

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07943

研究課題名（和文）喫煙による早期血管障害におけるmicroRNAの関与と機序

研究課題名（英文）Circulating microRNAs associated with smoking-induced vascular endothelial dysfunction

研究代表者

竹本 恭彦（Yasuhiko, Takeoto）

大阪公立大学・大学院医学研究科・客員教授

研究者番号：20364002

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：血流依存性血管拡張反応（FMD）が低下していた喫煙者と、低下していなかった非喫煙者間で、合計20の血中のmiRについて発現の差異を解析した。その結果、血中のmiR-92a-3p、miR-126-5pの発現比に有意差がみられた。また、禁煙前はFMD値が低下し、かつ禁煙達成後にFMD値が改善した喫煙者において、禁煙達成後、血中のmiR-92a-3pの発現比が有意に増加し、miR-126-3p、miR-126-5pの発現比も増加傾向であった。また、禁煙達成前後でのFMD値の変化量と、禁煙治療前の血中のmiR-1、miR-126-3p、miR-126-5pの発現比に、相関関係が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

喫煙による早期血管障害や、禁煙達成による早期血管障害との関連が示唆される血中のmiRが明らかとなった。これら血中のmiRが、喫煙による早期血管障害のバイオマーカーとなりうる可能性があり、喫煙者における早期血管障害の機序へのmiRの関与の解明につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the differential expression of total of 20 circulating microRNAs between smokers who had impaired flow-dependent dilation (FMD) responses and nonsmokers who did not. We found the significant differences in the expression of circulating miR-92a-3p and miR-126-5p. After achieving smoking cessation, the expression of circulating miR-92a-3p significantly increased and miR-126-3p and miR-126-5p tended to increase. In addition, the change in FMD after smoking cessation was suggested to be correlated with the expression of circulating miR-1, miR-126-3p, and miR-126-5p before smoking cessation treatment.

研究分野：Internal medicine

キーワード：smoking endothelial dysfunction circulating microRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血管障害は、血管内皮細胞機能障害を端緒とする。早期血管障害である血管内皮機能の評価する手法として、血管内皮依存性血管拡張反応 (flow-mediated dilatation: FMD) 検査が広く実施されている。血管内皮機能が障害されず保持されていると FMD も維持されており、血管内皮機能障害が生じると FMD が低下することが知られている。

血管内皮機能評価は血管疾患発症を先制し予防するために重要である。喫煙者は、「いまはたばこを吸っているが、このまま吸いつづけてはいけない」という考えを必ずもっている。そうした心理状態の中で、早期血管障害マーカーを測定し、血管障害がすでに始まっていることを採血、血液検査で簡単に知ることができれば、禁煙開始の大きなモチベーションとなる。miR 抽出、解析の手法自体は確立しており、マーカーとしての実用化しうる可能性は高く、本研究の着想に至った。

我々はこれまで、様々な血管障害因子を有する患者群において、約 1700 例に及ぶ FMD を実施してきた。その FMD 検査実施例の中から、FMD が低下していた、すなわち早期血管障害が生じていた喫煙者群と、FMD が低下していなかった、すなわち早期血管障害が生じていなかった非喫煙者群の両群で、次世代シーケンサーによる microarray を用いた microRNA(miR) 発現プロファイル解析を実施した。その結果、496 の miR の発現を認め、そのうち 15 の miR で両群間に発現の差異を認めた。しかしながら、両群間で発現差異を認めた miR が喫煙による早期血管障害に関与するのか、早期血管障害発生機序とどのように関わるか、は、明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、喫煙者における早期血管障害に関わる miR を明らかにし、喫煙による早期血管障害における miR の役割とその機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

喫煙者、非喫煙健康人において、定められた身体活動中止、摂取物、睡眠、室温、仰臥位安静、実施時間の条件下で、FMD 検査と評価、miR 解析のための採血を実施した。血管評価は、高解像度超音波装置を用い、駆血前後で血流増加に伴い拡張した上腕動脈血管径を計測し、血管径の変化率を算出し、血管内皮依存性血管拡張反応評価を行う。ニトログリセリンによる血管内皮非依存性血管拡張反応評価も行った。miRNA 解析、評価は、禁煙治療開始前に末梢血採取を行い、血清分離して遠心し、上清を分離、さらに超遠心法でエクソソームを抽出した。エクソソーム中から total RNA を抽出、さらには miR を抽出し、解析、評価を行った。

