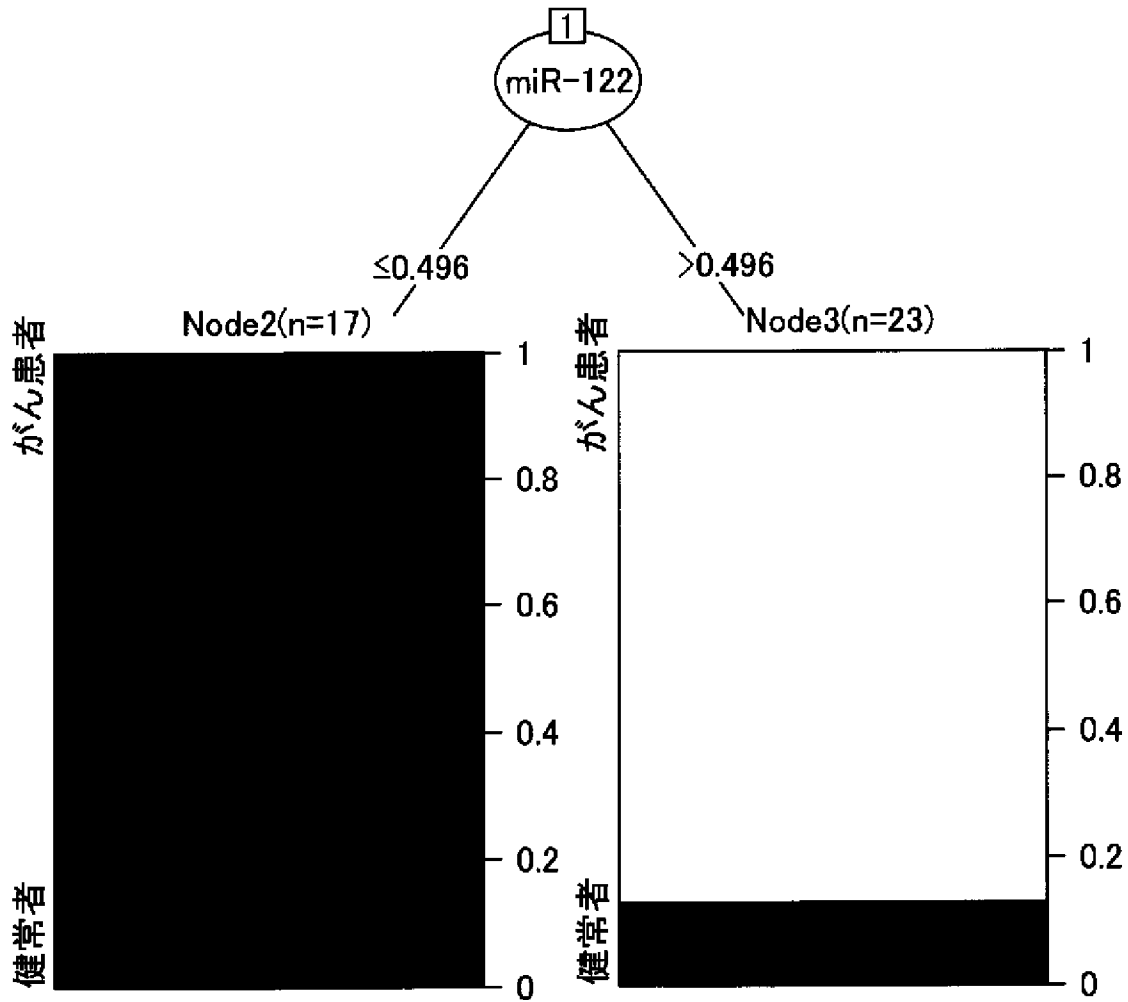
[図10J]



