

令和元年6月17日現在

機関番号：34438

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09085

研究課題名(和文) 紀伊半島多発地ALSにおける環境要因関連miRNAの解析-予防的治療法の開発-

研究課題名(英文) MicroRNAs characteristic to the high incidence area of ALS in the Kii Peninsula

研究代表者

紀平 為子 (Kihira, Tameko)

関西医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：30225015

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：1960年代に筋萎縮性側索硬化症(ALS)の多発が報告された紀伊半島南部では、最近発症率が全国平均まで低下し、発症への環境要因の関与が考えられる。本研究では、多発地のALS病態への酸化ストレスの関与につき検討した。多発地ALS(K-ALS)では、血清Znの低下、hexanoyl-lysine(脂質の酸化指標)と8-OHdGc(DNAの酸化指標)の高値を認め、酸化ストレス増大が示唆された。病態への関与が注目される血清microRNA(miR)の解析では、16個の候補miRからPCR法によりK-ALSで有意な増加を示すmiRを数個認めた。これらのmiRの意義につきさらに検討する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、1960年代にALSが多発した紀伊半島南部地域で環境要因とALS発症の関連を検討し、環境中及び住民や患者検体からCaやZn等必須元素の低値と有害元素の高値を認め報告してきた。また生活習慣の改善が最近のALS発症頻度の低下と関連する可能性を報告してきた。

本研究では新たに紀伊のALS患者血清からALSに関連する候補microRNA(多疾患で関与が示唆されている)と脂質の酸化ストレスを示すHEL高値を認めた。本地域では、なんらかの環境要因とALS発症との関連が考えられるが、生活スタイルなど環境要因の変化が発症抑制的に作用するならば、その要因の解明は今後の予防や治療法開発に重要と考える。

研究成果の概要(英文)：The ALS incidence in the southern area of the Kii Peninsula (K-ALS) was previously higher than other areas, but recently it has been decreased to the average level of the world, suggesting that environmental factors play a role in development of the disease. We studied oxidative stress as environmental factors including serum contents of minerals, HEL (an oxidative marker of lipid) and urinary 8-OHdGc (an oxidative marker of DNA) in patients with K-ALS. We found significantly low contents of Zn, high contents of HEL and 8-OHdGc in patients with K-ALS compared to controls. These results may suggest that the increase of oxidative stress is associated with a risk of development of ALS in this area.

MicroRNAs (miRs) have been reported to play a role in neuro-degeneration. We found 16 candidate miRs related to K-ALS by microarray. Several miRs out of the 16 were significantly higher in the K-ALS compared to controls. We consider that these miRs may play a role in the development of K-ALS.

研究分野：神経内科学

キーワード：紀伊ALS 多発地ALS 多発地住民 血清HEL 血清亜鉛 血清microRNA 酸化ストレス Cu/Zn SOD

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

紀伊半島南部では、1950-1960年代にかけて ALS の多発が認められたが、2000年以降、発症年齢の高齢化や発症率の低下など疫学的変化が認められている。発症年齢の高齢化や発症率低下の原因は不明であるが、なんらかの環境要因の関与が考えられる。我々はこれまで、ALS 多発地の環境要因の研究から、飲用水中の Ca など必須元素の低値、多発地住民および ALS 患者の血清中 Ca や Zn 濃度の低値、毛髪中の Mn、V 等遷移元素の高値、患者脊髄での Mn 高値を認め、遷移金属に誘発された酸化ストレスが当地の ALS (紀伊 ALS) 発症に関与している可能性を考えた。

近年、悪性腫瘍やアルツハイマー病など種々の疾患へのマイクロ RNA(miR)の関与が注目されている。ALS の病態や酸化ストレスにも関連することが示唆されているが、その機序は不明である。我々は、miR が環境要因への応答として変化し ALS 発症に関連するのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、紀伊 ALS における環境要因として酸化ストレスの特徴を検討し、miR との関連を明らかにする。これにより、紀伊 ALS のバイオマーカーを明らかにし、予防的治療法の確立に資することを目的とする。