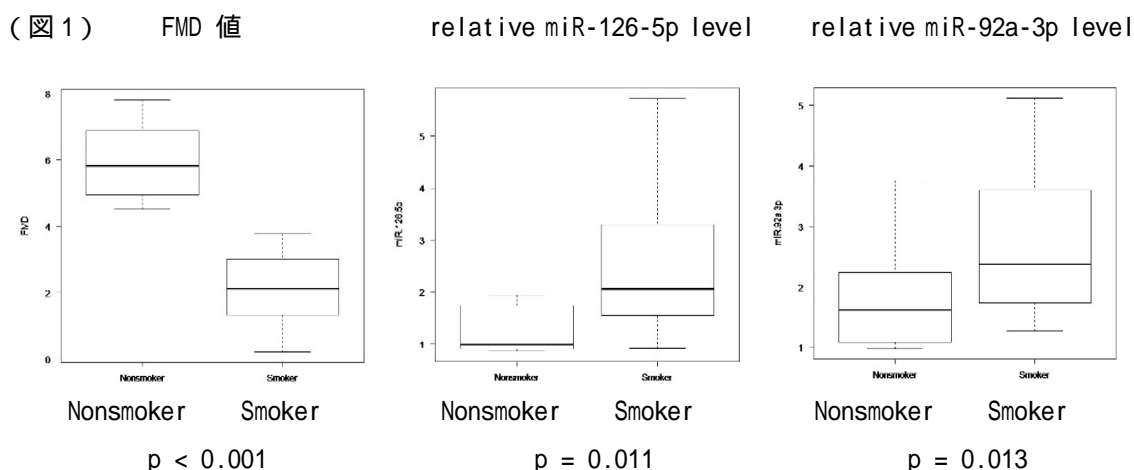
冠動脈疾患の既往がなく、年齢・性別を一致させた、FMD で評価した血管内皮機能が低下した喫煙者と、低下していなかった非喫煙者間で、miR 発現プロファイル解析で差異がみられた 15 の miR と、文献的考察から関連が示唆された 5 つの miR (miR-92a-3p、miR-126-3p、miR-126-5p、miR-155 ならびに miR-223) を加えた計 20 の miR について、血中の発現の差異を検討した。

また、禁煙達成前後で血中の miR の発現の比較、さらには、禁煙達成前後での FMD 値の変化量と関連する禁煙達成前の血中の miR を検討した。

4. 研究成果

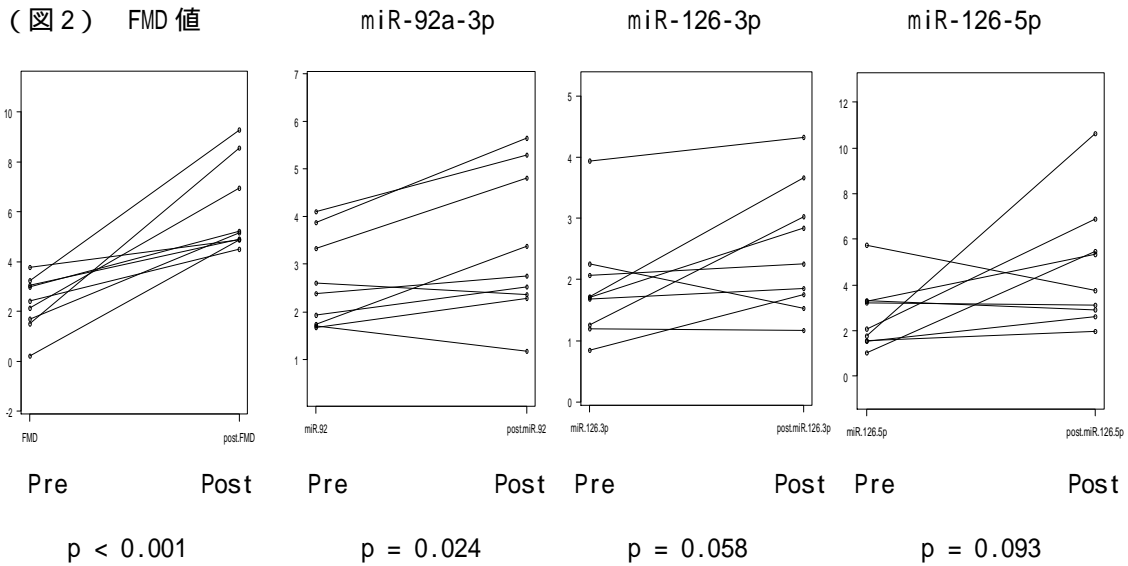
結果 1:

