

明 細 書

発明の名称： イヌの癌の診断方法

技術分野

[0001] 本発明は、マイクロRNAの遺伝子発現解析結果に基づく、イヌの癌の診断方法に関する。

背景技術

[0002] 癌の治療は早期発見、早期治療は重要である。しかしながら、従来の検査は腫瘍組織を切り取って病理検査するなどの侵襲的な方法であり、患者への負担が大きく、また、繰り返しの検査が難しいという問題があった。そこで、近年、注目を浴びているのが、血液、唾液、尿などの体液由来の特定のバイオマーカーを解析することにより、癌を検出する手法、すなわち、リキッドバイオプシーである。このような手法は、患者への負担が小さい、繰り返し採取できる、さらには単一臓器に限らず全身をスクリーニングできる、といったメリットがあり、癌の早期診断のみならず、治療後の再発モニタリングにも有用であると考えられている。

[0003] マイクロRNAは、血液、唾液、尿などの体液に含まれる、22塩基程度の小さなRNAであり、特定の遺伝子の発現を制御しており、癌等の疾患に伴って患者の血液中でその種類や量の変動することが知られている。ヒトにおいては、癌特異的なバイオマーカーとして、マイクロRNAを使用し、その発現の解析結果に基づく、癌の診断キットの開発が進められている（たとえば、特許文献1）。

[0004] しかしながら、イヌを対象として癌を検出するための有効な手法については、いまだ確立されていない。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：再表2015／194615号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、イヌのマイクロRNAを用いた遺伝子発現解析の結果に基づく、正確かつ迅速なイヌの癌の診断方法を提供するものである。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明の各実施態様は以下のとおりである。

[1] 診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を取得し、当該結果を用いて、特定のマイクロRNAについての遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを診断基準として、当該診断対象のイヌが特定の癌疾患に罹患しているリスクの程度を診断する、診断工程を含む、イヌの癌の診断方法であって、前記特定のマイクロRNAは、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、前記特定の癌疾患に罹患しているイヌと健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAであることを特徴とする、イヌの癌の診断方法。

[2] 前記診断工程の前に、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、特定の癌疾患に罹患しているイヌと健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAを、統計解析処理を用いて作成された判別式に基づき、特定のマイクロRNAとして抽出する工程をさらに含む、[1]に記載の方法。

[3] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫からなる群より選択される、[1]または[2]に記載の方法。

[4] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種の癌疾患であって、前記特定のマイクロRNAがcfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-122、cfa-miR-125a、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-22、cfa-miR-222、cfa-miR-223、cfa-miR-24、c

fa-miR-26a、cfa-miR-27b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8843、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8860、cfa-miR-8903、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれに記載の方法。

[5] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマであって、前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30c、cfa-miR-483、cfa-miR-489、cfa-miR-8798、cfa-miR-8816、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれかに記載の方法。

[6] 前記特定の癌疾患が尿路上皮がんであって、前記特定のマイクロRNAが、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1249、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-1844、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-494、cfa-miR-502、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8798、cfa-miR-8824、cfa-miR-8832、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8843、cfa-miR-8904bおよびcfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれかに記載の方法。

[7] 前記特定の癌疾患が悪性リンパ腫であって、前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-184、cfa-miR-188、cfa-miR-197

、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798、cfa-miR-8900、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれかに記載の方法。

[8] 前記特定の癌疾患が肝細胞がんであって、前記特定のマイクロRNAが、cfa-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-7、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれかに記載の方法。

[9] 前記特定の癌疾患が肥満細胞腫であって、前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-10b、cfa-miR-1185、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-222、cfa-miR-24、cfa-miR-26b、cfa-miR-8803、cfa-miR-8872、cfa-miR-8903、cfa-miR-8907およびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種である、[1]から[3]までのいずれかに記載の方法。

[10] 診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を取得し、当該結果を用いて、特定のマイクロRNAについての遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを診断基準として、当該診断対象のイヌが特定の癌疾患に罹患しているリスクの程度を診断する、診断工程を含む、イヌの癌の診断方法であって、前記特定のマイクロRNAは、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、前記特定の癌疾患に罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAであることを特徴とする、イヌの癌の診断方法。

〔１１〕前記診断工程の前に、イヌの体液から抽出されたマイクロＲＮＡの遺伝子発現解析の結果に基づいて、特定の癌疾患に罹患しているイヌとその他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロＲＮＡを、統計解析処理を用いて作成された判別式に基づき、特定のマイクロＲＮＡとして抽出する工程をさらに含む、〔１０〕に記載の方法。

〔１２〕前記診断工程において、前記診断対象のイヌが前記特定の癌疾患に罹患しているリスクの程度は、その他の癌疾患に罹患しているリスクよりも高いか、あるいは低いことを含む、〔１０〕に記載の方法。

〔１３〕前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫からなる群より選択される、〔１０〕から〔１２〕までのいずれかに記載の方法。

〔１４〕前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマであって、前記診断において使用される特定のマイクロＲＮＡが、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-126、cfa-miR-1271、cfa-miR-1306、cfa-miR-130b、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-192、cfa-miR-197、cfa-miR-222、cfa-miR-29a、cfa-miR-29b、cfa-miR-30b、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8875、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも１種である、〔１０〕から〔１３〕までのいずれかに記載の方法。

〔１５〕前記特定の癌疾患が尿路上皮がんであり、前記診断において使用される特定のマイクロＲＮＡが、cfa-let-7b、cfa-miR-107、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-181a、cfa-miR-185、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-23a、cfa-miR-29c、cfa-miR-345、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-486

、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8860、cfa-miR-8873a、cfa-miR-8891、cfa-miR-8903、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92b、cfa-miR-93およびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種である、[10]から[13]までのいずれかに記載の方法。

[16] 前記特定の癌疾患が悪性リンパ腫であり、前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7f、cfa-miR-122、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-151、cfa-miR-15a、cfa-miR-181a、cfa-miR-1844、cfa-miR-188、cfa-miR-192、cfa-miR-193a、cfa-miR-21、cfa-miR-22、cfa-miR-23b、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-26b、cfa-miR-27b、cfa-miR-301a、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8809、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8863、cfa-miR-8872、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択された少なくとも1種である、[10]から[13]までのいずれかに記載の方法。

[17] 前記特定の癌疾患が肝細胞がんであり、前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7b、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-let-7g、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-132、cfa-miR-134、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-16、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-223、cfa-miR-29a、cfa-miR-30d、cfa-miR-331、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8815、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8860、cfa-miR-8892、cfa-miR-8900、cfa-miR-8903、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種である、[10]か

ら〔13〕までのいずれかに記載の方法。

〔18〕前記特定の癌疾患が肥満細胞腫であり、前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-149、cfa-miR-186、cfa-miR-188、cfa-miR-18a、cfa-miR-191、cfa-miR-221、cfa-miR-223、cfa-miR-301a、cfa-miR-30c、cfa-miR-342、cfa-miR-370、cfa-miR-451、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8809、cfa-miR-8815、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種である、〔10〕から〔13〕までのいずれかに記載の方法。

〔19〕口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種のイヌの癌疾患を診断するための、cfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-122、cfa-miR-125a、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-22、cfa-miR-222、cfa-miR-223、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-27b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8843、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8860、cfa-miR-8903、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

〔20〕イヌの口腔内メラノーマを診断するための、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30c、cfa-miR-483、cfa-miR-489、cfa-miR-8798、cfa-miR-8816、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオ

マーカー。

[21] イヌの尿路上皮がんを診断するための、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1249、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-1844、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-494、cfa-miR-502、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8798、cfa-miR-8824、cfa-miR-8832、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8843、cfa-miR-8904bおよびcfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[22] イヌの悪性リンパ腫を診断するための、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-184、cfa-miR-188、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798、cfa-miR-8900、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[23] イヌの肝細胞がんを診断するための、cfa-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-7、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[24] イヌの肥満細胞腫を診断するための、cfa-miR-10b、cfa-miR-1185、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-

-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-222、cfa-miR-24、cfa-miR-26b、cfa-miR-8803、cfa-miR-8872、cfa-miR-8903、cfa-miR-8907およびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[25] イヌの口腔内メラノーマを診断するための、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-126、cfa-miR-1271、cfa-miR-1306、cfa-miR-130b、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-192、cfa-miR-197、cfa-miR-222、cfa-miR-29a、cfa-miR-29b、cfa-miR-30b、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8875、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[26] イヌの尿路上皮がんを診断するための、cfa-let-7b、cfa-miR-107、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-181a、cfa-miR-185、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-23a、cfa-miR-29c、cfa-miR-345、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8860、cfa-miR-8873a、cfa-miR-8891、cfa-miR-8903、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92b、cfa-miR-93およびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[27] イヌの悪性リンパ腫を診断するための、cfa-let-7f、cfa-miR-122、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-151、cfa-miR-15a、cfa-miR-181a、cfa-miR-1844、cfa-miR-188、cfa-miR-192、cfa-miR-193a、cfa-miR-21、cfa-miR-22、cfa-miR-23b、cfa-miR-

24、cfa-miR-26a、cfa-miR-26b、cfa-miR-27b、cfa-miR-301a、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8809、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8863、cfa-miR-8872、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[28] イヌの肝細胞がんを診断するための、cfa-let-7b、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-let-7g、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-132、cfa-miR-134、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-16、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-223、cfa-miR-29a、cfa-miR-30d、cfa-miR-331、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8815、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8860、cfa-miR-8892、cfa-miR-8900、cfa-miR-8903、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種マイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[29] イヌの肥満細胞腫を診断するための、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-149、cfa-miR-186、cfa-miR-188、cfa-miR-18a、cfa-miR-191、cfa-miR-221、cfa-miR-223、cfa-miR-301a、cfa-miR-30c、cfa-miR-342、cfa-miR-370、cfa-miR-451、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8809、cfa-miR-8815、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種マイクロRNAを含む、バイオマーカー。

発明の効果

[0008] 本発明により、正確かつ迅速なイヌの癌の診断方法が提供される。

図面の簡単な説明

- [0009] [図1-1]マイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を示す図
[図1-2]マイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を示す図
[図2]モデル判別式のROC曲線およびAUCを示す図
[図3]モデル判別式のROC曲線およびAUCを示す図
[図4-1]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-2]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-3]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-4]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-5]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-6]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-7]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-8]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-9]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-10]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図
[図4-11]本発明の実施において抽出された各判別式とそのAUCを示す図

発明を実施するための形態

- [0010] [イヌの癌の診断方法に含まれる各工程について]

