

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 23 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20390437

研究課題名 (和文) 胎盤特異的マイクロRNAの機能解析と異常妊娠早期診断への臨床応用のための基盤研究

研究課題名 (英文) Basic and clinical study for clinical applications of placenta-specific microRNAs to prediction of abnormal pregnancy

研究代表者

瀧澤 俊広 (TAKIZAWA TOSHIHIRO)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：90271220

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：産科学、胎盤、マイクロRNA

## 1. 研究計画の概要

本研究は、ゲノム機能科学の先端技術を駆使して、microRNA(miRNA)が胎盤でどのような特異的機能を有しているのか、また、miRNAが異常妊娠[妊娠高血圧症候群胎盤(PIH)など]の分子病態にどのような様に関与しているのか解明を行う。さらに、miRNAを新規ツールとした、周産期医学への臨床応用(診断・予後判定・治療)のための基盤研究を行う。

具体的には下記の目的で研究を行う。

- (1) 正常、および異常胎盤におけるmiRNAのプロファイル解析、標的mRNAの同定、および機能解析を行い、胎盤におけるmiRNAの機能解明を行う。
- (2) 同時に、臨床疫学研究により、妊娠期間を通して正常、異常妊娠における妊婦さんの血液(血漿)と分娩後の胎盤からmiRNAの発現量を定量的にデータ解析し、早期診断ツールとしてのmiRNAの有用性を検討する。

## 2. 研究の進捗状況

下記の3つの研究を軸として、胎盤のmiRNAの基盤研究を進めている

- (1) 胎盤におけるmiRNAの機能解析：胎盤特異的miRNAの標的mRNAの同定と機能解析⇒正常胎盤由来miRNAの大量シーケンス解析から、胎盤特異的miRNAの多くは第19染色体上の霊長類特異的miRNA遺伝子クラスターから発現していることを見出した。胎盤特異的miRNAが標的としているmRNAやシグナル伝達経路を同定するために、胎盤特異的miRNAを過剰発現させた培養細胞を用いてマイクロアレイ解析を行い、有

力な標的mRNA候補(タンパク質ホスファターゼなど)を同定した。標的mRNAの3'-非翻訳領域を含むレポータープラスミドを構築し、ルシフェラーゼアッセイにより、標的mRNAであることを証明した。さらに、現在、詳細な機能解析を進めている。

- (2) 異常妊娠におけるmiRNAの解析：異常妊娠胎盤(PIHなど)の詳細miRNAプロファイル解析と分子病態におけるmiRNAの役割の解析⇒大量シーケンス解析と、real-time PCRを用いた定量的アレイ解析を行い、両方の解析結果に共通してPIH胎盤で発現が優位に上昇しているmiRNA(PIH関連miRNA)を同定した。レーザーマイクロダイセクションによる胎盤組織解析から、そのPIH関連miRNAは絨毛栄養膜に由来していることを見出した。さらに、PIH関連miRNAに共通する有力な標的miRNA候補(水酸化酵素)を見出した。この標的分子は、過去にPIHの予知因子として報告されていない新規の分子である。さらに、現在、標的候補の検証、詳細な機能解析を進めている。

- (3) miRNAの診断ツールとしての臨床応用：胎盤および疾患特異的miRNAの早期診断ツールとしての有用性の検討(臨床疫学研究)⇒妊婦さんからの血液サンプル採取を継続して行うとともに、PIHおよび正常妊婦さんからの血液よりRNAを抽出し、real-time PCRアレイ解析を行い、血液中miRNAの網羅的解析を行った。また、Bより見出された標的

分子候補が、血中で検出可能であるか予備解析を行い、検出のための ELISA 測定システムを確立した。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

理由：研究計画・方法に沿い、予定通り計画が遂行されているため。

### 4. 今後の研究の推進方策

H23 年度に予定している計画、特に、臨床サンプル解析を行い、miRNA の早期診断ツールとしての有用性を検証を推進する。また、H23 年度は、研究計画の最終年度となるので、研究総括ならびに共同研究者のもとに議論を行い、研究のまとめを行う。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

- ① 瀧澤俊広, 石橋幸, 松原茂樹, 右田真, 竹下俊行. 胎盤から母体循環に分泌されるエクソソーム 胎盤特異的 microRNA の意義と臨床への展開. 実験医学 29(3) : 392-398, 2011. 査読無
- ② Takizawa T, Gemma A, Ui-Tei K, Aizawa Y, Sadovsky Y, Robinson JM, Seike M, Miyake K. Basic and clinical studies on functional RNA molecules for advanced medical technologies. J Nippon Med Sch 77(2): 71-79, 2010. 査読有
- ③ Robinson JM, Takizawa T. Correlative fluorescence and electron microscopy in tissues: immunocytochemistry. J Microsc 235(3): 259-272, 2009. 査読有
- ④ Luo SS, Ishibashi O, Ishikawa G, Ishikawa T, Katayama A, Mishima T, Takizawa T, Shigihara T, Goto T, Izumi A, Ohkuchi A, Matsubara S, Takeshita T, Takizawa T. Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. Biol Reprod 81(4): 717-729, 2009. 査読有
- ⑤ Mishima T, Takizawa T, Luo SS, Ishibashi O, Kawahigashi Y, Mizuguchi Y, Ishikawa T, Mori M, Kanda T, Goto T, Takizawa T. MicroRNA (miRNA) cloning analysis reveals sex differences in miRNA expression profiles between adult mouse testis and ovary. Reproduction 136(6): 811-822, 2008. 査読有

[学会発表] (計 19 件)

- ① Takizawa T. Placenta specific-microRNAs in normal pregnancy and preeclampsia. 8th European Congress on Reproductive Immunology. Nov. 13, 2010. Munich, Germany.
- ② Ishibashi O. Placenta-specific microRNAs (miRNAs) derived from the chromosome 19 miRNA cluster in normal pregnancy and preeclampsia. International Federation of Placental Associations (IFPA) Meeting 2010. Oct. 22, 2010. Santiago, Chile.
- ③ 瀧澤俊広. 妊娠高血圧症候群 (PIH) 胎盤の MicroRNA Array による網羅的解析: PIH胎盤では第 19 番染色体上の microRNA クラスターの発見が上昇している. 第 62 回日本産科婦人科学会学術講演会. 2010 年 4 月 24 日. 東京.
- ④ Takizawa T. MicroRNA hsa-miR-517a is possibly involved in tumor necrosis factor (TNF)-mediated signaling in human placenta. International Federation of Placental Associations (IFPA) Meeting 2009. Oct. 6-9, 2009. Adelaide, Australia.
- ⑤ 石橋幸. 正常および妊娠高血圧症候群の胎盤において発現するマイクロ RNA の大規模プロファイリング解析. 第 17 回日本胎盤学会学術集会. 2009 年 10 月 17 日. 東京.

[図書] (計 1 件)

- ① Ackerman IV WE, Takizawa T, Robinson JM. Application of Investigative Techniques to Understanding Placental Structure and Function: Microscopy. The Placenta: from Development to Disease, pp. 189-196, Edited by : H Kay, DM Nelson, Y Wang, Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, 2011. 査読有