

特発性間質性肺炎の増悪に関するmiRNAの探索および機能解析

産業医科大学 呼吸器内科学

助教 小田 桂士

(共同研究者)

産業医科大学 呼吸器内科学

教授 矢寺 和博

産業医科大学 産業生態科学研究所 呼吸病態学

准教授 和泉 弘人

はじめに

特発性肺線維症 (IPF) は、特発性間質性肺炎の一つに分類される特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、平均生存期間3-5年の予後不良疾患である。病態の中心は肺胞上皮細胞の傷害に伴う修復異常と遺伝子異常などで説明され、病気が進行すると拘束性換気障害を呈し、呼吸不全に至る。本邦におけるコホート研究⁽¹⁾では、IPF患者のおよそ4割が急性増悪、2割が緩徐な増悪に伴う呼吸不全で死亡しており、本疾患の病態解明が急務である。

microRNA (miRNA) は、1993年に発見された20-25塩基長の微小RNAとなる機能性核酸であり、様々な遺伝子の発現を調整している⁽²⁾。近年では、癌を中心とした様々な病態に深く関与していることが多数報告されており、疾病のスクリーニングや疾患活動との関連が注目されている。また、難治性呼吸器疾患であるIPF患者におけるmiRNAの探索や機能解析が既に先行研究で報告されている。しかしながら、IPF急性増悪期におけるmiRNAの発現および病態への関与については十分に検討されていない。今回我々は、IPF患者の安定期と急性増悪期に採取したペア血清を用いて血清内miRNAの発現を網羅的に解析し、急性増悪期に発現が増減するmiRNAとそのmiRNAによって発現が制御される遺伝子を同定することとした。

結 果

当院を初診となったIPF患者のうち1年以内に急性増悪を発症した8名を対象とした。各々の患者における安定期および急性増悪時に採取した血清を用いてmiRNAを抽出・調整した後、3D-Gene®を用いて網羅的に比較解析を行った。その結果、複数のmiRNAが増減していることが確認された(図1)。さらに、real-time PCRを用いて追加検証を行ったところ、急性増悪期で発現亢進しているmiR-Xと、逆に発現抑制されているmiR-Yを同定した。その後、miR-X及びmiR-Yを各々A549細胞に導入し、細胞内における各miRNAを増減させRNA-seqを行ったところ、これらのmiRNAは複数の遺伝子発現の調節に関与していることが判明した(図2)。

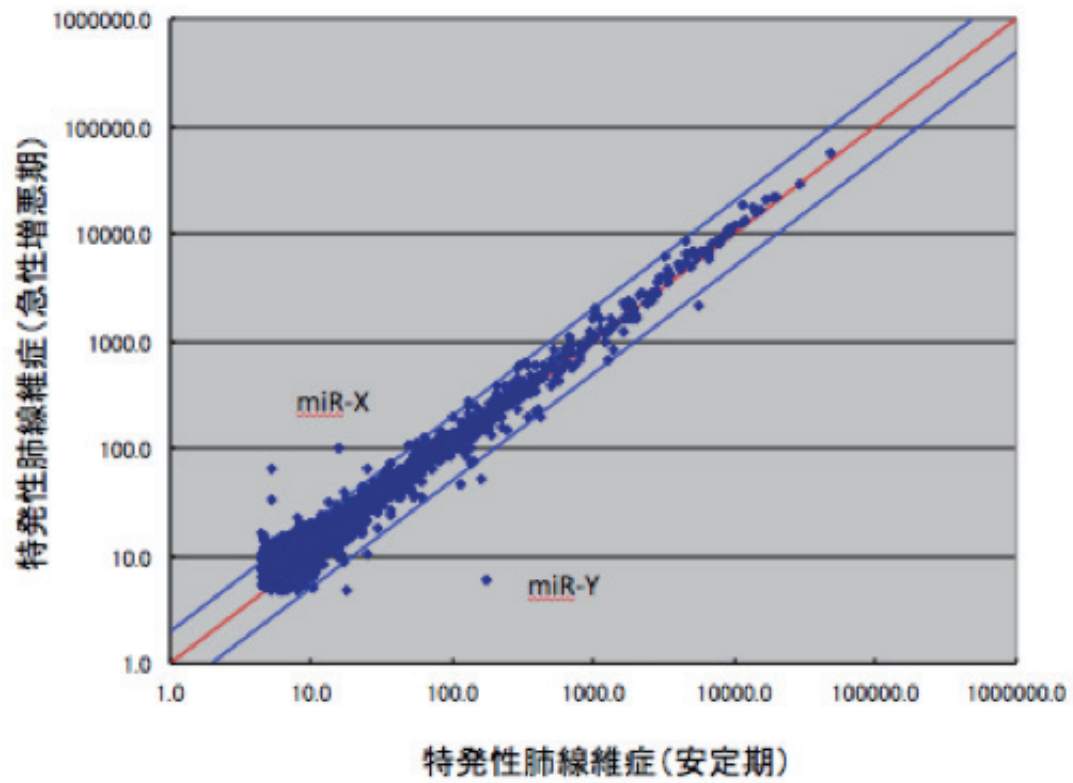


図1：3D-Genes®を用いたmiRNA 網羅的比較解析



図2：遺伝子発現のヒートマップ表示

考 察

IPF急性増悪期にmiRNAの増減に伴い発現量が変動する遺伝子を特定した。本研究で使用する血中miRNAの解析は、微量血液からmiRNAを効率的に抽出し、さらに高い再現性を有するため、多くの疾病においてバイオマーカーや治療ターゲットとして研究が盛んに行われている。今回特定したmiRNAは、これまで他疾患において病態への関与をうかがわせる既報はあるが、IPFに関する既報は存在しない。そのため本研究結果は、未だに十分に解明されていないIPF急性増悪期の病態解明の手がかりとなるだけでなく、バイオマーカーや治療ターゲットとしての創薬の可能性も秘めており、引き続き機能解析に関する研究を継続する予定である。

要 約

IPF急性増悪期患者の微量血液を用いてmiRNAを抽出することで、miRNAの増減を介した遺伝子発現について探索した。その結果、有用なバイオマーカーや治療ターゲットとしての可能性を秘めたmiRNAを同定した。現在機能解析を含め、追加実験を行っており、実臨床へ還元するための臨床試験に繋がる研究を実施していく予定である。

文 献

1. Natsuizaka M, Chiba H, Kuronuma K, Otsuka M, Kudo K, Mori M, Bando M, Sugiyama Y, Takahashi H. Epidemiologic survey of Japanese patients with idiopathic pulmonary fibrosis and investigation of ethnic differences. *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 190: 773 – 779.
2. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843 – 854.