ここでは、本発明のイヌの癌の診断方法をいくつかの工程に分けて具体的に説明するが、当該方法に含まれる各工程の順序、分離および統合などの変更は、本発明の目的を逸脱しない限りにおいて可能であるものとする。

- [0011] <ステップ1；マイクロRNAの発現解析>

サンプル（被検体）としてイヌの体液を収集し、収集した体液からマイクロRNAを抽出し、抽出したマイクロRNAについての遺伝子発現解析をおこない、マイクロRNAの発現量を検出する。

- [0012] 前記サンプルとして、健常なイヌの体液のほか、「特定の癌疾患」を含む癌に罹患しているイヌの体液を準備する。本開示の範囲内において、「特定の癌疾患」とは、診断すべき癌疾患を意味するものであってよい。

- [0013] 前記体液の例として、血清、唾液または尿などが挙げられる。好適には、

イヌの血清を用いる。

[0014] 前記「特定の癌疾患」として、イヌの癌として比較的発生頻度の高い口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫からなる群により選択することができるが、これに限定されるものでない。

[0015] 前記遺伝子発現解析の手法として、たとえば、マイクロアレイ解析または次世代シーケンス技術（NGS）などを用いることができるが、イヌの体液から抽出されるマイクロRNAの遺伝子発現を検出可能な限りにおいて、当該技術分野においてよく知られた別の手法を採用してもよい。ただし、ここで行う遺伝子発現解析は、各癌疾患と遺伝子発現量との相互関係を広く解析する必要があることから、イヌの体液から抽出されるマイクロRNAを可能な限り網羅的に解析可能な手法を採用することが望ましい。このことから、好適には、マイクロアレイ解析を用いることができる。なお、マイクロアレイ解析を含め、前記遺伝子発現解析の手法は既知であるため、ここでは詳細な説明を省略する。また、前記遺伝子発現解析は、マイクロRNAの遺伝子発現量を整理する作業も含めて、その解析結果が膨大なデータ量となるため、コンピュータに実行させることが望ましい。

[0016] <ステップ2；特定のマイクロRNAの抽出>

前記マイクロRNAの発現解析の結果に基づき、「特定の癌疾患」に罹患しているイヌと健常なイヌとの間の遺伝子発現レベルにおいて、あるいは特定の実施形態においては、特定の癌疾患に罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常なイヌとの間の遺伝子発現レベルにおいて、有意な差がみられるマイクロRNAを抽出する。ここで、抽出されるマイクロRNAの数は、抽出の手法およびその対象に依存し、これに限定されるものではないが一般に1～80種程度、好適には4～50種程度である。

[0017] 本開示の範囲内において、このようなマイクロRNAを「特定のマイクロRNA」と呼称する。

[0018] また、前記「特定の癌疾患」として、イヌの癌として比較的発生頻度の高い口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満

細胞腫からなる群により選択することができるが、これに限定されるものではない。

[0019] 前記「特定のマイクロRNA」の抽出方法として、前記マイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて統計解析処理をおこない、イヌの癌を予測するためのモデル判別式を構築し、このような判別式から「特定のマイクロRNA」を抽出する手法を採用することができる。

[0020] 前記統計解析処理の具体的な手法として、たとえば、LASSO (at least absolute shrinkage and selection operator) 回帰分析を挙げることができるが、本発明の目的を達成できる限りにおいて、これに限定されるものではない。

[0021] 特定の実施形態において、前記「特定のマイクロRNA」の抽出方法として、前記マイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいてLASSO回帰分析をおこない、イヌの癌を予測するためのモデル判別式を構築し、このような判別式から「特定のマイクロRNA」を抽出する手法を採用することができる。

[0022] LASSO回帰分析は、生成する統計モデルの予測精度と解釈可能性を向上させる回帰分析手法として知られており、前記LASSO回帰分析を用いた手法は、「特定の癌疾患」においてより特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを、後の診断工程においてバイオマーカーとして利用可能な「特定のマイクロRNA」として抽出するのに、特に好適である。

[0023] また、前記「特定のマイクロRNA」の抽出する他の手法として、前記遺伝子発現解析の結果に基づいてヒートマップ画像を生成し、「特定の癌疾患」に罹患しているイヌと健常なイヌ（場合によっては、その他の癌疾患に罹患しているイヌを含む）との間の遺伝子発現レベルにおいて、顕著な差、たとえば、2倍以上の差が認められるマイクロRNAを、コンピュータによる画像解析処理によって機械的に選定し、このようなマイクロRNAの中から、「特定のマイクロRNA」を抽出する手法を挙げることができる。ヒートマップ画像とは、遺伝子の発現量を視覚化した画像であり、使用される色彩

の種類や濃淡によって遺伝子の発現量の高低を示す。

[0024] したがって、前記「特定のマイクロRNA」を抽出する他の手法として、このようなマイクロRNAの発現解析の結果を直感的に認識可能なヒートマップ画像を生成し、さらにクラスタリング処理などを施した後に、前記LASSO回帰分析を用いた手法と組みあわせるか、あるいは前記LASSO回帰分析の前処理的にヒートマップ画像を生成する手法を採用してもよい。

[0025] さらに、前記「特定のマイクロRNA」を抽出する手法として、AIを用いた機械学習などに基づく画像解析処理によって「特定のマイクロRNA」の抽出する手法も想定され、本発明においてこれを排除するものではない。このようなAIによる画像解析処理によって、複数のマイクロRNAを組み合わせることによってのみ有意な差が認められるケースや、あるいは微差であっても有意な差が認められるケースなど、単純な閾値設定では抽出が難しいマイクロRNAの抽出が可能になることが期待される。

[0026] また、前記「特定のマイクロRNA」の抽出は、遺伝子の発現量を正確にマッピングすることが必要なヒートマップ画像の生成をおこなう場合も含め、コンピュータに実行させることが望ましい。このようなコンピュータは、本発明の実施のために別途開発されたソフトウェアをインストールしたものであってもよいし、また、前記遺伝子発現解析、たとえば、マイクロアレイ解析のために開発された市販のソフトウェアをインストールしたものであってもよい。

[0027] <ステップ3：特定のマイクロRNAを用いた診断>

診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、当該結果を用いて、前記抽出された「特定のマイクロRNA」について、その遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを診断基準として前記診断対象のイヌが、前記「特定の癌疾患」に罹患しているリスクの程度を診断する。

[0028] 診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの発現解析に用いられる手法は、前記ステップ1の遺伝子発現解析の手法と同じか、あるいは異

なってもよく、たとえば、マイクロアレイ解析を採用することができるが、これに限定されるものではない。

[0029] また、前記体液の例として、血清、唾液または尿などが挙げられるが、好適には、イヌの血清を用いる。

[0030] 前記リスクの程度とは、「その癌に罹患している／罹患していない」のいずれかによって択一的に診断が示される態様であってもよいし、また、「その癌に罹患している可能性××%」のように、多段階に診断が示される態様であってもよい。特定の実施形態において、前記リスクの程度は、「特定の癌に罹患しているリスクが、その他の癌疾患に罹患しているリスクよりも高い／低い」のような診断が示される態様を含むものであってよい。

[0031] また、本発明によれば、特定の癌疾患との特に関連性が高いとされる「特定のマイクロRNA」が予め抽出されていることから、診断対象について一般には1～80種程度、好適には4～50種程度の数の「特定のマイクロRNA」について発現解析を行うことで足り、広く網羅的な発現解析の必要がない。要するに、診断対象のイヌのマイクロRNAの遺伝子発現解析を効率よくおこなうことが可能となる結果、その診断にかかる処理負担が小さくなり、迅速かつ正確なイヌの癌の診断が可能となる。

[0032] したがって、前記診断は、コンピュータに実行されることが望ましいが、その比較的小さい処理負担から、一般家庭で利用されるパーソナルコンピュータやスマートフォン等によって実行することも可能となる。

[0033] [イヌの癌の診断に用いるためのバイオマーカーについて]

以下、本発明の実施において抽出された「特定のマイクロRNA」を、そのバイオマーカーとしての利用が想定される診断目的／用途ごとに、具体的に示す。

<5種の癌疾患の診断に用いるためのマイクロRNA>

口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種の癌疾患のいずれかに罹患しているイヌと健常なイヌとを区別するために有効なマイクロRNAとして、以下の44個のマイクロRNA

Aが抽出された：

cfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-122、cfa-miR-125a、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-22、cfa-miR-222、cfa-miR-223、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-27b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8843、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8860、cfa-miR-8903、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92b。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表1]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7c	1	MIMAT0006669	ugagguaguagguuguagguu
cfa-miR-103	2	MIMAT0006687	agcagcauuguacagggcuaga
cfa-miR-10a	3	MIMAT0006737	uaccugugauguccgaauugu
cfa-miR-122	18	MIMAT0006619	uggagugugacaauagguguuug
cfa-miR-125a	20	MIMAT0006609	ucccugagacccuuuaaccugu
cfa-miR-125b	1	MIMAT0006670	ucccugagaccuaacuuguga
cfa-miR-126	20	MIMAT0006730	cauuuuuacuuuugguacgcg
cfa-miR-130a	1	MIMAT0006631	cagugcaauuguuaaagggcac
cfa-miR-144	20	MIMAT0006734	uacaguauagauaguguacuag
cfa-miR-150	20	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguaccagug
cfa-miR-155	15	MIMAT0006671	uuaaugcuauucgugauaggggu
cfa-miR-186	18	MIMAT0006694	caaagaauucuccuuuugggcu
cfa-miR-193a	12	MIMAT0006735	ugggucuuugcgggcgagauga
cfa-miR-197	20	MIMAT0006698	uuccaccacuucuccaccacgc
cfa-miR-199	15	MIMAT0006642	acaguagucugcacauugguu
cfa-miR-19b	6	MIMAT0006652	ugugcaauccaugcaaacug
cfa-miR-22	2	MIMAT0006733	aagcugccaguugaagaacugu
cfa-miR-222	1	MIMAT0009851	agcuacaucuggcuacugggu
cfa-miR-223	1	MIMAT0009852	ugucaguuuugucaaaauacccc
cfa-miR-24	20	MIMAT0006614	uggcucaguucagcagggaacagg
cfa-miR-26a	2	MIMAT0006595	uucaaguaauccaggauaggu
cfa-miR-27b	1	MIMAT0006613	uucacaguggcuagaauucugc
cfa-miR-339	3	MIMAT0011134	ucccuguccuccaggagcu
cfa-miR-342	1	MIMAT0006709	ucucacacagaaucgcacccgu
cfa-miR-378	10	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-383	9	MIMAT0006629	agaucagaaggugauuugggcu
cfa-miR-483	20	MIMAT0009901	ucacuccuccuccuccgucuu
cfa-miR-486-3p	2	MIMAT0032036	ucggggcagcucagucaggau
cfa-miR-489	3	MIMAT0009860	gugacauacauauacggcggc
cfa-miR-551b	1	MIMAT0009913	gcgaccuauacuugguuucag
cfa-miR-660	3	MIMAT0006760	uaccuauugcauauccggaguug
cfa-miR-718	3	MIMAT0009939	cuuccgccccgccggcgccg
cfa-miR-874	2	MIMAT0009930	cugcccuggcccgagggaaccga
cfa-miR-8794	1	MIMAT0034284	ugccccaucaucagccucccagu
cfa-miR-8798	19	MIMAT0034288	ugcggucgaugcgaggccccgg
cfa-miR-8843	12	MIMAT0034336	uuguuuuuuucucucgccccgcug
cfa-miR-8859a	3	MIMAT0034354	uggaucggagccgggguccgga
cfa-miR-8860	2	MIMAT0034355	uacacuagguuuggaggaaaguggg
cfa-miR-8903	3	MIMAT0034414	ucuugggccccacccccggagacu
cfa-miR-8906	18	MIMAT0034434	uccucugcauuuggcugggacggca
cfa-miR-8907	20	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908a-3p	16	MIMAT0034429	uaauuaggaccuccugagcgagau
cfa-miR-8908d	3	MIMAT0034420	auuagcgccugacugaguggguc
cfa-miR-92b	20	MIMAT0006703	uauugcacucguccggccucc