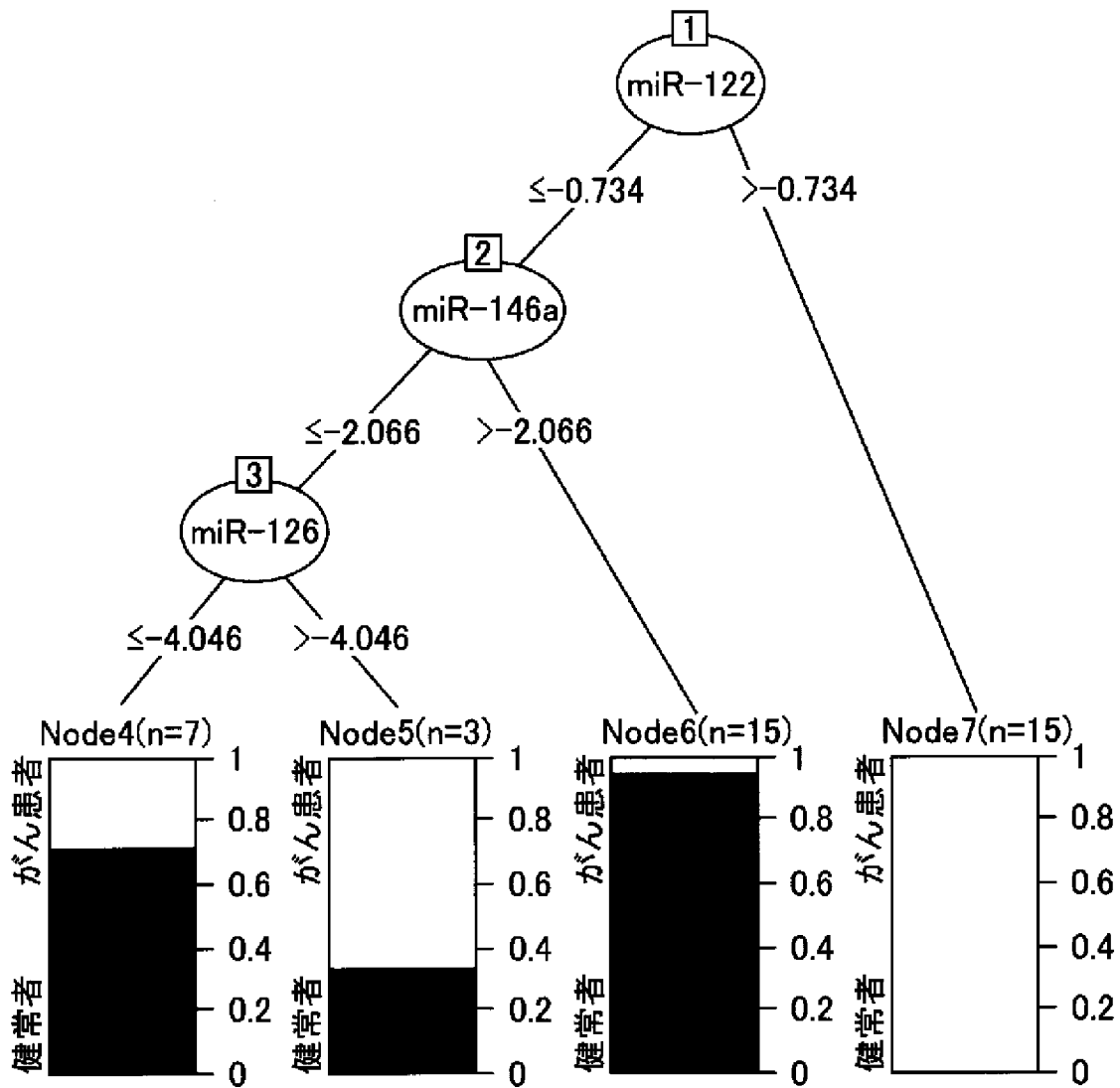
[図10K]