FMD 値が低下した喫煙者と、FMD 値が低下していなかった非喫煙者を比較すると、血中の miR-92a-3p、miR-126-5p の発現比に有意差がみられた (図 1)。



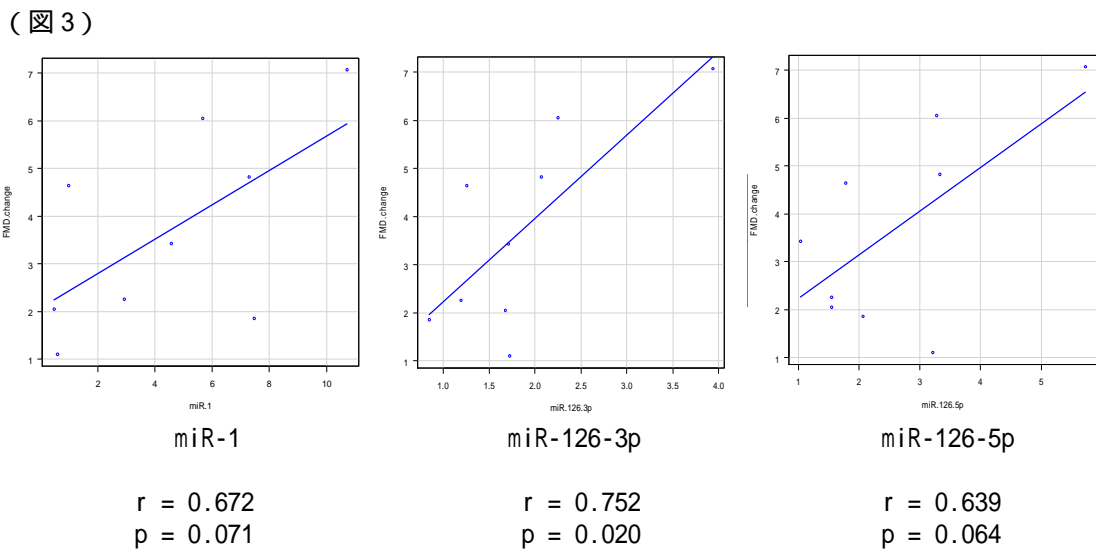
結果 2 :

禁煙前は FMD 値が低下し、かつ禁煙達成後に FMD 値が改善した喫煙者において、禁煙達成前後で比較すると、血中の miR-92a-3p の発現比が有意に増加し、miR-126-3p、miR-126-5p の発現比も増加傾向であった (図 2)。



結果 3 :

禁煙達成前後での FMD 値の変化量と、禁煙治療前の血中の miR-1、miR-126-3p、miR-126-5p の発現比に、相関関係が示唆された (図 3)。