[0034] 前記マイクロRNAは、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫

、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種の癌疾患のいずれかに罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、前記特定の癌疾患を予測するためのモデル判別式を構築し、前記5種の癌疾患に特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS全がん（5種）」）に示す。

[0035] したがって、本発明の実施において、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種、35種、36種、37種、38種、39種、40種、41種、42種、43種または44種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、前記診断対象のイヌが口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクの程度を診断することができる。

[0036] 前記「特定のマイクロRNA」には、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種の癌疾患において、健常のイヌと比較した場合に、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれる。

[0037] したがって、診断にあたっては、cfa-miR-483、cfa-miR-718、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8908a-3pおよびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-125a

、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-383、cfa-miR-489、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群の少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。

[0038] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、癌検診などで、比較的発生頻度の高い特定の癌疾患に罹患していないかを包括的に調べるのに役立ち、最もニーズが高いと考えられる。

[0039] <口腔内メラノーマの診断に用いるためのマイクロRNA>

口腔内メラノーマに罹患しているイヌと健常なイヌの診断とを区別するために有効なバイオマーカーとして、以下に示す22個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30c、cfa-miR-483、cfa-miR-489、cfa-miR-8798、cfa-miR-8816、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3p。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表2]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-miR-10a	4	MIMAT0006737	uacccugugagauccgaauuugu
cfa-miR-1185	2	MIMAT0034383	auauacagggggagacucuau
cfa-miR-125a	20	MIMAT0006609	ucccugagacccuuuaaccugu
cfa-miR-126	20	MIMAT0006730	cauuauuacuuuugguacgcg
cfa-miR-144	20	MIMAT0006734	uacaguauagaugauguacuag
cfa-miR-146a	2	MIMAT0006684	ugagaacugaauuccauggguu
cfa-miR-149	1	MIMAT0009884	ucuggcuccgugucuucacuccc
cfa-miR-150	2	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguaccagug
cfa-miR-155	4	MIMAT0006671	uuauugcuaaucgugauaggggu
cfa-miR-184	18	MIMAT0009842	uggacggagaacugauaaggggu
cfa-miR-186	2	MIMAT0006694	caaagaauucuccuuuugggcu
cfa-miR-197	20	MIMAT0006698	uucaccaccuuccaccaccagc
cfa-miR-199	16	MIMAT0006642	acaguagucugcacauugguu
cfa-miR-19b	1	MIMAT0006652	ugugcaauuccaugcaaaacug
cfa-miR-24	14	MIMAT0006614	uggcucaguucagcaggaaacagg
cfa-miR-30c	1	MIMAT0006605	uguaaacauccuacacucucagcu
cfa-miR-483	1	MIMAT0009901	ucacuccuccccucccgucuu
cfa-miR-489	1	MIMAT0009860	gugacauacauauacggcggc
cfa-miR-8798	18	MIMAT0034288	ugcggucgaugcgaggcccg
cfa-miR-8816	4	MIMAT0034306	uagaauccaggucaugugacuccc
cfa-miR-8875	1	MIMAT0034375	ugcuguagcgggaacccggggcg
cfa-miR-8908a-3p	1	MIMAT0034429	uaauuaggaccucccugagcggagu

[0040] 前記マイクロRNAは、口腔内メラノーマに罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、口腔内メラノーマを予測するためのモデル判別式を構築し、口腔内メラノーマに特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS口腔内メラノーマ」）に示す。

[0041] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種または22種すべてについてその遺伝子発現レベル

を求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、前記イヌが口腔内メラノーマに罹患しているリスクの程度を診断することができる。

[0042] 前記「特定のマイクロRNA」には、口腔内メラノーマにおいて、健常のイヌと比較した場合に、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれうる。

[0043] したがって、診断にあたっては、cfa-miR-197、cfa-miR-483、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3pからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、口腔内メラノーマに罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-miR-10a、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30cおよびcfa-miR-489からなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、口腔内メラノーマに罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。

[0044] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、癌検診などのほか、口腔内メラノーマの治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。

[0045] <尿路上皮がんの診断に用いるためのマイクロRNA>

尿路上皮がん罹患しているイヌと健常なイヌの診断とを区別するために有効なバイオマーカーとして、以下に示す41個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1249、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-1844、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-494、cfa-miR-502、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8798、cfa-miR-8824、cfa-miR-8832、cfa-

miR-8834a、cfa-miR-8843、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908a-3p。各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表3]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7f	1	MIMAT0006610	ugagguaguaguauuguauagu
cfa-miR-10a	1	MIMAT0006737	uaccugugagauccgaauuugu
cfa-miR-1249	1	MIMAT0034321	acgcccuccccccuucuuca
cfa-miR-125a	15	MIMAT0006609	uccugagagaccuuuaaccugu
cfa-miR-126	12	MIMAT0006730	cauuauuacuuuugguacgcg
cfa-miR-1306	4	MIMAT0006661	ccaccucccugcaaacgucc
cfa-miR-130a	1	MIMAT0006631	cagugcaauguuaaaagggauc
cfa-miR-133b	1	MIMAT0009835	uuuggucccucaaccagcua
cfa-miR-144	20	MIMAT0006734	uacagauagauagauacuag
cfa-miR-146a	1	MIMAT0006684	ugagaacugaaauccaggguu
cfa-miR-149	1	MIMAT0009884	ucuggcuccgugucucacucc
cfa-miR-150	3	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguaccagug
cfa-miR-155	4	MIMAT0006671	uuauugcuaaucgugauaggggu
cfa-miR-1844	9	MIMAT0006740	aggacuacggacgggcugag
cfa-miR-186	19	MIMAT0006694	caaagaauucuccuuuugggu
cfa-miR-193a	6	MIMAT0006735	ugggucuuugcggcgagauga
cfa-miR-197	20	MIMAT0006698	uucaccaccuuccaccaccagc
cfa-miR-19b	2	MIMAT0006652	ugugcaaauccaugcaaacug
cfa-miR-2114	2	MIMAT0034427	uaguccuuccuugaaggauccgc
cfa-miR-24	20	MIMAT0006614	uggcucaguuacgaggaacagg
cfa-miR-29b	4	MIMAT0006625	uagcaccuuugaaucaguguu
cfa-miR-339	2	MIMAT0011134	ucccuguccuccaggagcu
cfa-miR-342	1	MIMAT0006709	ucucacacagaaucgcaccgu
cfa-miR-361	3	MIMAT0006751	uuaucagaauuccaggguuac
cfa-miR-370	17	MIMAT0009889	gccugcuggguggaaccuggu
cfa-miR-425	16	MIMAT0006639	aaugacacgaucacuccguuga
cfa-miR-483	8	MIMAT0009901	ucacuccuccucccgucuu
cfa-miR-494	5	MIMAT0009905	ugaaacauacacgggaaccuc
cfa-miR-502	1	MIMAT0006761	aaugcaccugggcaaggauuca
cfa-miR-551b	2	MIMAT0009913	gcgaccacauacuugguuucag
cfa-miR-660	3	MIMAT0006760	uaccacauugcauacggaguug
cfa-miR-665	15	MIMAT0009934	accaggaggcuaggcccu
cfa-miR-718	2	MIMAT0009939	cuuccgccccgcccggccg
cfa-miR-8798	1	MIMAT0034288	ugcggucgaugcgaggcccg
cfa-miR-8824	1	MIMAT0034314	guuuccaucuccaccccgga
cfa-miR-8832	1	MIMAT0034325	uccagggguaggauugauugggga
cfa-miR-8834a	1	MIMAT0034327	ugccgggcuaggagcuccggg
cfa-miR-8843	4	MIMAT0034336	uuuuuuuuucucgcgcccgccg
cfa-miR-8904b	1	MIMAT0034424	uaacagcaccugcgcccggggaga
cfa-miR-8907	20	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908a-3p	3	MIMAT0034429	uaauuaggaccuccugagcgga

[0046] 前記マイクロRNAは、尿路上皮がん罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、尿路上皮がんを予測するためのモデル判別式を構築し、尿路上皮がんの特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS尿路上皮がん」）に示す。

[0047] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種、35種、36種、37種、38種、39種、40種または41種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、前記イヌが、尿路上皮がん罹患しているリスクの程度を診断することができる。

[0048] 前記「特定のマイクロRNA」には、尿路上皮がんにおいて、健常のイヌと比較して、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれる。

[0049] したがって、前記診断にあたっては、cfa-miR-483、cfa-miR-718およびcfa-miR-8908a-3pからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、尿路上皮がん罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-8832およびcfa-miR-8907からなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、尿路上皮がん罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。

[0050] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、癌検診などのほか、尿路上皮がんの治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。