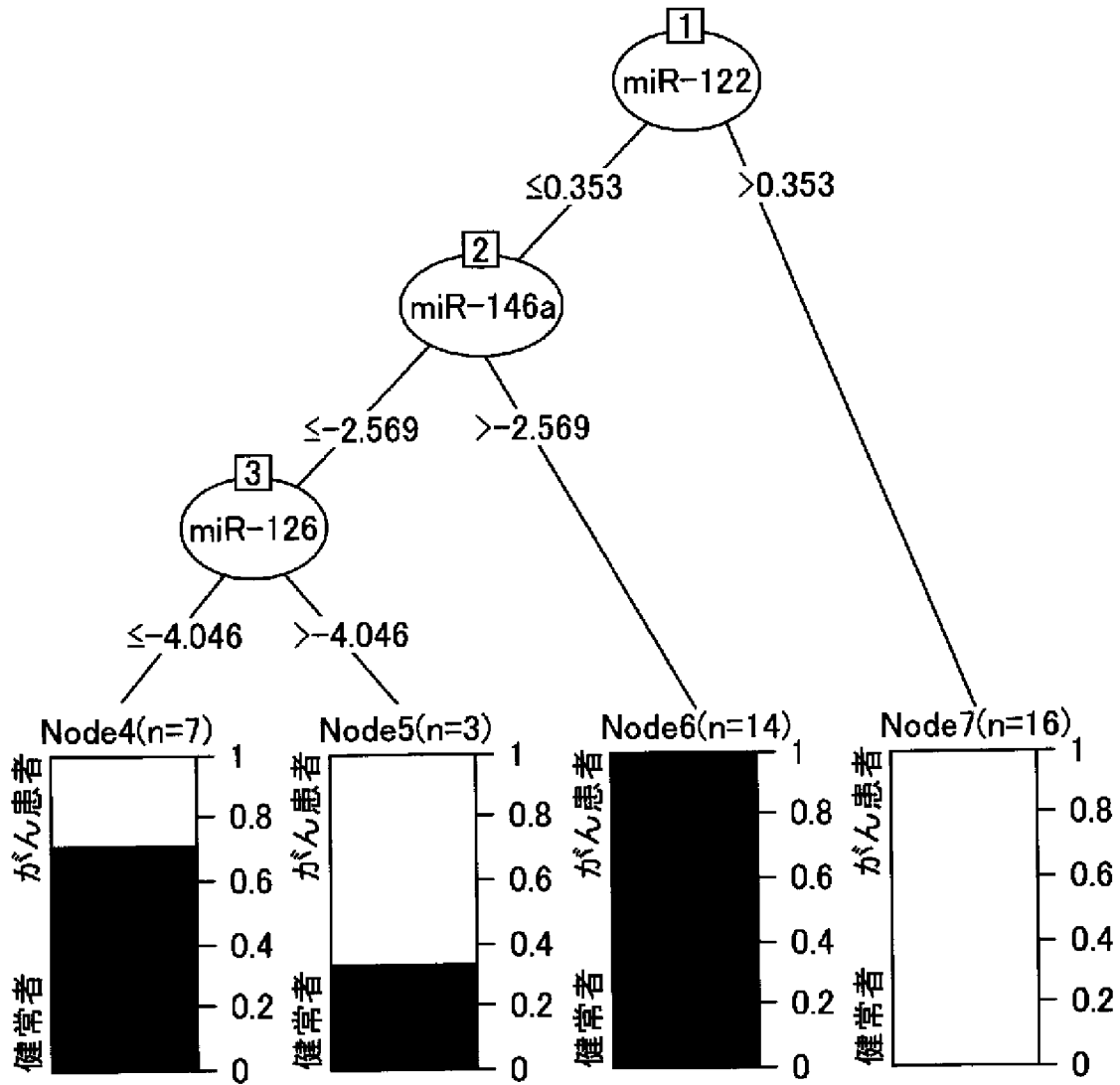
[図10L]



