

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659668

研究課題名（和文） マイクロ RNA を用いた心房細動発症機序の解明と新規治療法の確立

研究課題名（英文） Analysis of relationship between microRNA expression and atrial fibrillation for development of new treatment

研究代表者

倉谷 徹 (KURATANI TORU)

大阪大学・医学系研究科 寄附講座教授

研究者番号：90448035

研究成果の概要（和文）：

心臓手術を施行する際に心房組織を採取し、miRNA をスクリーニングして心房線維化に関連する miRNA を同定および心房の病理組織学的検討を行い、心房線維化と miRNA との関連を明らかにした。30 例から心房組織を採取し、micro RNA を網羅的に解析し、micro RNA-21 および 208b が心房細動患者の組織にて強く発現していることを明らかにした。また、心房組織の線維化との関連も存在することも新たに判明した。更にスタチン投与による術後心房細動の発生における影響についての前向き試験やイヌ心房細動モデルの作成も施行中である。

研究成果の概要（英文）：

Although microRNA (miRNA) regulates initiation and/or progression of atrial fibrillation (AF) in canine AF models, the underlying mechanism in humans remains unclear. We speculated that certain miRNAs in atrial tissue are related to AF, and evaluated the relationship of miRNA expression in human atrial tissue in cardiac surgery patients. Right atrial tissues from 29 patients undergoing cardiovascular surgery were divided into 3 groups [A: chronic AF or unsuccessful maze, n=6; B: successful maze, n=10; C: sinus rhythm (SR) n=13]. miRNA microarray analysis showed elevated miRNA-21, miRNA-23b, miRNA-199b, and miRNA-208b in AF as compared to SR groups. RT-PCR showed elevated miRNA-21 (1.9-fold) and miRNA-208b (4.2-fold) in AF as compared to the SR groups. miRNA-21 expression increased from Group C to A (A: 2.1-fold, B: 1.8-fold, C: 1.0-fold). Fibrosis increased from C to A (A: 43.0±12.9%, B: 21.3±6.1%, C: 11.9±3.1%). Percent fibrosis and miRNA-21 expression were correlated (r=0.508, p<0.05). The plasma levels of miRNA-21 in AF patients was significantly decreased as compared to the healthy volunteers (p<0.05). The expression of miRNA-21 in human atrial tissue was found to be related to atrial fibrosis and might affect AF occurrence, indicating its usefulness as a biomarker for cardiac surgery management. We will also conduct the prospective study to clarify the effect of statin on miRNA-21 expression level, and will make experimental animal model to check the efficacy of antagomir.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：心房細動、micro RNA、スタチン

1. 研究開始当初の背景

心臓手術の術後心房細動は 30%程度に発生するが、発症すると脳梗塞のリスクや心機能の低下、入院期間の延長など経済面でのデメリットも大きい。従って、心房細動の予防法や治療法の開発が必要で、そのためには心房細動のメカニズムを明らかにすることが重要である。

術後心房細動の危険因子としては年齢、左心房径の拡大、低左心機能等があるが、現状では発症の予測に関する遺伝子レベルや分子レベルでの機序は解明されていない。

このような現状の中、我々は細胞中に存在し、タンパク質をコードしない 22 塩基程度の 1 本鎖 RNA である microRNA(miRNA) に着目し、miRNA をターゲットとして、心房細動との関連について様々な角度から研究する必要があると判断した。

2. 研究の目的

本研究の目的

(1) 心臓手術を施行する際に心房組織を採取し、以下の点を明らかにする

①miRNA をスクリーニングして心房線維化に関連する miRNA を同定する。

②心房の病理組織学的検討を行い、心房線維化と miRNA との関連を検討する。

(2) スタチン製剤投与の有無で分類する前向きは無作為試験を行い、以下の点を検討。

①スタチン製剤の術後心房細動の抑制効果

と miRNA の発現や抑制との関連。

②患者血漿から上記 miRNA を同定し、その発現や抑制が発症予測に有用であるか評価する。

(3) イヌ心房細動実験モデルを用いて上記 miRNA の抑制が心房細動抑制に有用かを検討する。

3. 研究の方法

(1) 心臓手術の際にヒト心房組織を採取して特異的に発現する miRNA を同定する。更に心房の線維化を病理組織学的に検討し、心房線維化と術後心房細動発症の関連、miRNA との関連について検討する。

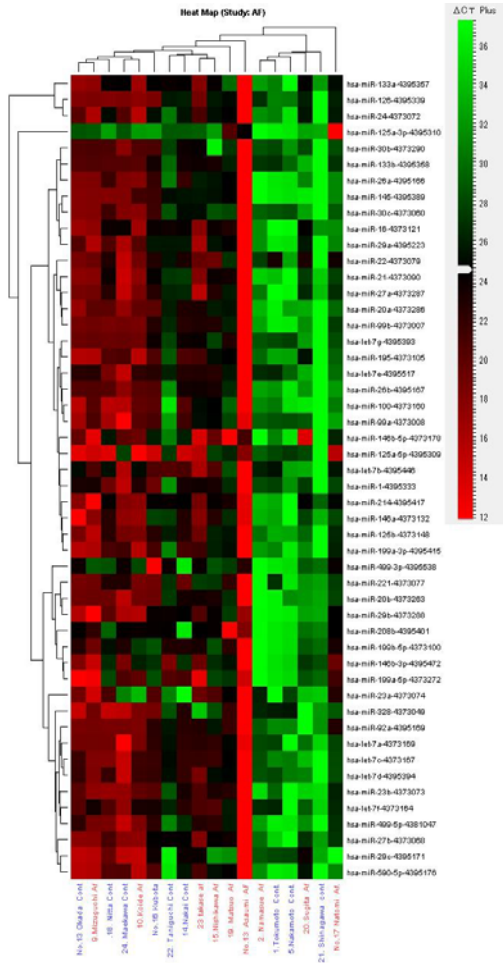
(2) スタチン製剤の投与の有無による前向き無作為試験を施行し、ヒト血中における同 miRNA の発現とスタチン製剤の有無による変化についても検討を加える。