[0051] <悪性リンパ腫の診断に用いるためのマイクロRNA>

悪性リンパ腫に罹患しているイヌと健常なイヌとを区別するために有効なバイオマーカーとして、以下に示す24個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-184、cfa-miR-188、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798、cfa-miR-8900、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908d。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表4]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-miR-1185	4	MIMAT0034383	auauacaggggagacucuau
cfa-miR-122	8	MIMAT0006619	uggagugugacaauugguguug
cfa-miR-1249	7	MIMAT0034321	acgcccuucccccccucuca
cfa-miR-126	15	MIMAT0006730	cauuauuacuuuugguacgcg
cfa-miR-1306	2	MIMAT0006661	ccaccuccccugcaaacgucc
cfa-miR-144	20	MIMAT0006734	uacaguauagaugauguacuag
cfa-miR-150	2	MIMAT0006602	ucucccaaccuuuguaccagug
cfa-miR-184	1	MIMAT0009842	uggacggagaacugauaagggg
cfa-miR-188	1	MIMAT0009880	caucccuugcauggugggagg
cfa-miR-197	6	MIMAT0006698	uucaccaccuuccaccaccagc
cfa-miR-199	18	MIMAT0006642	acaguagucugcacaugguu
cfa-miR-24	17	MIMAT0006614	uggcucaguucagcaggaacagg
cfa-miR-342	1	MIMAT0006709	ucucacacagaaucgcacccgu
cfa-miR-345	2	MIMAT0006710	ccugaacuaggggucuggagg
cfa-miR-378	17	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-425	2	MIMAT0006639	aaugacacgaucacucccuuga
cfa-miR-574	2	MIMAT0006673	cacgcucaugcacacaccaca
cfa-miR-8794	3	MIMAT0034284	ugccccaucaucagccucccagu
cfa-miR-8797	11	MIMAT0034287	uugccaaggacugagagcucggg
cfa-miR-8798	9	MIMAT0034288	ugcggucgaugcgaggcccccgg
cfa-miR-8900	5	MIMAT0034410	uaggacuuaauuggcuggagaga
cfa-miR-8904b	5	MIMAT0034424	uaacagcaccugcgccccggggaga
cfa-miR-8907	20	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908d	8	MIMAT0034420	auuagcgccugacugagugggguc

[0052] 前記マイクロRNAは、悪性リンパ腫に罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、悪性リンパ腫を予測するためのモデル判別式を構築し、悪性リンパ腫に特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS悪性リンパ腫」）に示す。

[0053] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種

、20種、21種、22種、23種または24種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、前記イヌが、悪性リンパ腫に罹患しているリスクの程度を診断することができる。

[0054] 前記「特定のマイクロRNA」には、悪性リンパ腫において、健常のイヌと比較して、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれる。

[0055] したがって、診断にあたっては、cfa-miR-188、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798およびcfa-miR-8904bからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、悪性リンパ腫に罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-184、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-345、cfa-miR-574、cfa-miR-8900、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、悪性リンパ腫に罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。

[0056] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、癌検診などのほか、悪性リンパ腫の治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。

[0057] <肝細胞がんの診断に用いるためのマイクロRNA>

肝細胞がん罹患しているイヌと健常なイヌとを区別するために有効なバイオマーカーとして、以下に示す28個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-7、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99a。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表5]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7g	5	MIMAT0006637	ugagguaguaguuguacaguu
cfa-miR-10a	19	MIMAT0006737	uaccugugagauccgaauugu
cfa-miR-1185	5	MIMAT0034383	auauacagggggagacucuau
cfa-miR-122	19	MIMAT0006619	uggagugugacaauugguuug
cfa-miR-125b	2	MIMAT0006670	ucccugagaccuaacuuguga
cfa-miR-150	19	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguaccagug
cfa-miR-155	1	MIMAT0006671	uuaaugcuaaucgugauaggggu
cfa-miR-197	4	MIMAT0006698	uuccaccacuuccaccaccagc
cfa-miR-199	8	MIMAT0006642	acaguagucugcacauugguu
cfa-miR-206	17	MIMAT0006606	uggaaguaaggaaguguggg
cfa-miR-22	9	MIMAT0006733	aagcugccaguugaagaacugu
cfa-miR-378	13	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-383	7	MIMAT0006629	agaucagaaggugauugggcu
cfa-miR-483	11	MIMAT0009901	ucacuccuccccucccgucuu
cfa-miR-665	18	MIMAT0009934	accaggaggcuaaggcccu
cfa-miR-7	9	MIMAT0006634	uggaagacuagugauuuuguugu
cfa-miR-718	13	MIMAT0009939	cuuccgccccgcccggcgccg
cfa-miR-874	5	MIMAT0009930	cugcccuggcccaggaccga
cfa-miR-8794	16	MIMAT0034284	ugccccaucacagccucccagu
cfa-miR-8798	5	MIMAT0034288	ugcggucgaugcgaggcccg
cfa-miR-8875	11	MIMAT0034375	ugcuguagcgaacccggggcg
cfa-miR-8900	19	MIMAT0034410	uaggacuuuauggcuggagaga
cfa-miR-8902	12	MIMAT0034412	cauccauuuuuccaccugggaaa
cfa-miR-8907	20	MIMAT0034435	ugccgauucgaagugggaaga
cfa-miR-8908a-3p	20	MIMAT0034429	uaauuaggaccuccugagcggagu
cfa-miR-8908d	1	MIMAT0034420	auuagcgccugacugagggguc
cfa-miR-92b	20	MIMAT0006703	uauugcacucgucccgccucc
cfa-miR-99a	1	MIMAT0006668	aaccguagauccgaucuugu

[0058] 前記マイクロRNAは、肝細胞がん罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、肝細胞がんを予測するためのモデル判別式を構築し、肝細胞がん特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS肝細胞がん」）に示す。

- [0059] したがって、本発明の診断工程において、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種または24種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、肝細胞がん罹患しているリスクの程度を診断することができる。
- [0060] 前記「特定のマイクロRNA」には、肝細胞がんにおいて、健常のイヌと比較して、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれる。
- [0061] したがって、診断にあたっては、たとえば、cfa-miR-122、cfa-miR-206、cfa-miR-378、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8908a-3pおよびcfa-miR-92bからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、肝細胞がん罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-miR-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-199、cfa-miR-383、cfa-miR-7、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-99aからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、肝細胞がん罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。
- [0062] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、癌検診などのほか、肝細胞がんの治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。
- [0063] <肥満細胞腫の診断に用いるためのマイクロRNA>
- 肥満細胞腫に罹患しているイヌと健常なイヌの診断とを区別するために有効なバイオマーカーとして、以下に示す17個のマイクロRNAを挙げることができる：
- cfa-miR-10b、cfa-miR-1185、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-149、cf

a-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-222、cfa-miR-24、cfa-miR-26b、cfa-miR-8803、cfa-miR-8872、cfa-miR-8903、cfa-miR-8907およびcfa-miR-92b。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表6]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-miR-10b	1	MIMAT0009837	cccuguagaaccgaauuugugu
cfa-miR-1185	8	MIMAT0034383	auauacagggggagacucuau
cfa-miR-125b	2	MIMAT0006670	ucccugagaccuaacuuguga
cfa-miR-126	1	MIMAT0006730	cauuauacuauuugguacgcg
cfa-miR-149	20	MIMAT0009884	ucuggcuccgugucuucacuccc
cfa-miR-150	20	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguuaccagug
cfa-miR-155	11	MIMAT0006671	uuauugcuauucgugauaggggu
cfa-miR-197	3	MIMAT0006698	uucaccaccuucuccaccagc
cfa-miR-199	1	MIMAT0006642	acaguagucugcacauugguu
cfa-miR-222	8	MIMAT0009851	agcuacaucuggcuacugggu
cfa-miR-24	8	MIMAT0006614	uggcucaguucagcaggaacagg
cfa-miR-26b	1	MIMAT0006678	uucaaguaauucaggauagguu
cfa-miR-8803	5	MIMAT0034293	cucagccccugauucucuagc
cfa-miR-8872	6	MIMAT0034369	uucuggguuguggcguccgaggagc
cfa-miR-8903	2	MIMAT0034414	ucuugggccccacccccggagacu
cfa-miR-8907	17	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-92b	20	MIMAT0006703	uauugcacucgucccgccucc

[0064] 前記マイクロRNAは、肥満細胞腫に罹患しているイヌと健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、肥満細胞腫を予測するためのモデル判別式を構築し、肥満細胞腫に特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「健常VS肥満細胞腫」）に示す。

[0065] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種または17種すべて

についてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、肥満細胞腫に罹患しているリスクの程度を診断することができる。

[0066] 前記「特定のマイクロRNA」には、肥満細胞腫において、健常のイヌと比較して、特に遺伝子発現レベルの高いものと、特に遺伝子発現レベルの低いものの双方が含まれうる。

[0067] したがって、診断にあたっては、cfa-miR-8803、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92bからなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、肥満細胞腫に罹患しているリスクが高いものと診断し、かつ／またはcfa-miR-126、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-199、cfa-miR-8872およびcfa-miR-8907からなる群からの少なくとも1種のマイクロRNAについて遺伝子発現レベルの高いイヌを、肥満細胞腫に罹患しているリスクが低いものと診断することが望ましい。

[0068] なお、前記「特定のマイクロRNA」を用いたイヌの癌の診断方法は、癌検診などのほか、肥満細胞腫の治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。

