

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	村田 浩一
論文題目	Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis (血漿及び関節液マイクロRNAは関節リウマチと変形性関節症のバイオマーカーになりうる)		
(論文内容の要旨) マイクロRNA(miRNA)は約20-25塩基のnoncoding RNAで、標的とするメッセンジャーRNA(mRNA)の3'非翻訳領域に特異的に結合し、mRNAの分解または翻訳阻害という2様式で作用する。miRNAは代謝、アポトーシス、細胞増殖、細胞分化など様々な生物学的プロセスへ関与することが明らかにされている。また、近年miRNAはヒト血漿中でリボヌクレアーゼが存在するにも関わらず安定して存在することが示され、疾患バイオマーカーとしての役割が期待されている。 関節リウマチに(RA)においても、様々な細胞や組織でmiRNAの関与が報告されている。滑膜線維芽細胞においてはmiR-155、miR-146a、miR-124a、滑膜組織ではmiR-146、miR-155、末梢血単核球ではmiR-146a、miR-155、miR-132、miR-16などがRAにおいて変形性関節症(OA)や健常人(HC)より発現が亢進していることが報告されている。 これまで、関節液中にmiRNAの存在を示した報告はない。また血漿・関節液中miRNAとRAとの関わりを示した報告はなく、血漿中・関節液中miRNAがRAやOAの疾患バイオマーカーとなりうるか検討を行った。 まず関節液からRNAを抽出し、逆転写反応後、リアルタイムPCR法にて測定したところ、miR-16、miR-223を検出することができた。 次に、滑膜線維芽細胞などでRAへの関与が疑われている、miR-16、miR-132、miR-146a、miR-155、miR-223について、RA、OA、HC各30例ずつの血漿中、RA、OA各30例ずつの関節液中の濃度をリアルタイムPCR法にて測定した。 RA20例、OA22例では血漿、関節液を同時に採取しており、同時に採取した血漿と関節液miRNAの濃度を比較したところ、この二者に相関は認めず、血漿と関節液miRNAは産生機序が異なることが示唆された。滑膜線維芽細胞、滑膜組織、末梢血単核球を培養するとその培養上清からmiRNAが検出された。その発現パターンを比較すると関節液miRNAの発現パターンは滑膜組織の培養上清の発現パターンと似ており、関節液miRNAは主に滑膜組織からの分泌であることが示唆された。 血漿miRNAをRA、OA、HC間で比較したところ、血漿miR-132濃度はRAとOAでHCより有意に低かった。また関節液miRNAをRA、OA間で比較したところ、関節液miR-16、miR-146a、miR-155、miR-223の濃度はRAでOAより有意に高かった。 RAとHCで有意な差を認めた血漿miR-132に関して受信者動作特性曲線(ROC曲線)を作成したところ曲線下面積(AUC)0.90で、カットオフ値を67.8 pmol/lとしたところ感度83.8%、特異度80.7%で関節リウマチを判定した。 血漿miR-16、miR-146a、miR-155、miR-223濃度は圧痛関節数と負の相関を認め、さらにmiR-16濃度はRAの疾患活動性評価指標の1つであるDAS28と負の			

相関を認めた。

本研究により①関節液miRNAは存在し、主に滑膜組織から産生されること、②血漿中miR-132は、RAの診断マーカーとして有用であること、③血漿中miR-16、miR-146a、miR-155、miR-223はRA病勢バイオマーカーとなりうることを示され、これらの結果から分泌miRNAが関節疾患および自己免疫疾患において新たなバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

microRNA(miRNA)は22塩基程のRNAで標的とする遺伝子を抑制する働きを持つ。血漿中にはリボヌクレアーゼの存在に関わらずmiRNAが存在し、疾患のバイオマーカーや病態解明のツールとしての役割が期待されているが、これまで関節リウマチ(RA)や変形性膝関節症(OA)との関係は示されていなかった。また関節液中におけるmiRNAの存在も不明であった。本論文では、RA患者、OA患者、健常人におけるこれらの分泌miRNAをリアルタイムPCR法にて定量した。その結果、関節液中にもmiRNAが血漿と同様に安定して存在していた。さらに血漿miR-132濃度はRA患者とOA患者で健常人より有意に低く、関節液では、miR-16、miR-146a、miR-155、miR-223濃度はRA患者でOA患者より有意に高かった。さらに血漿と関節液でmiRNAの発現パターンが大きく異なり、関節液中miRNAの主な産生源は滑膜組織であると考えられた。これらの結果は、血漿や関節液miRNAがRAやOAのバイオマーカーとなりうるだけでなく、病態解析のツールとして有用である事を示唆した。

以上の研究は血漿・関節液miRNAのRAやOAに対するバイオマーカーとしての可能性を示すと同時に、これらの分泌miRNAの産生機序の解明に貢献し、RAやOAの病態解明や診断・治療に寄与するところが多い。

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25年2月4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