

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10741

研究課題名(和文)心房細動を呈する巨大左心房におけるmicroRNAの発現を探る

研究課題名(英文) Impact of microRNA expression in the giant left atrium with atrial fibrillation

研究代表者

仁科 大(Nishina, Dai)

日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：70307932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：当該施設で施行された心房細動を合併した弁膜症手術患者の中から巨大左房群：左房径60mm以上の10例、コントロール群：左房径50mm未満の10例をリストアップし、手術時に切除された左心耳ホルマリン固定パラフィンブロックからRNAを抽出した。U6を内在性コントロールとした定量的発現プロファイル比較解析を実施した。miR-1、miR-133a、miR-133b、miR-208b、miR-21、miR-3134、miR-3529、miR-4520a-3p、miR-6776、miR-7973を対象として用いたが、2群間において有意差を認めたマイクロRNAはなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心房細動は頻度の多い上室性不整脈で心原性脳梗塞を引き起こすため、患者のADLを損なわないための対策が重要視されている。miRNAは多くの遺伝子を制御し、多疾患に関与するが、心房細動においてもmiRNAの役割の研究が進められている。本研究では、左房拡大をきたしている心房細動患者の左心耳組織で変動しているmiRNAを定量的発現プロファイル比較解析により検討した。今回検証した既知のmiRNAは、左房拡大のない群と比較し特異的なmiRNAは見いだせなかったが、今後のmiRNA研究の結果により臨床現場にフィードバックされることが期待される。

研究成果の概要(英文)：From the valvular surgery patients with atrial fibrillation performed at the institution, the giant left atrium group which included 10 cases with a left atrial diameter of 60 mm or more, and the control group included 10 cases with a left atrial diameter of less than 50 mm were listed. After that, RNA was extracted from a left atrial appendage formalin-fixed paraffin block that was resected during the operation. A quantitative expression profile comparative analysis was performed using U6 as an endogenous control. Although miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-208b, miR-21, miR-3134, miR-3529, miR-4520a-3p, miR-6776, miR-7973 were used as targets, there was no significant difference between the 2 groups.

研究分野：心臓外科分野

キーワード：マイクロRNA 心房細動 巨大左房

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心房細動は頻度の多い上室性不整脈で心原性脳梗塞を引き起こすため、患者の ADL を損なわないためにはその対策が重要視されている。脳梗塞予防のための抗凝固療法やリズムコントロールを目指すカテーテルアブレーションなど取り組みは様々である。当施設でも弁膜症に合併する心房細動には心房細動手術(メイズ手術)を積極的に行っている。しかし、手術適応は明確なものがなく、一般的に罹患期間や心電図胸部誘導 V1 の f 波高、心エコーで計測された左房径などがあげられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、『心房細動による心房筋リモデリングで生じる左房径の違いが組織レベルのマイクロ RNA の発現に影響を及ぼしているのか』を手術時に切除された左心耳のホルマリン固定パラフィンブロック (FFPE) から抽出される RNA を用いて、リアルタイム PCR で特異的に発現するマイクロ RNA を分析することである。

3. 研究の方法

- (1) 研究サンプルの選出：当該施設で施行された心房細動を合併した弁膜症手術患者の中から手術時に左心耳標本が得られている症例をリストアップし、巨大左房群：左房径 60mm 以上の 10 例、コントロール群：左房径 50mm 未満の 10 例を選出した。
- (2) RNA の抽出：当該施設に保管されていた左心耳の FFPE を利用し、切り出された切片から NucleoSpin RNA FFPE XS を使用し RNA を抽出した。
- (3) 微量分光光度計による質と量の検定：NanoPhotometer を使用した。
- (4) リアルタイム PCR 分析：TaqMan Micro RNA RT Kit (Lot.00831223 サーモフィッシャー) で逆転写した後、U6 を内在性コントロールとして Applied Biosystems 7500 を使用したリアルタイム PCR 解析を実施した。
- (5) TaqMan MicroRNA Assay：miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-208b, miR-21, miR-3134, miR-4520a-3p, miR-6776-3p。

4. 研究成果

() 症例表

	巨大左房群	コントロール群
症例数	10	10
左房径 (mm)	63.9 ± 2.5	41.8 ± 4.9
年齢 (歳)	63.1 ± 10.3	65.9 ± 6.8
男/女	8/2	9/1
高血圧	70%	50%
脂質異常症	50%	20%
糖尿病	20%	10%
脳血管障害	0%	20%
低肺機能	40%	20%
慢性腎不全	30%	10%
左室駆出率 (%)	61.9 ± 7.2	59.3 ± 8.4
手術時間 (分)	363 ± 87	364 ± 70

- () RNA 抽出の確認：リストアップした症例から 1 例をサンプルとして、実際にホルマリン固定パラフィンブロックから RNA 抽出が可能であることを確認した。

() 微量分光光度計による質と量の検定

	巨大左房群	コントロール群
Conc.	76.1 ± 51.7	63.9 ± 25.1
A260/A280	1.818	1.849
A260/A230	1.82	1.937

()リアルタイム PCR 分析

Ct 値の比較表

	巨大左房群	コントロール群	p-value
miR-1	1.650 ± 1.807	0.989 ± 0.961	0.4963
miR-21	1.513 ± 1.717	1.042 ± 0.847	0.8206
miR-133a	0.972 ± 1.359	0.627 ± 0.620	0.9397
miR-133b	0.809 ± 1.030	0.542 ± 0.505	>0.9999
miR-208b	3.198 ± 5.482	0.528 ± 0.446	0.7055
miR-3134	0.626 ± 0.955	0.449 ± 0.477	0.8206
miR-4520a-3p	0.243 ± 0.244	0.278 ± 0.297	0.744
miR-6776-3p	1.163 ± 2.099	0.657 ± 0.601	>0.9999

()結果

心房細動を合併した開心術患者から切除された左心耳のホルマリン標本から microRNA を抽出することは可能であったが、これまで心房細動と関連があると報告されているものや早期 AF 再発例にみられた microRNA の中には巨大左房を呈した心房細動患者の左心耳に特異的に発現する microRNA は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井正大
2. 発表標題 Maze手術後の遠隔成績と左心耳標本を用いたマイクロアレイ解析の検討
3. 学会等名 第72回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤井 正大 (FUJII MASAHIRO) (60297926)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	
研究分担者	別所 竜蔵 (Bessho Ryuzo) (60281432)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	
研究分担者	坂本 俊一郎 (SAKAMOTO SHUNICSHUNICHIROU) (50398872)	日本医科大学・医学部・准教授 (32666)	