[0069] <口腔内メラノーマの診断のためのマイクロRNA（その他の癌疾患との区別も含む）>

口腔内メラノーマに罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常イヌとを区別するための有効なバイオマーカーとして、以下に示す35個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-126、cfa-miR-1271、cfa-miR-1306、cfa-miR-130b、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-192、cfa-miR-197、cfa-miR-222、cfa-miR-29a、cfa-miR-29b、cfa-miR-30b、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8875、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92b。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表7]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-miR-1185	2	MIMAT0034383	auauacaggggagacucuau
cfa-miR-122	14	MIMAT0006619	uggagugugacaauugguguug
cfa-miR-126	20	MIMAT0006730	cauuauuacuuuugguacgcg
cfa-miR-1271	1	MIMAT0006685	cuuggcaccuaguaagcacu
cfa-miR-1306	1	MIMAT0006661	ccaccucccugcaaacgucc
cfa-miR-130b	12	MIMAT0006659	cagugcaaugaugaaagggcau
cfa-miR-140	6	MIMAT0006689	accacaggguaagaaccacgga
cfa-miR-144	1	MIMAT0006734	uacaguauaugauguacuag
cfa-miR-146a	13	MIMAT0006684	ugagaacugaaauccauggguu
cfa-miR-150	1	MIMAT0006602	ucucccaaccuuguaccagug
cfa-miR-155	1	MIMAT0006671	uuauugcuaaucgugauaggggu
cfa-miR-192	1	MIMAT0006632	cugaccuauaauugacagcc
cfa-miR-197	8	MIMAT0006698	uucaccaccuuccaccaccgc
cfa-miR-222	17	MIMAT0009851	agcuacaucuggcuacuggggu
cfa-miR-29a	3	MIMAT0006626	uagcaccaucugaaucggguu
cfa-miR-29b	20	MIMAT0006625	uagcaccauuugaaucaguguu
cfa-miR-30b	1	MIMAT0006617	uguuaacauccuacacucagcu
cfa-miR-370	5	MIMAT0009889	gccugcugggguggaaccuggu
cfa-miR-378	1	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-486	3	MIMAT0011132	uccuguacugagcugccccga
cfa-miR-486-3p	3	MIMAT0032036	ucggggcagcucaguacaggau
cfa-miR-489	1	MIMAT0009860	gugacaucauauacggcggc
cfa-miR-494	9	MIMAT0009905	ugaaacauacacgggaaaccuc
cfa-miR-532	13	MIMAT0006758	caugccuugaguguaggaccgu
cfa-miR-551b	1	MIMAT0009913	gcgaccuauacuugguuucag
cfa-miR-660	8	MIMAT0006760	uaccuauugcauauccgaguuug
cfa-miR-8803	1	MIMAT0034293	cucagcccugauucucuagc
cfa-miR-8816	20	MIMAT0034306	uagaauccagggucaugugacucc
cfa-miR-8824	1	MIMAT0034314	guuuccaucuccacccccggca
cfa-miR-8834b	3	MIMAT0034431	uggaugcucagucagcggggugcu
cfa-miR-8859a	1	MIMAT0034354	uggaucggagccgggguccgga
cfa-miR-8875	5	MIMAT0034375	ugcuguagcgggaacccggggcgcc
cfa-miR-8907	12	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908d	19	MIMAT0034420	auuagcgccugacugaguggguc
cfa-miR-92b	5	MIMAT0006703	uauugcacucguccggccucc

[0070] 前記マイクロRNAは、口腔内メラノーマに罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患してるイヌおよび健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した

統計解析処理により、口腔内メラノーマを予測するためのモデル判別式を構築し、口腔内メラノーマに特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「口腔内メラノーマVSその他」）に示す。

[0071] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種または35種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、口腔内メラノーマに罹患しているリスクの程度を診断することができる。この診断には、口腔内メラノーマに罹患しているリスクが、その他の癌疾患、たとえば、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクよりも高いのか、あるいは低いのか、の判別を含むものであってよい。

[0072] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの診断は、口腔内メラノーマとその他の癌疾患との判別も可能となるため、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズがあると考えられる。

[0073] <尿路上皮がんの診断のためのマイクロRNA（その他の癌疾患との区別も含む）>

尿路上皮がん罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常イヌとを区別するため有効なバイオマーカーとして、以下に示す43個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7b、cfa-miR-107、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-181a、cfa-miR-185、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-mi

R-19b、cfa-miR-23a、cfa-miR-29c、cfa-miR-345、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8860、cfa-miR-8873a、cfa-miR-8891、cfa-miR-8903、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92b、cfa-miR-93およびcfa-miR-99a。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表8]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7b	3	MIMAT0009836	ugagguaguagguuguguguu
cfa-miR-107	6	MIMAT0006666	agcagcauuguacagggcuau
cfa-miR-10b	2	MIMAT0009837	cccuguagaaccgaauuugugu
cfa-miR-122	17	MIMAT0006619	uggagugugacaauugguuuug
cfa-miR-125b	10	MIMAT0006670	ucccugagaccuaacuuguga
cfa-miR-1306	1	MIMAT0006661	ccaccucccugcaaacgucc
cfa-miR-130a	3	MIMAT0006631	cagugcaauguuaaaagggcau
cfa-miR-133b	12	MIMAT0009835	uuugguccccuucaaccagcua
cfa-miR-144	1	MIMAT0006734	uacaguauagauauguacuag
cfa-miR-146a	1	MIMAT0006684	ugagaacugaaauccauggguu
cfa-miR-149	19	MIMAT0009884	ucuggcuccgugucuucacuccc
cfa-miR-181a	1	MIMAT0006707	aacauucaacgcugucggugag
cfa-miR-185	2	MIMAT0006660	uggagagaaaggcaguuccuga
cfa-miR-193a	2	MIMAT0006735	ugggucuuugcgggcgagauga
cfa-miR-197	19	MIMAT0006698	uucaccaccuuccaccaccgc
cfa-miR-19b	9	MIMAT0006652	ugugcaaauccaugcaaacug
cfa-miR-23a	16	MIMAT0006640	aucacauugccagggauuu
cfa-miR-29c	2	MIMAT0006705	uagcaccuuugaaaucgguaa
cfa-miR-345	2	MIMAT0006710	ccugaacuaggggucuggagg
cfa-miR-361	7	MIMAT0006751	uuaucaagaucuccagggguac
cfa-miR-370	20	MIMAT0009889	gccugcugggguggaaccuggu
cfa-miR-378	20	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-425	11	MIMAT0006639	aaugacacgaucacucccguaa
cfa-miR-486	9	MIMAT0011132	uccuguaucugagcugccccga
cfa-miR-486-3p	13	MIMAT0032036	ucggggcagcucaguacaggau
cfa-miR-494	3	MIMAT0009905	ugaacauacacgggaaccuc
cfa-miR-532	12	MIMAT0006758	caugccuugaguguaggaccgu
cfa-miR-551b	2	MIMAT0009913	gcgaccacauacuugguuucag
cfa-miR-660	1	MIMAT0006760	uaccacauugcauucggaguug
cfa-miR-8794	1	MIMAT0034284	ugccccaucaucagccucccagu
cfa-miR-8803	1	MIMAT0034293	cucagcccccugauucucuagc
cfa-miR-8816	3	MIMAT0034306	uagaauccaggucaugugacuccc
cfa-miR-8834b	20	MIMAT0034431	uggaugcucagucagcgggggugcu
cfa-miR-8860	1	MIMAT0034355	uacacuagguuuggaggaaagugg
cfa-miR-8873a	1	MIMAT0034373	uccugaaggcagugggguguagc
cfa-miR-8891	2	MIMAT0034398	uaccaguuucggggucgccuggu
cfa-miR-8903	12	MIMAT0034414	ucuugggccccacccccggagacu
cfa-miR-8904b	12	MIMAT0034424	uacagcaccugcgccccgggaga
cfa-miR-8907	20	MIMAT0034435	ugccgauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908d	3	MIMAT0034420	auuagcgccugacugaguggguc
cfa-miR-92b	1	MIMAT0006703	uauugcacucguccggccucc
cfa-miR-93	1	MIMAT0006696	caaagugcuguucgugcagguag
cfa-miR-99a	5	MIMAT0006668	aaccguagauccgaucuugu

[0074] 前記マイクロRNAは、尿路上皮がん罹患しているイヌ、その他の癌疾

患に罹患してるイヌおよび健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、尿路上皮がんを予測するためのモデル判別式を構築し、尿路上皮がんの特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「尿路上皮がんVSその他」）に示す。

[0075] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種、35種、36種、37種、38種、39種、40種、41種、42種または43種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として、尿路上皮がん罹患しているリスクの程度を診断することができる。この診断には、尿路上皮がん罹患しているリスクが、その他の癌疾患、たとえば、口腔内メラノーマ、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクよりも高いのか、あるいは低いのか、の判別を含むものであってよい。

[0076] 前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、尿路上皮がんとその他の癌疾患との判別も可能となるため、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズがあると考えられる。

[0077] <悪性リンパ腫の診断のためのマイクロRNA（その他の癌疾患との区別も含む）>

悪性リンパ腫に罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常イヌとを区別するための有効なバイオマーカーとして、以下に示す42個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7f、cfa-miR-122、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-151、cfa-miR-15a、cfa-miR-181a、cfa-miR-1844、cfa-miR-188、cfa-miR-192、cfa-miR-193a、cfa-miR-21、cfa-miR-22、cfa-miR-23b、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-26b、cfa-miR-27b、cfa-miR-301a、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8809、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8863、cfa-miR-8872、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908d。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表9]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7f	1	MIMAT0006610	ugagguaguagauuguauaguu
cfa-miR-122	4	MIMAT0006619	uggagugugacaauggguuuug
cfa-miR-1306	7	MIMAT0006661	ccaccuccccugcaaacgucc
cfa-miR-130a	11	MIMAT0006631	cagugcaauguuaaaagggcgu
cfa-miR-140	2	MIMAT0006689	accacaggguaagaaccacgga
cfa-miR-144	15	MIMAT0006734	uacaguauagaugauguacuag
cfa-miR-146a	4	MIMAT0006684	ugagaacugaauuccauggguu
cfa-miR-151	17	MIMAT0006615	ucgaggagcucacagucuagu
cfa-miR-15a	2	MIMAT0006647	uagcagcacauaaugguuugu
cfa-miR-181a	1	MIMAT0006707	aacauucaacgcugucggugag
cfa-miR-1844	11	MIMAT0006740	aggacuacggacgggcugag
cfa-miR-188	1	MIMAT0009880	caucccuugcaugguggaggggu
cfa-miR-192	1	MIMAT0006632	cugaccuaugaauugacagcc
cfa-miR-193a	20	MIMAT0006735	ugggucuuugcgggcgagauga
cfa-miR-21	3	MIMAT0006741	uagcuuauacagacugauguuga
cfa-miR-22	1	MIMAT0006733	aagcugccaguugaagaacugu
cfa-miR-23b	10	MIMAT0006612	aucacauugccagggaauua
cfa-miR-24	6	MIMAT0006614	uggcucaguucagcaggaacagg
cfa-miR-26a	1	MIMAT0006595	uucaguaauccaggauaggcu
cfa-miR-26b	1	MIMAT0006678	uucaguaauccaggauagggu
cfa-miR-27b	1	MIMAT0006613	uucacaguggcuagaauucugc
cfa-miR-301a	1	MIMAT0009853	cagugcaauaguauugucaaagc
cfa-miR-339	4	MIMAT0011134	ucccuguccuccaggagcu
cfa-miR-342	13	MIMAT0006709	ucucacacagaaucgcacccgu
cfa-miR-345	2	MIMAT0006710	ccugaacuaggggucuggagg
cfa-miR-378	20	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-486	6	MIMAT0011132	uccuguacugagcugccccga
cfa-miR-486-3p	8	MIMAT0032036	ucggggcagcucaguacaggau
cfa-miR-551b	3	MIMAT0009913	gcgaccacauacuugguuucag
cfa-miR-574	10	MIMAT0006673	cacgcucaugcacacaccaca
cfa-miR-631	11	MIMAT0009922	gaccuggcccagaccucagc
cfa-miR-8794	19	MIMAT0034284	ugccccaucaucagccucccagu
cfa-miR-8803	1	MIMAT0034293	cucagccccugauucucuagc
cfa-miR-8809	6	MIMAT0034299	ucauuggcugagcccgaaccggg
cfa-miR-8836	3	MIMAT0034329	aggaaaggagaagggccaca
cfa-miR-8843	13	MIMAT0034336	uuguuuuuuucucucgcccggccug
cfa-miR-8863	7	MIMAT0034360	uccagaccaccugggaguuggagc
cfa-miR-8872	1	MIMAT0034369	uucuggguuguggcugccaggagc
cfa-miR-8904b	14	MIMAT0034424	uaacagcaccugcggccggggaga
cfa-miR-8906	3	MIMAT0034434	ucccugcauuuggcugggacggca
cfa-miR-8907	4	MIMAT0034435	ugccgaauucugaagugggaaga
cfa-miR-8908d	11	MIMAT0034420	auuagcgccugacugagugggguc