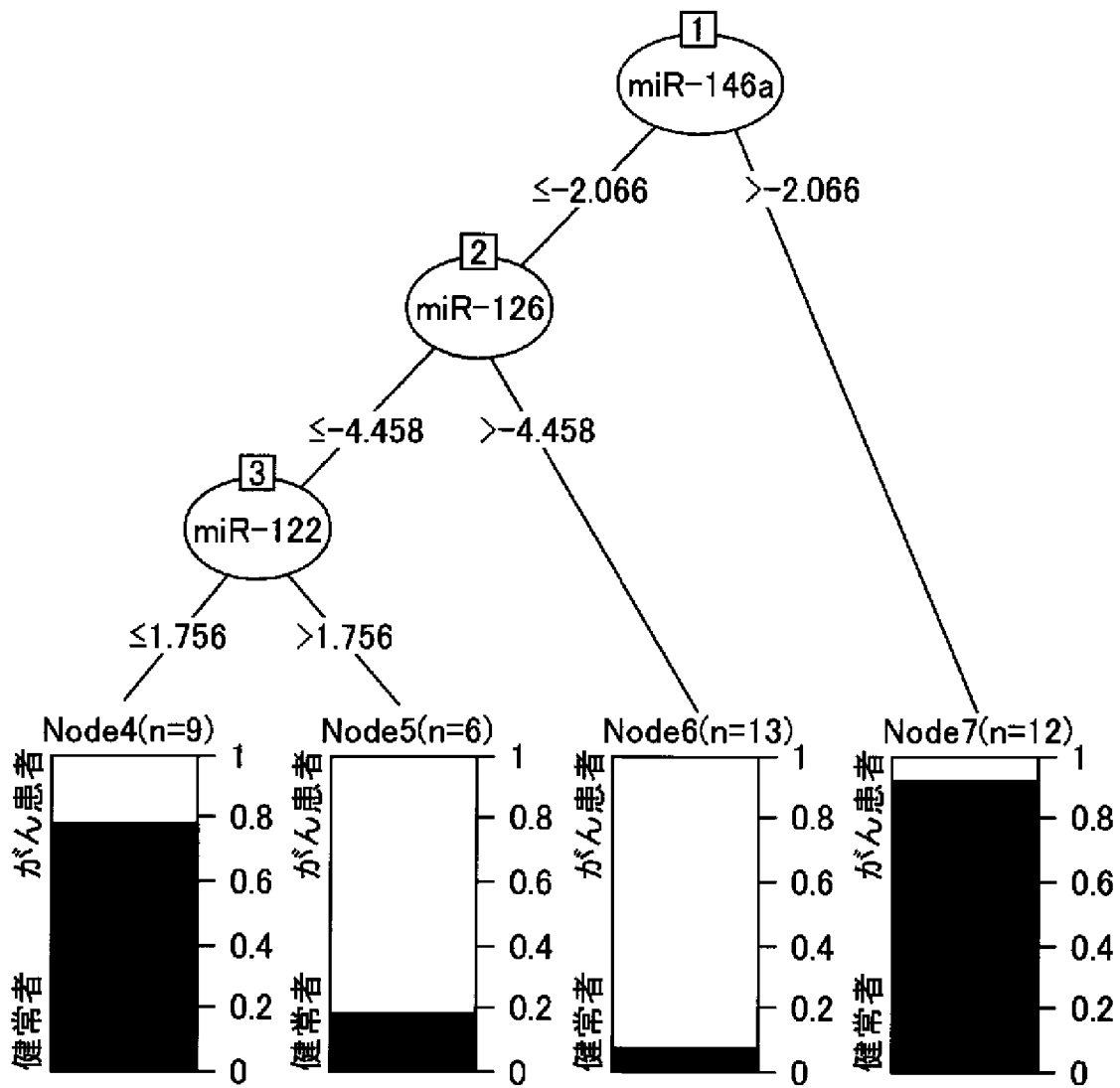
[図10M]



[図10N]



[図100]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/001836

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12Q 1/68(2018.01)i; C12Q 1/6851(2018.01)i; C12Q 1/686(2018.01)i; G01N 33/50(2006.01)i FI: C12Q1/686 Z; G01N33/50 P; C12Q1/6851 Z; C12Q1/68 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q1/68; C12Q1/6851; C12Q1/686; G01N33/50 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2017-525350 A (AGENCY FOR SCIENCE, TECHNOLOGY AND RESEARCH) 07 September 2017 (2017-09-07) claims, paragraphs [0124], [0132], examples	1, 2, 6, 7
Y	claims, paragraphs [0124], [0132], examples	1-7
Y	MENG, L. et al., "MiR-122-5p suppresses the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by targeting LYN", Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 11 December 2019, vol. 52, no. 1, pp. 49-57, https://doi.org/10.1093/abbs/gmzl41 abstract, preface, page 56, left column, line 3 from the bottom to right column, line 2, fig. 1	1-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 06 April 2021 (06.04.2021)		Date of mailing of the international search report 13 April 2021 (13.04.2021)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/001836

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2018-191636 A (HIROSHIMA UNIVERSITY) 06 December 2018 (2018-12-06) claims, paragraph [0016]	3, 4
Y	SU, Z. et al., "MiR-451, a potential prognostic biomarker and tumor 5 suppressor for gastric cancer", Int J Clin Exp Pathol, 2015, vol. 8, no. 8, pp. 9154-9150 abstract, preface, page 9159, right column, line 42 to page 9160, left column, line 4, fig. 1, 2	5
A	WO 2015/190586 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 17 December 2015 (2015-12-17) claims	1-7
A	JP 2019-511225 A (GENFIT) 25 April 2019 (2019-04- 25) claim 12	1-7
A	LI, C. et al., "Characterization and selective incorporation of small non-coding RNAs in non- small cell lung cancer extracellular vesicles", Cell & Bioscience, 2018, vol. 8:2, pp. 1-21, https://doi.org/10.1186/s13578-018-0202-x page 8, left column, line 6 to page 11, left column, line 2, table 4, fig. 6-8	1-7
E, A	WO 2021/024331 A1 (TOSHIBA CORP.) 11 February 2021 (2021-02-11) claims	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/001836

