

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591547

研究課題名（和文） ヒト心房筋電的リモデリングの成因解明のためのマイクロRNA解析

研究課題名（英文） MicroRNAs Analysis for Investigation of the Causes in Human Atrium Electrical Remodeling

研究代表者

岩田 英理子（IWATA ERIKO）

大分大学・医学部・医員

研究者番号：70457604

研究成果の概要（和文）：心房細動は最も罹患率が多いにもかかわらず治療戦略がまだ確立されていない不整脈である。我々は、心臓大血管の手術で体外循環を使用する患者より得られたヒト心房筋（右心耳等）を用いて、慢性心房細動を有する患者の心房筋において発現の変化を認める特定のイオンチャネルと microRNA を同定し、イオンチャネルリモデリングにおける microRNA の関連と治療への応用の可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：

Even though atrial fibrillation is the most commonly encountered clinical arrhythmia, the therapeutic strategy has not been established. Atrial tissue was obtained from patients undergoing cardiovascular surgery using extracorporeal circulation. We identified some ion channels and microRNAs that were down-regulated or up-regulated in atrial fibrillation patients, and suggested it's relation to ion channel remodeling and the possibility of therapeutic application.

交付決定

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 22 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
平成 23 年度	800,000	240,000	1,040,000
平成 24 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

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：循環器・不性脈・イオンチャネル・マイクロ RNA・心房細動・体外循環

1. 研究開始当初の背景

（1）心房細動は最も罹患率の多い不整脈でありながら、その治療戦略ははまだ確立されていない。それは、心房細動の発症と維持の機序が明確にされていないことに起因する。

（2）心房細動は、特に体外循を必要とする心臓大血管領域の周術期において、血行動態の安定化等に悪影響を与え、ICU 在室期間や入院日数を増加させるという報告がある。本

講座における体外循環症例の約 3 割に心房細動の罹患が経験されており、しばしば周術期の血行動態の不安定化を引き起こし、心不全からの回復を遅延させる原因となる。

（3）microRNA は、二十数塩基からなる内在性のノンコーディング RNA で、配列の相補性により標的となる mRNA の 3'-UTR に結合し、翻訳や発現の抑制したり、標的 mRNA の分解を促進したりするといわれている。近

年、循環器領域では心臓の発生や筋肥大、心不全、虚血性心疾患等において **microRNA** の関与が報告されてきた。しかし、不性脈領域においてははっきりとした **microRNA** の関連は証明されていない。

2. 研究の目的

心房細動の持続において、ヒト心房筋におけるイオンチャネルのリモデリングの成立に、**microRNA** が関与しているという仮説を立て、その立証をすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ヒト心房筋の全 RNA 抽出とイオンチャネル関連遺伝子の解析

①開心術を含む体外循環を用いた手術症例において、体外循環を確立する時に、動脈及び右心房に送血カニューレと脱血カニューレを設置する際に切除され、通常は廃棄される数 mm の心房筋組織（右心耳他）を、標本として冷凍保存した。

②保存標本の一部を用いて、同組織中に発現するイオンチャネルとその関連遺伝子の発現を定量した。

(2) ヒト心房筋の **microRNA** の網羅的解析

アジレント・テクノロジー株式会社の Human miRNA Microarray にて、コントロール患者と心房細動患者の心房筋検体の **microRNA** を網羅的に解析し、発現の異なった **microRNA** を同定した。

4. 研究成果

2009年1月より2011年12月まで採取したヒト心房筋検体は278例である。この中より今回は60台から70台の男性に限定して、心房細動患者9例、コントロール（洞性）患者11例を解析した。2つのグループの年齢、基礎疾患（弁膜症、大動脈疾患、虚血性心疾患等を含む）、心機能、内服などに有意差はなかった。糖尿病患者は除外した。

(1) **microRNA** の網羅的解析結果

コントロール群に比較して、心房細動患者において発現が低下していた **microRNA** は3個、発現が増加していた **microRNA** は36個同定された（図1）。

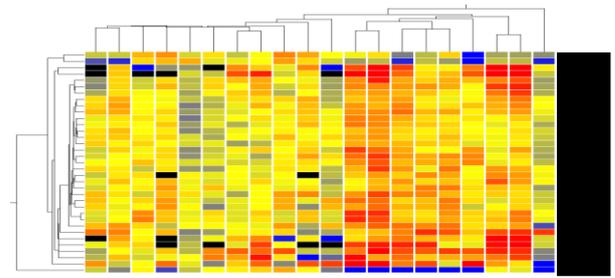


図1 ヒト心房筋における **microRNA** 発現（図左側11例がコントロール群、右側9例が心房細動群、右縁黒枠内は **microRNA** 名を伏せている。）明るい色ほど発現が増加、暗い色ほど発現が低下している。