[0078] 前記マイクロRNAは、悪性リンパ腫に罹患しているイヌ、その他の癌疾

患に罹患してるイヌおよび健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、悪性リンパ腫を予測するためのモデル判別式を構築し、悪性リンパ腫に特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「悪性リンパ腫VSその他」）に示す。

[0079] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種、35種、36種、37種、38種、39種、40種、41種または42種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として悪性リンパ腫に罹患しているリスクの程度を診断することができる。この診断には、悪性リンパ腫に罹患しているリスクが、その他の癌疾患、たとえば、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、肝細胞がんおよび肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクよりも高いのか、あるいは低いのか、の判別を含むものであってよい。

[0080] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、悪性リンパ腫とその他の癌疾患との判別も可能となるため、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズが存在すると考えられる。

[0081] <肝細胞がんの診断のためのマイクロRNA（その他の癌疾患との区別も含む）>

肝細胞がん罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常イヌとを区別するための有効なバイオマーカーとして、以下に示す40個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7b、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-let-7g、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-132、cfa-miR-134、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-16、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-223、cfa-miR-29a、cfa-miR-30d、cfa-miR-331、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8815、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8860、cfa-miR-8892、cfa-miR-8900、cfa-miR-8903、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99a。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表10]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7b	1	MIMAT0009836	ugagguaguagguugugugguu
cfa-let-7c	2	MIMAT0006669	ugagguaguagguuguaugguu
cfa-let-7f	10	MIMAT0006610	ugagguaguagauuguauaguu
cfa-let-7g	1	MIMAT0006637	ugagguaguaguuuguacaguu
cfa-miR-10b	2	MIMAT0009837	cccuguagaaccgaauuugugu
cfa-miR-122	20	MIMAT0006619	uggagugugacaaugguguuug
cfa-miR-1249	2	MIMAT0034321	acgcccuuccccccuucuca
cfa-miR-132	6	MIMAT0006732	uaacagucuacagccauggucgc
cfa-miR-134	3	MIMAT0009883	ugugacugguugaccagagggg
cfa-miR-146a	4	MIMAT0006684	ugagaacugaauuccauggguu
cfa-miR-150	20	MIMAT0006602	ucucccaaccuuuguaccagug
cfa-miR-155	1	MIMAT0006671	uaaaugcuaaucgugauaggggu
cfa-miR-16	1	MIMAT0006648	uagcagcacguaaauauuggcg
cfa-miR-206	20	MIMAT0006606	uggaauguaaggaagugugugg
cfa-miR-22	19	MIMAT0006733	aagcugccaguuagaacuguu
cfa-miR-223	1	MIMAT0009852	ugucaguuugucaaauacccc
cfa-miR-29a	2	MIMAT0006626	uagcaccaucugaaaucgguaa
cfa-miR-30d	3	MIMAT0006616	uguaaacaucucccgacuggaagcu
cfa-miR-331	1	MIMAT0009895	gccccuggggccuauccuagaa
cfa-miR-378	3	MIMAT0006683	acuggacuuggagucagaaggc
cfa-miR-425	1	MIMAT0006639	aaugacacgaucacucccguaa
cfa-miR-483	20	MIMAT0009901	ucacuccuccccucccgucuu
cfa-miR-486-3p	1	MIMAT0032036	ucggggcagcucagucaggau
cfa-miR-494	3	MIMAT0009905	ugaaacauacacgggaaaccuc
cfa-miR-532	9	MIMAT0006758	caugccuugagugagaggaccgu
cfa-miR-574	4	MIMAT0006673	cacgcucaugcacacaccaca
cfa-miR-8794	10	MIMAT0034284	ugccccaucaucagccucccagu
cfa-miR-8815	2	MIMAT0034305	ugccaguggccugcgggggacgg
cfa-miR-8824	5	MIMAT0034314	guuuccaucuccacccccggca
cfa-miR-8834b	9	MIMAT0034431	uggaugcucagucagcgggggugcu
cfa-miR-8836	1	MIMAT0034329	aggaaaggagaagggccaca
cfa-miR-8843	1	MIMAT0034336	uuguuuuuuucucgccccgccug
cfa-miR-8860	1	MIMAT0034355	uacacuagguuuggaggaaaguggg
cfa-miR-8892	1	MIMAT0034399	uagucuguagccccggccccgaau
cfa-miR-8900	5	MIMAT0034410	uaggacuuuauggcugagagaga
cfa-miR-8903	1	MIMAT0034414	ucuuggggccccacccccggagacu
cfa-miR-8908a-3p	17	MIMAT0034429	uaauuaggaccucccugagcggagu
cfa-miR-8908d	6	MIMAT0034420	auuagcgccugacugagugggguc
cfa-miR-92b	18	MIMAT0006703	uauugcacucgucccgccucc
cfa-miR-99a	1	MIMAT0006668	aaccguagaucggaucuuugu

[0082] 前記マイクロRNAは、肝細胞がん罹患しているイヌ、その他の癌疾患

に罹患してるイヌおよび健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、肝細胞がんを予測するためのモデル判別式を構築し、肝細胞がんの特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「肝細胞がんVSその他」）に示す。

[0083] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種、29種、30種、31種、32種、33種、34種、35種、36種、37種、38種、39種または40種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として肝細胞がん罹患しているリスクの程度を診断することができる。この診断には、肝細胞がん罹患しているリスクが、その他の癌疾患、たとえば、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫および肥満細胞腫のいずれかに罹患しているリスクよりも高いのか、あるいは低いのか、の判別を含むものであってよい。

[0084] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、肝細胞がんとその他の癌疾患との判別も可能となるため、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズがあると考えられる。

[0085] <肥満細胞腫の診断のためのマイクロRNA（その他の癌疾患との区別も含む）>

肥満細胞腫に罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常イヌとを区別するための有効なバイオマーカーとして、以下に示す29個のマイクロRNAを挙げることができる：

cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-149、cfa-miR-186、cfa-miR-188、cfa-miR-18a、cfa-mi

R-191、cfa-miR-221、cfa-miR-223、cfa-miR-301a、cfa-miR-30c、cfa-miR-342、cfa-miR-370、cfa-miR-451、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8809、cfa-miR-8815、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92b。

各マイクロRNAの頻度および塩基配列を以下に示す；

[表11]

miRNA	頻度	Accession No.	Seq
cfa-let-7c	1	MIMAT0006669	ugagguaguagguuguagguu
cfa-let-7f	9	MIMAT0006610	ugagguaguagauuguauaguu
cfa-miR-10a	1	MIMAT0006737	uaccugugagauccgaauugu
cfa-miR-1306	9	MIMAT0006661	ccaccucccugcaaacgucc
cfa-miR-130a	2	MIMAT0006631	cagugcaauguuaaaagggcau
cfa-miR-144	13	MIMAT0006734	uacagauagauagauacuag
cfa-miR-149	1	MIMAT0009884	ucuggcuccgugucuucacucc
cfa-miR-186	1	MIMAT0006694	caaagaauucuccuuuugggcu
cfa-miR-188	9	MIMAT0009880	caucccuugcaugguggagggg
cfa-miR-18a	1	MIMAT0009832	uaaggugcaucuagugcagaua
cfa-miR-191	1	MIMAT0006638	caacggaaucccaaaagcagcu
cfa-miR-221	4	MIMAT0006757	agcuacauugucugcugguuu
cfa-miR-223	1	MIMAT0009852	ugucaguuugucaaaacc
cfa-miR-301a	9	MIMAT0009853	cagugcaauaguauugucaaagc
cfa-miR-30c	1	MIMAT0006605	uguaaacaucacacucacagcu
cfa-miR-342	7	MIMAT0006709	ucucacacagaaucgcacccgu
cfa-miR-370	1	MIMAT0009889	gccugcugggguggaaccuggu
cfa-miR-451	1	MIMAT0009870	aaaccguuaccuuacugaguu
cfa-miR-486-3p	2	MIMAT0032036	ucggggcagcucaguacaggau
cfa-miR-551b	1	MIMAT0009913	gcgaccacauacuugguuucag
cfa-miR-574	5	MIMAT0006673	cacgcucaugcacacaccaca
cfa-miR-631	1	MIMAT0009922	gaccuggcccagaccucagc
cfa-miR-8809	18	MIMAT0034299	ucauuggcugagcccgaaccggg
cfa-miR-8815	14	MIMAT0034305	ugccaguggccugcgggggacgg
cfa-miR-8816	12	MIMAT0034306	uagaauccaggucaugugacucc
cfa-miR-8834a	18	MIMAT0034327	ugccgggcccuggagcuccggg
cfa-miR-8834b	2	MIMAT0034431	uggaugcucagucagcggggugcu
cfa-miR-8903	12	MIMAT0034414	ucuugggccccaccccgagacu
cfa-miR-92b	20	MIMAT0006703	uauugcacucguccggccucc