3. 研究の方法

次の4項目について検討した。

(1) 多発地と非多発地の ALS 患者、および住民における酸化ストレスマーカーの検討

紀伊半島南部地域の住民(多発地住民)と ALS 非多発地域の住民(対照住民)を対象に健康診断を実施し、同意を得た上、血液と尿の提供を受けた。また、紀伊 ALS 患者及び非多発地域の ALS 患者(SALS)からも同様に血液と尿の提供を受けた。紀伊 ALS での酸化ストレスの特徴を検討するため、必須元素として Ca、Zn、P、Cu、Fe、Mg、酸化ストレスマーカーとして 8-OHdG (DNA の酸化ストレスマーカー)、HEL(脂質の酸化ストレスマーカー)、抗酸化能の指標として Cu/ZnSOD 量、SOD 活性を測定した。

(2) 血清中 miR の網羅的解析

紀伊 ALS に関連する新規バイオマーカー候補 miR を明らかにする目的で、紀伊 ALS 患者と SALS 患者及び多発地住民、対照住民の血清からマイクロアレイを用いて、網羅的に ALS の発症及び多発に関連する miR を探索した。

(3) 網羅的解析により判明した紀伊 ALS 関連 miR の絞り込み

マイクロアレイによって、対照に比し2倍以上増減している miR を ALS 関連候補 miR として選択し、さらに real-time PCR により有意に増減している miR の定量的解析を行った。

(4) 紀伊 ALS 関連 miR と血中元素濃度や酸化ストレスマーカーとの関連

紀伊 ALS 関連 miR の意義について検討するため、紀伊 ALS で有意に増減している miR と血中元素濃度及び酸化ストレスマーカーとの相関を検討した。

4. 研究成果

紀伊半島南部多発地住民と対照住民、紀伊 ALS 患者および SALS 患者の血清、あるいは尿を用い、HEL、8-OHdGc(クレアチニン補正)、Cu/ZnSOD 量、SOD 活性、さらに血中元素を測定した。紀伊 ALS 患者では対照に比し血清銅、亜鉛の低値と HEL 高値、8-OHdGc の高値を認めた。SALS 患者においても対照に比し亜鉛の低値、8-OHdGc 高値を認めたが、血清銅と HEL は有意差を認めなかった。多発地住民では対照に比し、血清亜鉛低値と HEL 高値を認めた。Cu/ZnSOD 量と SOD 活性は検体数を増やして検討した結果、2 群間および疾患による有意な差は認めなかった。

血清 miR はまず網羅的な解析をフィルジェン株式会社に委託し実施した。血清 miR の網羅的解析では、紀伊 ALS において対照に比し2倍以上の変動を示した miR を 16 個認めた。この紀伊 ALS 関連候補 miR から real-time PCR により定量解析し、紀伊 ALS で SALS に比し変動している miR を 6 個、紀伊 ALS で対照に比し有意に増加している miR を 3 個認めた。このうち、HEL と関連する miR が 2 個含まれていた。この 2 個の miR は紀伊 ALS に特徴的である可能性が考えられたが、Cu/ZnSOD や 8-OHdGc との相関は認めなかった。今後検体数を増やしさらに検討する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

Y. Arakawa, S. Itoh, Y. Fukazawa, H. Iwahashi, H. Ishiguchi, J. Kohmoto, M. Hironishi, H. Ito, T. Kihira. Identification of miRNAs characteristic to ALS patients in the southern part of the Kii Peninsula. 第 60 回日本神経学会学術大会, 2019 年

荒川裕也、伊藤俊治、深澤洋滋、石口宏、河本純子、廣西昌也、伊東秀文、紀平為子. 紀伊半島南部の ALS 患者における microRNA 発現の検討. 第 59 回日本神経学会学術大会, 2018 年

Y. Arakawa, S. Itoh, J. Kohmoto, M. Hironishi, H. Ito, T. Kihira. MicroRNAs

characteristic to the high-incidence area of ALS in the Kii Peninsula. WCN2017: XXIII World Congress of Neurology(国際学会), 2017年

伊藤俊治、深澤洋滋、荒川裕也、紀平為子. 低亜鉛が神経・筋に及ぼす影響のマウスを用いた予備的検討-紀伊半島南部多発地 ALS に着目して. 日本微量元素学会, 2017年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：伊東 秀文

ローマ字氏名：Ito Hidefumi

所属研究機関名：和歌山県立医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 20250061

研究分担者氏名：荒川 裕也

ローマ字氏名：Arakawa Yuya

所属研究機関名：関西医療大学

部局名：保健医療学部

職名：助教

研究者番号(8桁): 30733175

研究分担者氏名：伊藤 俊治

ローマ字氏名：Itoh Shunji

所属研究機関名：関西医療大学

部局名：保健医療学部

職名：准教授

研究者番号（8桁）：50275351

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。