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2017-525350 A	07 Sep. 2017	US 2017/0233822 A1 claims, paragraphs [0127], [0139], examples WO 2016/022076 A1 EP 3177739 A1 KR 10-2017-0035932 A CN 107109470 A	
JP 2018-191636 A	06 Dec. 2018	US 2020/0116714 A1 claims, paragraph [0020] WO 2018/207932 A1 EP 3623809 A1	
WO 2015/190586 A1	17 Dec. 2015	US 2017/0130274 A1 claims EP 3156499 A1 KR 10-2017-0016485 A CN 106661619 A	
JP 2019-511225 A	25 Apr. 2019	US 2019/0352715 A1 claim 12 WO 2017/167934 A1 EP 3436600 A1 KR 10-2018-0132092 A CN 109072302 A	
WO 2021/024331 A1	11 Feb. 2021	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12Q 1/68(2018.01)i; C12Q 1/6851(2018.01)i; C12Q 1/686(2018.01)i; G01N 33/50(2006.01)i FI: C12Q1/686 Z; G01N33/50 P; C12Q1/6851 Z; C12Q1/68		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C12Q1/68; C12Q1/6851; C12Q1/686; G01N33/50 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2017-525350 A (エイジェンシー・フォー・サイエンス, テクノロジー・アンド・リサーチ) 07.09.2017 (2017-09-07) 特許請求の範囲、段落0124、0132、実施例	1,2,6,7
Y	特許請求の範囲、段落0124、0132、実施例	1-7
Y	MENG, L. et al., MiR-122-5p suppresses the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by targeting LYN, Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2019.12.11, Vol.52, No.1, P.49-57, https://doi.org/10.1093/abbs/gmz141 要約、前書き、第56頁左欄下から第3行-右欄第2行、図1	1-7
Y	JP 2018-191636 A (国立大学法人広島大学) 06.12.2018 (2018-12-06) 特許請求の範囲、段落0016	3,4
Y	SU, Z. et al., MiR-451, a potential prognostic biomarker and tumor suppressor for gastric cancer, Int J Clin Exp Pathol, 2015, Vol.8, No.8, P.9154-9160 要約、前書き、第9159頁右欄第42行-第9160頁左欄第4行、図1、2	5
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
06.04.2021	13.04.2021	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 齊藤 貴子 4N 4509 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2015/190586 A1 (東レ株式会社) 17.12.2015 (2015 - 12 - 17) 請求の範囲	1-7
A	JP 2019-511225 A (ジェンフィ) 25.04.2019 (2019 - 04 - 25) 請求項 1 2	1-7
A	LI, C. et al., Characterization and selective incorporation of small non-coding RNAs in non-small cell lung cancer extracellular vesicles, Cell & Bioscience, 2018, Vol.8:2, P.1-21, https://doi.org/10.1186/s13578-018-0202-x 第 8 頁左欄第 6 行-第 1 1 頁左欄第 2 行、表 4、図 6 - 8	1-7
E, A	WO 2021/024331 A1 (株式会社 東芝) 11.02.2021 (2021 - 02 - 11) 請求の範囲	1-7

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
- a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- 紙形式又はイメージファイル形式
- b. 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)
2. さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/001836

引用文献			公表日	パテントファミリー文献		公表日
JP	2017-525350	A	07.09.2017	US 2017/0233822	A1	
				特許請求の範囲、段落 0 1 2 7、0 1 3 9、実施例		
				WO 2016/022076	A1	
				EP 3177739	A1	
				KR 10-2017-0035932	A	
				CN 107109470	A	
JP	2018-191636	A	06.12.2018	US 2020/0116714	A1	
				特許請求の範囲、段落 0 0 2 0		
				WO 2018/207932	A1	
				EP 3623809	A1	
WO	2015/190586	A1	17.12.2015	US 2017/0130274	A1	
				特許請求の範囲		
				EP 3156499	A1	
				KR 10-2017-0016485	A	
				CN 106661619	A	
JP	2019-511225	A	25.04.2019	US 2019/0352715	A1	
				請求項 1 2		
				WO 2017/167934	A1	
				EP 3436600	A1	
				KR 10-2018-0132092	A	
				CN 109072302	A	
WO	2021/024331	A1	11.02.2021	(ファミリーなし)		