[0086] 前記マイクロRNAは、肥満細胞腫に罹患しているイヌ、その他の癌疾患

に罹患してるイヌおよび健常なイヌからそれぞれ抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、LASSO回帰分析を利用した統計解析処理により、肥満細胞腫を予測するためのモデル判別式を構築し、肥満細胞腫に特徴的および／または頻度の高いマイクロRNAを含むものとして選出された上位20の判別式に含まれるマイクロRNAである。前記判別式とそれらの判別能を示すAUCを図4（「肥満細胞腫VSその他」）に示す。

[0087] したがって、本発明によれば、診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を新たに取得し、前記マイクロRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、11種、12種、13種、14種、15種、16種、17種、18種、19種、20種、21種、22種、23種、24種、25種、26種、27種、28種または29種すべてについてその遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを基準として肥満細胞腫に罹患しているリスクの程度を診断することができる。この診断には、肥満細胞腫に罹患しているリスクが、その他の癌疾患、たとえば、口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫および肝細胞がんのいずれかに罹患しているリスクよりも高いのか、あるいは低いのか、の判別を含むものであってよい。

[0088] なお、前記「特定のマイクロRNA」をバイオマーカーとして用いたイヌの癌の診断は、肥満細胞腫とその他の癌疾患との判別も可能となるため、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズがあると考えられる。

実施例

[0089] 以下、本発明を実施例等によりさらに具体的に説明するが、これに限定されるものではない。

[0090] 1. 血清サンプルの調製

(A) 健常なイヌ40個体、(B) 口腔内メラノーマに罹患しているイヌ40個体、(C) 尿路上皮がん罹患しているイヌ40個体、(D) 悪性リンパ腫に罹患しているイヌ40個体、(E) 肝細胞がん罹患しているイヌ31個体、および(F) 肥満細胞腫に罹患しているイヌ33個体の計224

個体から採取した血液を、採血管に入れ、室温で30分静置して血液を凝固させた。凝固確認後、管壁から血餅をスパーテルなどで剥がし、遠心条件：1, 500×g／30分、回転半径12cm、3, 500rpmで遠心による血清分離をおこなった。上清の血清を、凍結チューブ（Eppendorf社：DNA LoBind Tubes #0030 108, 051）に0.5mLずつ分注し、速やかに-80℃で凍結保存した。

[0091] 2. 血清からのマイクロRNAの抽出

以下の手順により、前記血清からマイクロRNAを抽出した：

- (1) 2.0mLチューブ（Eppendorf社：DNA LoBind Tubes #0030 120, 094）に200μLの血清を入れた。
- (2) 1mL（血清の5倍量）のQIAzol Lysis Reagent（QIAGEN社：RNase Mini Kit #5546994）を加えてボルテックス後、5分静置した。
- (3) 200μLのクロロホルムを加えて15秒ボルテックスした。
- (4) 2分静置後、4℃に冷却した遠心機で12,000×g／15分の遠心分離をおこなった。
- (5) 上清600μLを新しい2.0mLチューブに移し、これに900μLの100%エタノールを加え懸濁した。
- (6) (5)で混和した溶液500μLを、コレクションチューブにセットされたRNase Mini スピнкаラム（QIAGEN社：RNase Mini Kit #5546994）に入れ、室温に戻した遠心機で、8,000×g／15秒でさらに遠心分離をおこなった。
- (7) カラム溶出液を取り除いた。
- (8) (5)で混和した溶液を、(6)と同様に遠心し、残りの溶液をすべてスピнкаラムにかけた。
- (9) 700μLのRWT溶液をカラムに添加して、8,000×g／15秒遠心分離をおこなった。
- (10) 500μLのRPE溶液をカラムに添加して、8,000×g／1

5秒遠心分離をおこなった。

(11) (10) をもう一度繰り返した。

(12) スピncラムを新しいコレクションチューブにセットして、12,000×g、2分遠心分離をおこなった。

(13) スピncラムを新しい1.5mLチューブにセットして、30～50μLのRNase H₂Oを加えて1分間静置した。

(14) スピncラムを8,000×g、15秒遠心分離をおこなって、RNAを含む溶液を溶出した。

(15) RNAを含む溶液(カラム溶出液)を回収して、同じカラムに入れて1分間静置した。

(16) スピncラムを8,000×g、1分遠心分離してRNAを回収した。

[0092] 3. 回収したRNAの測定

Agilent RNA 6000 pico kit (Agilent Tech #5067-1513) を用いて付属のゲルをスピncフィルターで濾過した。付属のラダーマーカーについては予め70℃、10分の熱変性処理をおこなった。測定対象のRNAについても同様に70℃で、2分の熱変性処理をおこなった。前記濾過したゲル65μLに対してRNA Dyeを1μL加え、激しく振とうさせた後、13,000×g/10分室温で遠心分離をおこなった。チップを専用のホルダーにセットし、ゲルを注入した後、製品説明書にしたがい、コンディショニング溶液、蛍光マーカー、ラダーマーカーを順に注入した。最後に、チップのサンプル用のウェルに加えてボルトックスミキサで混和し、Agilent 2100 バイオアナライザーで測定対象のRNAを測定した。

[0093] 4. マイクロアレイ解析

引き続き、得られたマイクロRNAの発現量を検出するため、以下の手順でマイクロアレイ解析をおこなった。

(1) クラスタリング処理

イヌのマイクロRNAとして登録されている既知のマイクロRNA 453個に基づいてサンプル全体の階層的クラスタリング処理をおこない、各サンプルの類似度を比較し、発現値の近いものを近くに配置した。ヒートマップ画像は、マイクロRNAの遺伝子発現量の高低を示し、濃淡が薄いほど遺伝子発現量が低く、濃淡が濃いほど遺伝子発現量が高いことを示す。なお、前記クラスタリング処理は、発現する遺伝子の多さや発現量の違いが強調されるManhattan距離を採用した。

(2) 主成分分析

さらに、著しく発現傾向の異なるサンプルを除外するために、全224サンプルについて主成分分析(PCA)をおこなった。サンプル全体のPCA結果は、第1主成分30.5%、第2主成分9.48%、第3主成分5.88%であった。他のサンプルと距離が離れ過ぎた15サンプルについて除外し、残りの209サンプルを引き続いての解析に用いた。

(3) グループ間の発現量比較

209サンプルにおいて発現が検出されたのは、既知のマイクロRNA 453個のうち121個であった。したがって、特定の癌疾患に罹患するイヌと健常イヌとのグループ間で、さらには特定の癌疾患に罹患するイヌとその他の癌疾患に罹患するイヌおよび健常イヌとのグループ間で、マイクロアレイ解析により、前記121個のマイクロRNAについての発現量の比較をおこなった。特定の癌疾患に罹患するイヌにおいてその発現が上昇しているマイクロRNAと、反対に発現が減少しているマイクロRNAなど、個々のマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果が得られた。当該結果を図1に示す。

[0094] 5. モデル判別式の作成

前記マイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づき、それぞれ判別すべきグループ間でLASSO回帰分析による解析をおこない、モデル判別式を導き出した。

前記判別式は、診断の目的に応じた、以下の3つのパターンに基づいて作成した。

(1) パターン A

健常と特定の癌疾患との判別が可能な特定のマイクロRNAを選定する。このようなマイクロRNAを利用した診断は、特定の癌の治療後の再発をモニターするなどのニーズがあると考えられる。

(2) パターン B

健常と比較的発生頻度の高い5種の癌疾患との判別が可能な特定のマイクロRNAを選定する。このようなマイクロRNAを利用した診断は、癌検診などで、比較的発生頻度の高い5種の癌疾患に罹患していないかを包括的に調べるのに役立ち、最もニーズの高いものと考えられる。

(3) パターン C

特定の癌疾患と、その他の癌疾患および健常との判別が可能な特定のマイクロRNAを選定する。このようなマイクロRNAを利用した診断は、特定の癌疾患を、健常のみならず判別の難しいその他の癌と区別することを可能とし、最も難易度が高いとされるものの一定のニーズがあると考えられる。

[0095] LASSO回帰分析は、具体的には以下の手順によりおこなった。

(1) データセットとして学習群：検証群＝8：2で群間の特徴的なマイクロRNA発現を表す計算式を組み立てた。

(2) 学習群のデータを用いて10回にわたり交差検定をおこない、モデルを作成した。

(3) 検証群のデータを用いて、モデルのAUC、感度、特異度、カットオフ値などの評価値を算出した。

(4) モデルに基づいた計算を20回繰り返し、感度および特異度をプロットしたROC曲線を作成して、当該ROC曲線下の面積「AUC」を算出した。

(5) 「AUC」の高い順から分類し、上位20の判別式を選別した。

[0096] 前記LASSO回帰分析において作成された判別式のROC曲線とAUCを示す図を、図2および図3に示す。図2および図3はそれぞれ、縦軸を感度、横軸を特異度とし、その診断目的／用途ごとにそれぞれ一の判別式を選

出し、典型例として示すものである。ROC曲線下の面積に相当する「AUC」が「1」に近いほど判別能が高いことを示し、一般には「0.7」以上で判別能あり、と評価される。図2に示す前記パターンAおよびパターンBに相当するグループの判別式では、いずれのグループ間でも、その多くが1.00の「AUC」に達し、極めて高い判別能を示すことがわかる。

[0097] 一方、判別が難しいとされる図3のパターンCに相当する判別式では、抽出されるマイクロRNAの数が増えるにつれて「AUC」の値が若干低くなるものの、依然としてその大部分が0.9を上回る高い「AUC」を示し、バイオマーカーとして利用する際に十分な判別能を示すことが明らかとなった。

[0098] これらの結果は、本発明の実施により抽出された特定のマイクロRNAが、「特定の癌疾患」に対して高い判別能を示し、よって、イヌの癌の診断にバイオマーカーとして利用可能であることを示している。

産業上の利用可能性

[0099] 本発明のイヌの癌の診断方法は、イヌの癌の早期診断および早期治療に利用可能である。

請求の範囲

- [請求項1] 診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を取得し、当該結果を用いて、特定のマイクロRNAについての遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを診断基準として、当該診断対象のイヌが特定の癌疾患に罹患しているリスクの程度を診断する、診断工程を含む、イヌの癌の診断方法であって、前記特定のマイクロRNAは、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、前記特定の癌疾患に罹患しているイヌと健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAであることを特徴とする、イヌの癌の診断方法。
- [請求項2] 前記診断工程の前に、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、特定の癌疾患に罹患しているイヌと健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAを、統計解析処理を用いて作成された判別式に基づき、特定のマイクロRNAとして抽出する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫からなる群より選択される、請求項1または2に記載の方法。
- [請求項4] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種の癌疾患であって、前記特定のマイクロRNAがcfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-122、cfa-miR-125a、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-22、cfa-miR-222、cfa-miR-223、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-27b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-mi