以上から、これら血中の miR が、喫煙による早期血管障害や、禁煙による早期血管障害の改善と関連している可能性が示唆された。これら血中の miR が、喫煙による早期血管障害やその代償的な機序として関連している可能性があり、今後さらに探索を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fukumoto Kazuo, Takemoto Yasuhiko, Norioka Naoki, Takahashi Kanae, Namikawa Hiroki, Tochino Yoshihiro, Shintani Ayumi, Yoshiyama Minoru, Shuto Taichi	4. 巻 44
2. 論文標題 Predictors of the effects of smoking cessation on the endothelial function of conduit and digital vessels	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 63~70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-020-0516-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukumoto Kazuo, Takemoto Yasuhiko, Yoshikawa Junichi, Norioka Naoki, Iguchi Tomokazu, Namikawa Hiroki, Tochino Yoshihiro, Yoshiyama Minoru, Shuto Taichi	4. 巻 309
2. 論文標題 Predictors of endothelial function improvement in patients with mild hypertriglyceridemia without evidence of coronary artery disease treated with purified eicosapentaenoic acid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Atherosclerosis	6. 最初と最後の頁 27~32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.atherosclerosis.2020.07.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimokawa Takaomi, Yoneda Kozo, Yamagata Masayo, Hayashi Kohei, Tomita Shuhei	4. 巻 871
2. 論文標題 Yohimbine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 172917~172917
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejphar.2020.172917	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Maruhashi Tatsuya, Tomiyama Hirofumi, Takemoto Yasuhiko, Sata Masataka, Node Koichi, Higashi Yukihiro	4. 巻 3
2. 論文標題 Increased arterial stiffness and cardiovascular risk prediction in controlled hypertensive patients with coronary artery disease: post hoc analysis of FMD-J (Flow-mediated Dilation Japan) Study A	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-020-0420-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maruhashi Tatsuya, Tomiyama Hirofumi, Takemoto Yasuhiko, Sata Masataka, Node Koichi, Higashi Yukihiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Diagnostic Criteria of Flow Mediated Vasodilation for Normal Endothelial Function and Nitroglycerin Induced Vasodilation for Normal Vascular Smooth Muscle Function of the Brachial Artery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e013915
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.013915	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomiyama Hirofumi, Maruhashi Tatsuya, Takemoto Yasuhiko, Sata Masataka, Node Koichi, Higashi Yukihiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Brachial Ankle Pulse Wave Velocity Versus Its Stiffness Index Transformed Value as Risk Marker for Cardiovascular Disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the American Heart Association	6. 最初と最後の頁 e013004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/JAHA.119.013004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kajikawa Masato, Maruhashi Tatsuya, Tomiyama Hirofumi, Takemoto Yasuhiko, Sata Masataka, Node Koichi, Higashi Yukihiro	4. 巻 83
2. 論文標題 Target of Triglycerides as Residual Risk for Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease Post Hoc Analysis of the FMD-J Study A	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Circulation Journal	6. 最初と最後の頁 1064 ~ 1071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-18-1082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kabei Kazuya, Tateishi Yu, Shiota Masayuki, Osada-Oka Mayuko, Nishide Shunji, Uchida Junji, Nakatani Tatsuya, Matsunaga Shinji, Yamaguchi Takehiro, Tomita Shuhei, Miura Katsuyuki	4. 巻 142
2. 論文標題 Effects of orally active hypoxia inducible factor alpha prolyl hydroxylase inhibitor, FG4592 on renal fibrogenic potential in mouse unilateral ureteral obstruction model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 93 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2019.12.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kazuo Fukumoto, Yasuhiko Takemoto, Naoki Norioka, Kanae Takahashi, Naoki Okuyama, Hiroki Namikawa, Yoshihiro Tochino, Ayumi Shintani, Minoru Yoshiyama, Taichi Shuto
2. 発表標題 Effects of smoking cessation on endothelial function simultaneously evaluated by flow-mediated dilation and reactive hyperemia peripheral artery tonometry
3. 学会等名 European Atherosclerosis Society Congress
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福本一夫、竹本恭彦、則岡直樹、高橋佳苗、奥山直木、並川浩己、棚野吉弘、新谷歩、葭山稔、首藤太一
2. 発表標題 禁煙治療における血管内皮機能の経時的変化：導管血管と抵抗血管の同時評価
3. 学会等名 日本血管不全学会学術集会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazuo Fukumoto, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Taichi Shuto
2. 発表標題 Effects of smoking cessation on endothelial function assessed by flow-mediated dilation and reactive hyperemia peripheral artery tonometry
3. 学会等名 European Society of Cardiology Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuo Fukumoto, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Taichi Shuto
2. 発表標題 HDL-cholesterol level and EPA/AA ratio are associated with improvement of vascular endothelial function in patients with hypertriglyceridemia
3. 学会等名 European Atherosclerosis Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuo Fukumoto, Yasuhiko Takemoto, Minoru Yoshiyama, Taichi Shutou
2. 発表標題 Increase in EPA/AA Ratio Predicts Improvement in Endothelial Function In Purified Eicosapentaenoic Acid-Treated Patients
3. 学会等名 European Society of Cardiology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福本 一夫、竹本 恭彦、葭山 稔、首藤 太一
2. 発表標題 高純度EPA製剤投与によるEPA/AA 比の増加と内皮機能改善の予測に関する検討
3. 学会等名 第4回日本血管不全学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹本 恭彦
2. 発表標題 血管機能検査を心臓病診療に活用する
3. 学会等名 第67回日本心臓病学会学術集会
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	富田 修平 (Tomita Shuhei) (00263898)	大阪公立大学・大学院医学研究科・教授 (24405)	

6. 研究組織（つづき）

	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	首藤 太一 (Shuto Taichi) (20295687)	大阪公立大学・大学院医学研究科・教授 (24405)	
研究分担者	葭山 稔 (Yoshiyama Minoru) (30240956)	大阪公立大学・大学院医学研究科・名誉教授 (24405)	
研究分担者	山口 雄大 (Yamaguchi Takehiro) (40726080)	国立感染症研究所・細菌第一部・主任研究官 (82603)	
研究分担者	福本 一夫 (Fukumoto Kazuo) (20897392)	大阪公立大学・大学院医学研究科・講師 (24405)	

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