

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)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			