

Title	Expression Patterns of miRNA-423-5p in the Serum and Pericardial Fluid in Patients Undergoing Cardiac Surgery(Abstract_要旨)
Author(s)	Usami, Shunsuke
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2016-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k19572
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏 名	宇佐美 俊輔
論文題目	Expression Patterns of miRNA-423-5p in the Serum and Pericardial Fluid in Patients Undergoing Cardiac Surgery (心臓手術を受けた患者血清と心嚢水におけるマイクロ RNA423-5p の発現様式)		
(論文内容の要旨) マイクロ RNA(miRNA;miR)は 22 塩基程度のタンパク質をコードしない RNA で、標的メッセンジャーRNA の転写後調節を介して心血管疾患の進展に関わり、バイオマーカーとしての有用性も報告されている。しかし、心嚢水における miRNA の意義や由来に関しては完全に解明されていない。今回、心血管疾患で心臓手術を受けた患者の血清と心嚢水中の miRNA の発現様式に関して検討を行った。 まず、大動脈弁狭窄症(AS)で大動脈弁置換術(AVR)、安定狭心症(sAP)または不安定狭心症(uAP)で冠動脈バイパス移植術(CABG)の心臓手術を受けた患者の血清と心嚢水から RNA を抽出した。最初に心不全の患者血清で上昇すると報告されている miR-423-5p の発現レベルを RT-PCR 法にて解析を行った。その結果、血清と比較して心嚢水で miR-423-5p の発現レベルの上昇を認めた。miR-423-5p は心嚢水で有意な上昇を認めたが、疾患別の変化は検出できなかった。 次に、心嚢水中の miR-423-5p の由来を探索するために、筋肉特異的な miR-133a、血管特異的な miR-126、miR-92a の発現レベルを測定し、比較した。miR-133a、miR-126 は血清で有意に上昇認め、miR-92a についても血清で高い傾向があり、miR-423-5p とは異なる発現様式を示した。また、血清において miR-423-5p、miR-133a、miR-92a の発現レベルは uAP で有意な上昇を認めた。 心臓内の細胞レベルでの miR-423-5p の発現様式を調べるために、マウス新生仔心臓をフローサイトメトリー(FACS)で心筋細胞と心臓線維芽細胞に分離した。心臓線維芽細胞と比較して心筋細胞で miR-423-5p の発現レベルは上昇していた。 次に、miR-423-5p が心嚢水中で上昇した理由について検討した。miR-423-5p がゲノムの相補鎖に存在する miR-3184-3p と二本鎖 RNA を形成し、分解が抑制されている可能性を考え、人工 RNA オリゴヌクレオチドを用いて検証を行った。miR-423-5p は Nuclear Speckle Splicing Regulatory Protein 1(NSRP1)のイントロン 1 に存在し、miR-3184-3p の塩基配列は miR-423-5p と完全に一致する相補的な配列である。miR-423-5p と miR-3184-3p の人工 RNA オリゴヌクレオチドで作成した二本鎖 RNA miR-423-5p : miR-3184-3p と miR-423-5p と miR-133a の人工 RNA オリゴヌクレオチドで作成した二本鎖 RNA miR-423-5p : miR-133a にそれぞれ RNase を加え、miR-423-5p の発現レベルを経時的に測定した。miR-423-5p:miR-3184-3pの方が RNase 添加後の miR-423-5p の発現レベルの減少割合は低かった。さらに心臓手術を受けた患者の心嚢水中の miR-423-5p と miR-3184-3p の発現レベルは有意ではないが相関する傾向にあった。これらの結果は、心嚢水中で miR-423-5p が miR-3184-3p と二本鎖を形成し分解されにくい特徴を持ち得ることを示唆した。 以上の結果から、miR-423-5p は心嚢水中に多く、uAP 患者の血清で上昇を認め、その発現様式は筋肉特異的な miR-133a、血管特異的な miR-126、miR-92a の発現様式とは異なっていることを示した。			

(論文審査の結果の要旨)

血中のマイクロ RNA(miRNA;miR)レベルは心血管疾患の病態を反映するとの報告がある。しかし、心嚢水中の miRNA の存在意義、由来や機能に関する報告は限定的である。今回、心臓手術を受けた患者血清と心嚢水において miRNA の発現様式を調べ、さらにこの変化が病態を反映しうるかどうかについて検討した。

マイクロアレイと qRT-PCR の結果から、まず miR-423-5p を解析対象に選んだ。血清と比較して心嚢水で miR-423-5p は発現上昇を示した。心嚢水では疾患別の変化を認めなかったが、血清において miR-423-5p は不安定狭心症群で有意な上昇を示した。一方、マウス新生仔心臓では心臓線維芽細胞に比し、心筋細胞で miR-423-5p の発現が高いことが判明した。また、心筋細胞と血管内皮細胞特異的発現を示す miR-133a および miR-126、さらに、血管新生に関わる miR-92a についても同じサンプルで測定を行ったが、これらは miR-423-5p とは異なる発現様式を示していた。また、心嚢水での miR-423-5p の発現上昇の説明として、miR-423-5p が相補鎖に存在する miR-3184-3p と二本鎖を形成している可能性を示した。

以上の研究は体液中における miRNA の動態の解明に貢献し、心血管疾患の病態解明や循環器病学の発展に寄与する可能性がある。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 2 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降