(3) イヌ心房細動モデルをラピッドペーシングを用いて作成し、上記 miRNA の発現について検討を加える。

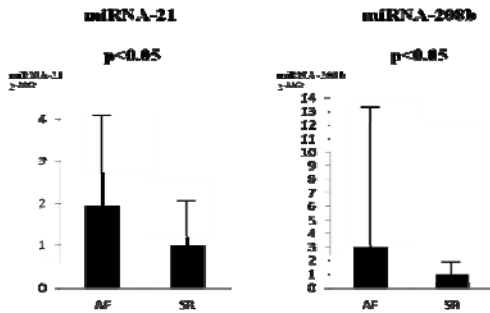
4. 研究成果

(1) micro RNA array analysis

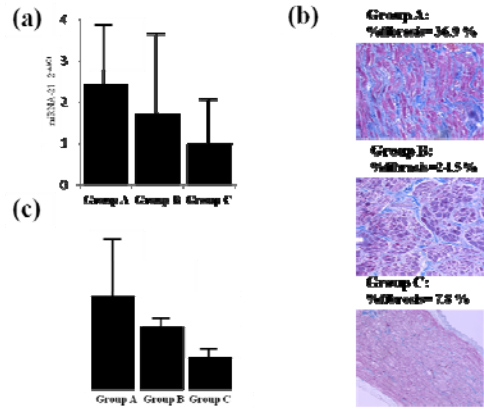
miRNA-1, 21, 22, 23, 24, 26, 29, 30, 125, 133, 146, 195, 199, 208, 214, 221, 328, 499, 590, and let 7f) に Af との関連が見られた。



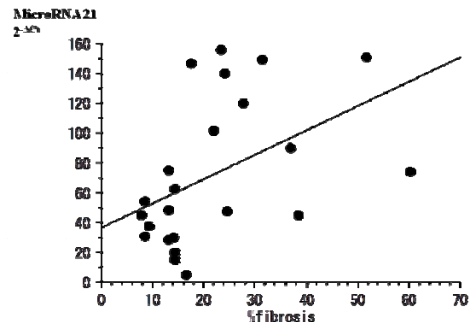
(2) miRNA-21 と miRNA-208b が心房細動で著明に発現していた。



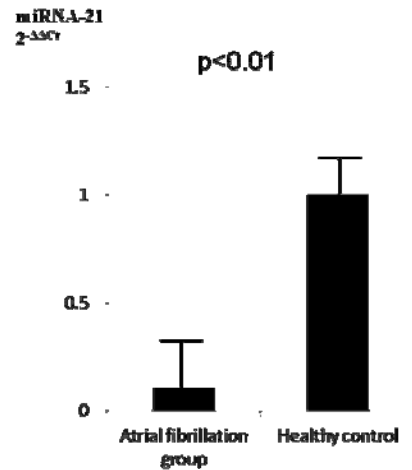
(3) miRNA-21 と線維化が心房細動発症と関連していた。正常洞調律から心房細動となるにつれて、miRNA-21 発現レベルと心房の線維化が増加していた。



(4) miRNA-21 発現レベルと線維化の間には相関関係が見られた。



(5) miRNA-21 の血漿レベルは心房細動群で著明に低下していた。



(6) 観察研究として患者血漿における心房細動 micro RNA の評価を行いつつ、スタチン投与による術後心房細動の発生における影響についての前向き試験に向け、準備している。イヌ心房細動モデルを作成している

段階であり、今後費用等の準備が整い次第、miRNA Antagomir を作成して mi RNA-21 の心房細動抑制効果の有無につき大動物レベルでの効果を明らかにする方針。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Kin K, Miyagawa S, Fukushima S, Shirakawa Y, Torikai, K, Shimamura K, Daimin T, Kawahara Y, Kuratani T, Sawa Y, Tissue- and plasma-specific microRNA signatures for atherosclerotic abdominal aortic aneurysm *Journal of the American Heart Association* 2012; 1: e000745
doi: 10.1161/JAHA.112.000745 査読有

[学会発表] (計 1 件)

- ① Hiroyuki Nishi; Taichi Sakaguchi; Shigeru Miyagawa; Yasushi Yoshikawa; Satsuki Fukushima, Shunsuke Saito, Takayoshi Ueno, Toru Kuratani, Yoshiki Sawa, Department of Cardiovascular Surgery Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan Impact of microRNA expression in human atrial tissue in patients with atrial fibrillation undergoing cardiac surgery American Heart Association Annual Scientific Session 2011 年 11 月 15 日 Orange County Convention Center. USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

倉谷 徹 (KURATANI TORU)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座教授
研究者番号：90448035

(2) 研究分担者

澤 芳樹 (SAWA YOSHIKI)
大阪大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00243220
宮川 繁 (MIYAGAWA SHIGERU)
大阪大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：70544237
白川 幸俊 (SHIRAKAWA YUKITOSHI)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座准教授
研究者番号：20457013
西 宏之 (NISHI HIROYUKI)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：00529208
吉川 泰司 (YOSHIKAWA YASUSHI)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：40570594
鳥飼 慶 (TORIKAI KEI)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：70364792
金 啓和 (KIN KEIWA)
大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座助教
研究者番号：70532985
(平成 24 年 1 月 23 日まで分担者として参画)