

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：82504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08383

研究課題名(和文) 全身型若年性特発性関節炎の病態に関わるmicroRNAの解析

研究課題名(英文) MicroRNAs involved in the pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis

研究代表者

井上 祐三郎 (Inoue, Yuzaburo)

千葉県がんセンター(研究所)・がん治療開発グループ がん遺伝創薬研究室・主任医長

研究者番号：00456063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、全身型若年性特発性関節炎(systemic juvenile idiopathic arthritis：sJIA)患者の血清miRNA解析とプロテオーム解析により、sJIAの疾患活動性マーカーの確立と病態解明を目的とした。miRNA解析では、hsa-miR-451a, hsa-miR-1290, hsa-miR-1246, hsa-miR-6131が一般的な疾患活動性マーカーでは反映されない高疾患活動性に関わることが示唆された。プロテオーム解析では、sJIAの血清中の158タンパク質が活動期およびMAS合併において有意な発現増加を認め、新たな血清バイオマーカー候補と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で明らかとなったsJIAの新たな疾患活動性バイオマーカー(miRNAおよびタンパク)が臨床応用されれば、sJIAの疾患活動性を正しく評価することが可能となり、適切な治療の提供が可能となることが期待される。また、miRNAおよびタンパクの機能解析により、sJIAの病態解明と新たな治療標的の探索が可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to establish disease activity markers and elucidate the pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis (sJIA) by serum miRNA analysis and proteome analysis of sJIA patients.

The miRNA analysis suggested that hsa-miR-451a, hsa-miR-1290, hsa-miR-1246, and hsa-miR-6131 are high disease activity that is not reflected by previously known disease activity markers. Proteomic analysis showed that 158 proteins in serum of sJIA were significantly upregulated in the active phase and MAS complications and were considered new serum biomarkers.

研究分野：小児、アレルギー、リウマチ

キーワード：全身型若年性特発性関節炎 microRNA プロテオーム

1. 研究開始当初の背景

全身型若年性特発性関節炎(systemic juvenile idiopathic arthritis : sJIA)は、小児期発症の、全身性の炎症を繰り返す自己炎症性疾患であり、IL-6, IL-1, IL-18などの炎症性サイトカインの過剰産生が深く病態に関与している。炎症性サイトカインの過剰産生の進行により、マクロファージ活性化症候群(MAS)と呼ばれる致死性の多臓器障害を発症することがあるが、炎症性サイトカインの過剰産生の原因となる病態については、未だ明らかではない。

エクソソームとは、細胞から分泌される小胞体であり、分泌した細胞由来の mRNA, microRNA (miRNA)、蛋白質などが含まれている。エクソソームは標的細胞に融合し、エクソソーム中の miRNA により、標的細胞の遺伝子発現の転写後制御がおこることが知られている。生体から低侵襲的に採取できる体液中のエクソソームの miR の解析は、生体試料の採取が困難な小児において、病態解析に有用と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、sJIA 患者におけるエクソソーム中 miRNA の発現と機能解析により、新たな sJIA の疾患活動性マーカーの確立と病態解明を目的とする。また、さらに sJIA 患者血清のプロテオーム解析を行ない、sJIA 特異的な miRNA と関連するタンパク発現プロファイルを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

< sJIA 特異的 miRNA の解析 >

重症の sJIA 患者の血清のエクソソームから miRNA を抽出し、Human miRNA Oligo chip®(Toray) を用いた 2565 種類の miRNA の網羅的かつ経時的な解析を行い、sJIA の疾患活動性マーカーとなりうる miRNA を探索した。さらに、疾患活動性との関連を解析するために、活動期と非活動期に 4 倍以上の発現量の変動を認めた miR を対象に、階層型クラスター解析を行った。

< sJIA 血清プロテオームの解析 >

重症の sJIA 患者のエクソソーム中 miRNA の発現と関連するタンパク質発現を解析する為に、分析深度・定量性に優れた DIA プロテオミクス技術を組み合わせた LC-MS 分析で、血清のプロテオーム解析を行った。病期の異なる sJIA と健常者の血清を、合計 24 検体 (MAS : n=6、Active-phase : n=5、Inactive-phase : n=13、Healthy control : n=3) 収集した。血清のペプチド消化処理を行い、プロテオーム解析によりタンパク質の同定を行った。タンパクデータの統計学的検討から、活動期に有意な発現変動を示すタンパク質の同定と機能解析を行った。

4. 研究成果

< sJIA 特異的 miRNA の解析 >

重症の sJIA 患者の治療経過において、以下の 4 つの時点において、血清中の miRNA の網羅的評価をおこなった。

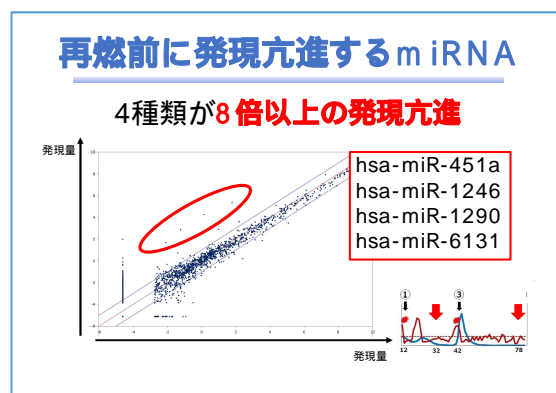
初発時 CRP などの疾患活動性マーカー高値

ステロイド治療後の見かけ上寛解時 CRP などの疾患活動性マーカー正常

ステロイド減量後の再燃時 CRP などの疾患活動性マーカー高値

最終寛解時 CRP・フェリチンなどの疾患活動性マーカー正常

興味深いことに、症状を認め疾患活動性マーカー高値である および だけでなく、治療により改善を認めていた の時点においても、とは異なる miRNA プロファイルが認められた。 と の間では、hsa-miR-451a, hsa-miR-1290, hsa-miR-1246, hsa-miR-6131 の 4 つの miR が 8 倍以上の発現量の違いを認めており、一般的な疾患活動性マーカーでは反映されない病態に関わっていることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato Hironori, Inoue Yuzaburo, Kawashima Yusuke, Nakajima Daisuke, Ishikawa Masaki, Konno Ryo, Nakamura Ren, Kato Daigo, Mitsunaga Kanako, Yamamoto Takeshi, Yamaide Akiko, Tomiita Minako, Hoshioka Akira, Ohara Osamu, Shimojo Naoki	4. 巻 7
2. 論文標題 In-Depth Serum Proteomics by DIA-MS with <i>In Silico</i> Spectral Libraries Reveals Dynamics during the Active Phase of Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 7012 ~ 7023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.1c06681	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤裕範, 井上祐三朗, 山本健, 山出晶子, 富板美奈子, 星岡明
2. 発表標題 再燃を繰り返す 全身型若年性特発性関節炎患者における 血清microRNAの解析
3. 学会等名 第29回日本小児リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 佐藤裕範, 井上祐三朗, 川島祐介, 小原収, 下条直樹
2. 発表標題 佐藤裕範1)2)、井上祐三朗3)、川島祐介1)、小原収1)、下条直樹4)
3. 学会等名 第30回日本小児リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021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
研究協力者	佐藤 裕範 (Sato Hironori)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関