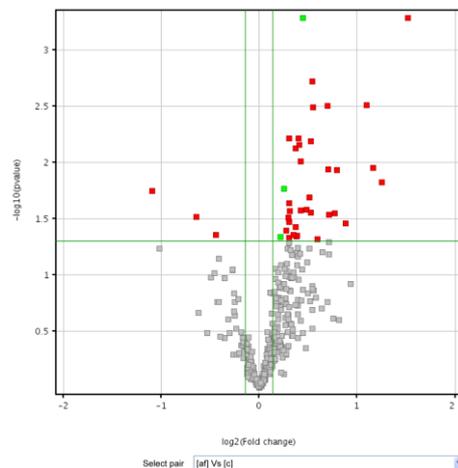


図2 コントロール群に比較して心房細動患者において発現が変化していた **microRNA** の発現の評価（横軸が倍率変化、縦軸が p 値）。図内、-が発現低下、+は発現増加が見られたもの。

(2) 発現が変化していた **microRNA** とイオンチャネルの相補性

microRNA の網羅的解析において有意に発現が変化していた、ある **microRNA** ファミリーの配列は、ある特定のイオンチャネル遺伝子の3' -UTR と相補性を示した。

例①

```

3'   XXXXXXXXXXXXXXXACAAAUGX
      |||||
5' ... GGGGAGGAAGAAGAGUGUUUACA...
  
```

例②

```

3'   XXXXXXXXXXXXXXXCAAAGU
      |||||
5' ... UGUGAUGUGACGCCAGUUACAU...

```

例①、②のごとく、ある microRNA ファミリーに心房細動の成因に深く関与しているあるイオンチャネルの 3' -UTR に相補性のある配列を認めた。

上段は microRNA、下段はイオンチャネルの mRNA の 3' -UTR である。

(3) イオンチャネル mRNA の評価

前述の結果に基づいて、それらのイオンチャネルの mRNA 発現レベルを評価した。これらのイオンチャネルはリアルタイム RT-PCR において、心房細動患者でコントロール群に比較して発現が低下していた。

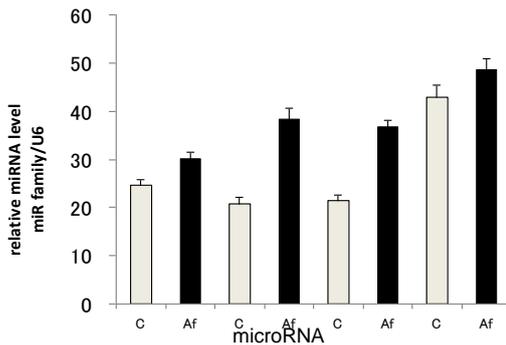


図3 ある microRNA ファミリーの発現レベル。左より 2 番目と 3 番目の microRNA は、心房細動患者において、コントロール群に比較して有意に発現が増加していた。C はコントロール群、Af は心房細動群。

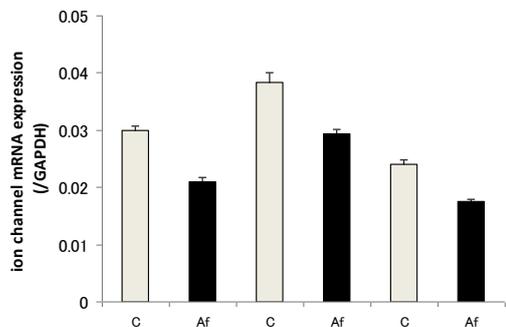


図4 3個のあるイオンチャネルの mRNA 発現レベル。C はコントロール群、Af は心房細動群。左端と右端の mRNA の発現レベルは、心房細動患者において有意にコントロール群より低下していた。

現在我々は、特定できた microRNA を新生ラット心筋細胞に遺伝子導入し、その細胞においてパッチクランプ法を用いて膜電流を記録することで、イオンチャネルの発現とキネティクス変化を解析し、今回見出した microRNA の、心房細動イオンチャネルリモデリングへの関与の整合性に関して、in vitro で確認を進めているところである。

また、網羅的解析において発現の変化を認め他 microRNA についても検討を重ねている。

さらに、同定した microRNA をノックダウンし心筋細胞へ遺伝子導入し、膜電位を記録してその変化を解析することで、治療への応用を目指している。

2013 年 5 月現在、我々は様々な疾患、年齢を含む約 350 症例のヒト心筋検体を有している。現段階では、microRNA の網羅的解析を行う症例は、性別を男性に限定し、さらに年齢も特定して選別しているが、今後さらに性別、年齢層、疾患等の条件付けを様々に変更して、より詳細な検討を重ねていく方針である。

5. 主発表論文等

(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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等
なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 英理子 (IWATA ERIKO)

大分大学・医学部心臓血管外科・医員

研究者番号：70457604

(2)研究分担者

小野 克重 (ONO KATISHIGE)
大分大学・医学部病態生理学講座・教授
研究者番号：40253778

(3)連携研究者

森島 真幸 (MORISHIMA MASAKI)
大分大学・医学部病態生理学講座・助教
研究者番号：40437934