R-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8843、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8860、cfa-miR-8903、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項5]

前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマであって、
前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30c、cfa-miR-483、cfa-miR-489、cfa-miR-8798、cfa-miR-8816、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項6]

前記特定の癌疾患が尿路上皮がんであって、
前記特定のマイクロRNAが、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1249、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-1844、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-494、cfa-miR-502、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8798、cfa-miR-8824、cfa-miR-8832、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8843、cfa-miR-8904bおよびcfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項7]

前記特定の癌疾患が悪性リンパ腫であって、
前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-

-1249、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-184、cfa-miR-188、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798、cfa-miR-8900、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項8]

前記特定の癌疾患が肝細胞がんであって、
前記特定のマイクロRNAが、cfa-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-185、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-7、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項9]

前記特定の癌疾患が肥満細胞腫であって、
前記特定のマイクロRNAが、cfa-miR-10b、cfa-miR-1185、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-222、cfa-miR-24、cfa-miR-26b、cfa-miR-8803、cfa-miR-8872、cfa-miR-8903、cfa-miR-8907およびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項1から3までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項10]

診断対象のイヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果を取得し、当該結果を用いて、特定のマイクロRNAについての遺伝子発現レベルを求め、当該遺伝子発現レベルを診断基準として、当該診断対象のイヌが特定の癌疾患に罹患しているリスクの程

度を診断する、診断工程を含む、イヌの癌の診断方法であって、前記特定のマイクロRNAは、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、前記特定の癌疾患に罹患しているイヌと、その他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAであることを特徴とする、イヌの癌の診断方法。

[請求項11] 前記診断工程の前に、イヌの体液から抽出されたマイクロRNAの遺伝子発現解析の結果に基づいて、特定の癌疾患に罹患しているイヌとその他の癌疾患に罹患しているイヌおよび健常なイヌとの間での遺伝子発現レベルにおいて有意な差が認められるマイクロRNAを、統計解析処理を用いて作成された判別式に基づき、特定のマイクロRNAとして抽出する工程をさらに含む、請求項10に記載の方法。

[請求項12] 前記診断工程において、前記診断対象のイヌが前記特定の癌疾患に罹患しているリスクの程度は、その他の癌疾患に罹患しているリスクよりも高いか、あるいは低いことを含む、請求項10に記載の方法。

[請求項13] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫からなる群より選択される、請求項10から12までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項14] 前記特定の癌疾患が口腔内メラノーマであって、前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-126、cfa-miR-1271、cfa-miR-1306、cfa-miR-130b、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-192、cfa-miR-197、cfa-miR-222、cfa-miR-29a、cfa-miR-29b、cfa-miR-30b、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8875、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なく

とも1種である、請求項10から13までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項15] 前記特定の癌疾患が尿路上皮がんであり、
前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7b、cfa-miR-107、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-181a、cfa-miR-185、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-23a、cfa-miR-29c、cfa-miR-345、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8860、cfa-miR-8873a、cfa-miR-8891、cfa-miR-8903、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92b、cfa-miR-93およびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種である、請求項10から13までのいずれか1項に記載の方法。

[請求項16] 前記特定の癌疾患が悪性リンパ腫であり、
前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7f、cfa-miR-122、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-151、cfa-miR-15a、cfa-miR-181a、cfa-miR-1844、cfa-miR-188、cfa-miR-192、cfa-miR-193a、cfa-miR-21、cfa-miR-22、cfa-miR-23b、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-26b、cfa-miR-27b、cfa-miR-301a、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8809、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8863、cfa-miR-8872、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択された少なくとも1種である、請求項10から13までのいずれか1項に記載の方法。

- [請求項17] 前記特定の癌疾患が肝細胞がんであり、
前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7b、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-let-7g、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-132、cfa-miR-134、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-16、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-223、cfa-miR-29a、cfa-miR-30d、cfa-miR-331、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8815、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8860、cfa-miR-8892、cfa-miR-8900、cfa-miR-8903、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種である、請求項10から13までのいずれか1項に記載の方法。
- [請求項18] 前記特定の癌疾患が肥満細胞腫であり、
前記診断において使用される特定のマイクロRNAが、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-149、cfa-miR-186、cfa-miR-188、cfa-miR-18a、cfa-miR-191、cfa-miR-221、cfa-miR-223、cfa-miR-301a、cfa-miR-30c、cfa-miR-342、cfa-miR-370、cfa-miR-451、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-51b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8809、cfa-miR-8815、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種である、請求項10から13までのいずれか1項に記載の方法。
- [請求項19] 口腔内メラノーマ、尿路上皮がん、悪性リンパ腫、肝細胞がんおよび肥満細胞腫を含む5種のイヌの癌疾患を診断するための、cfa-let-7c、cfa-miR-103、cfa-miR-10a、cfa-miR-122、cfa-miR-125a、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-1

99、cfa-miR-19b、cfa-miR-22、cfa-miR-222、cfa-miR-223、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-27b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8843、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8860、cfa-miR-8903、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項20] イヌの口腔内メラノーマを診断するための、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-184、cfa-miR-186、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-19b、cfa-miR-24、cfa-miR-30c、cfa-miR-483、cfa-miR-489、cfa-miR-8798、cfa-miR-8816、cfa-miR-8875およびcfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項21] イヌの尿路上皮がんを診断するための、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1249、cfa-miR-125a、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-1844、cfa-miR-186、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-2114、cfa-miR-24、cfa-miR-29b、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-494、cfa-miR-502、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-665、cfa-miR-718、cfa-miR-8798、cfa-miR-8824、cfa-miR-8832、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8843、cfa-miR-8904bおよびcfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3pからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項22] イヌの悪性リンパ腫を診断するための、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、cfa-miR-126、cfa-miR-1306、cfa-miR-144、cfa-miR-

iR-150、cfa-miR-184、cfa-miR-188、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-24、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8797、cfa-miR-8798、cfa-miR-8900、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項23] イヌの肝細胞がんを診断するための、cfa-let-7g、cfa-miR-10a、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-378、cfa-miR-383、cfa-miR-483、cfa-miR-665、cfa-miR-7、cfa-miR-718、cfa-miR-874、cfa-miR-8794、cfa-miR-8798、cfa-miR-8875、cfa-miR-8900、cfa-miR-8902、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項24] イヌの肥満細胞腫を診断するための、cfa-miR-10b、cfa-miR-1185、cfa-miR-125b、cfa-miR-126、cfa-miR-149、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-197、cfa-miR-199、cfa-miR-222、cfa-miR-24、cfa-miR-26b、cfa-miR-8803、cfa-miR-8872、cfa-miR-8903、cfa-miR-8907およびcfa-miR-92bからなる群より選択される少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項25] イヌの口腔内メラノーマを診断するための、cfa-miR-1185、cfa-miR-122、cfa-miR-126、cfa-miR-1271、cfa-miR-1306、cfa-miR-130b、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-192、cfa-miR-197、cfa-miR-222、cfa-miR-29a、cfa-miR-29b、cfa-miR-30b、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-489、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8859a、cfa-miR-8875、cfa-miR-8907、cfa-miR-

-8908dおよびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項26] イヌの尿路上皮がんを診断するための、cfa-let-7b、cfa-miR-107、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-125b、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-133b、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-149、cfa-miR-181a、cfa-miR-185、cfa-miR-193a、cfa-miR-197、cfa-miR-19b、cfa-miR-23a、cfa-miR-29c、cfa-miR-345、cfa-miR-361、cfa-miR-370、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-551b、cfa-miR-660、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8860、cfa-miR-8873a、cfa-miR-8891、cfa-miR-8903、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8907、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92b、cfa-miR-93およびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項27] イヌの悪性リンパ腫を診断するための、cfa-let-7f、cfa-miR-122、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-140、cfa-miR-144、cfa-miR-146a、cfa-miR-151、cfa-miR-15a、cfa-miR-181a、cfa-miR-1844、cfa-miR-188、cfa-miR-192、cfa-miR-193a、cfa-miR-21、cfa-miR-22、cfa-miR-23b、cfa-miR-24、cfa-miR-26a、cfa-miR-26b、cfa-miR-27b、cfa-miR-301a、cfa-miR-339、cfa-miR-342、cfa-miR-345、cfa-miR-378、cfa-miR-486、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8794、cfa-miR-8803、cfa-miR-8809、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8863、cfa-miR-8872、cfa-miR-8904b、cfa-miR-8906、cfa-miR-8907およびcfa-miR-8908dからなる群より選択された少なくとも1種のマイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項28] イヌの肝細胞がんを診断するための、cfa-let-7b、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-let-7g、cfa-miR-10b、cfa-miR-122、cfa-miR-1249、

cfa-miR-132、cfa-miR-134、cfa-miR-146a、cfa-miR-150、cfa-miR-155、cfa-miR-16、cfa-miR-206、cfa-miR-22、cfa-miR-223、cfa-miR-29a、cfa-miR-30d、cfa-miR-331、cfa-miR-378、cfa-miR-425、cfa-miR-483、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-494、cfa-miR-532、cfa-miR-574、cfa-miR-8794、cfa-miR-8815、cfa-miR-8824、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8836、cfa-miR-8843、cfa-miR-8860、cfa-miR-8892、cfa-miR-8900、cfa-miR-8903、cfa-miR-8908a-3p、cfa-miR-8908d、cfa-miR-92bおよびcfa-miR-99aからなる群より選択された少なくとも1種マイクロRNAを含む、バイオマーカー。

[請求項29] イヌの肥満細胞腫を診断するための、cfa-let-7c、cfa-let-7f、cfa-miR-10a、cfa-miR-1306、cfa-miR-130a、cfa-miR-144、cfa-miR-149、cfa-miR-186、cfa-miR-188、cfa-miR-18a、cfa-miR-191、cfa-miR-221、cfa-miR-223、cfa-miR-301a、cfa-miR-30c、cfa-miR-342、cfa-miR-370、cfa-miR-451、cfa-miR-486-3p、cfa-miR-551b、cfa-miR-574、cfa-miR-631、cfa-miR-8809、cfa-miR-8815、cfa-miR-8816、cfa-miR-8834a、cfa-miR-8834b、cfa-miR-8903およびcfa-miR-92bからなる群より選択された少なくとも1種マイクロRNAを含む、バイオマーカー。