

令和元年5月27日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09252

研究課題名(和文) 機能性ディスぺシアにおける、胃液中エクソソーム由来miRNA発現量の網羅的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of exosomal microRNA in gastric juice of the patients with functional dyspepsia

研究代表者

田中 史生 (Tanaka, Fumio)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：20623292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：胃液中エクソソーム由来マイクロRNA (miRNA)を用いたマイクロアレイおよびRT-PCR法によって、機能性ディスぺシア(Functional dyspepsia; FD)において健常者と比較してhsa-miR-933の発現量が有意に低下していることが判明した。またhsa-miR-933の発現量は症状スコアや心窩部痛の頻度と有意に逆相関しており、症状との関連性も示された。すなわち、hsa-miR-933はFDのバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、機能性ディスぺシアにおいて画期的な方法で新たな病態を解明し、バイオマーカーとしての有用性を見出したものであり、その学術的意義は高いと考えられる。本研究で見出した結果を用いて、将来的には診断ツールの作成や、治療応用への発展にも繋げてゆくことが可能である。機能性ディスぺシアは日本人の約20%と有病率の高い疾患であるため社会的意義も大きく、有益性を享受する患者数も極めて多いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：By using exosome-derived microRNA in gastric juice, microarray and qRT-PCR analysis revealed that the expression level of hsa-miR-933 was significantly decreased in patients with functional dyspepsia (FD) as compared to healthy controls. Furthermore, the expression level of hsa-miR-933 was negatively associated with dyspepsia score and the frequency of epigastric pain. Therefore, exosomal hsa-miR-933 in gastric juice could be a candidate biomarker for FD.

研究分野：神経消化器病学、消化器内科学

キーワード：心療内科学 消化器内科学 機能性消化管疾患 機能性消化管障害 機能性ディスぺシア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

機能性ディスぺプシア (Functional dyspepsia; FD)は有病率の高い疾患であり、様々な消化管機能異常が複雑に関与している。そのため酸分泌抑制薬や消化運動改善薬が使用されているもののその効果は限定的であり、新たな病態解明が急務だと考えられた。近年がん領域では liquid biopsy として低侵襲に体液を採取、分析することで病態評価を行う手法が広がっているが、FD では未だ既報がない。

2. 研究の目的

本研究では胃液中エクソソーム由来 microRNA (miRNA)を用いた、「liquid biopsy」という手法によって、*Helicobacter pylori* (HP)未感染のFDの新規病態解明、バイオマーカーの発見を目的とした。

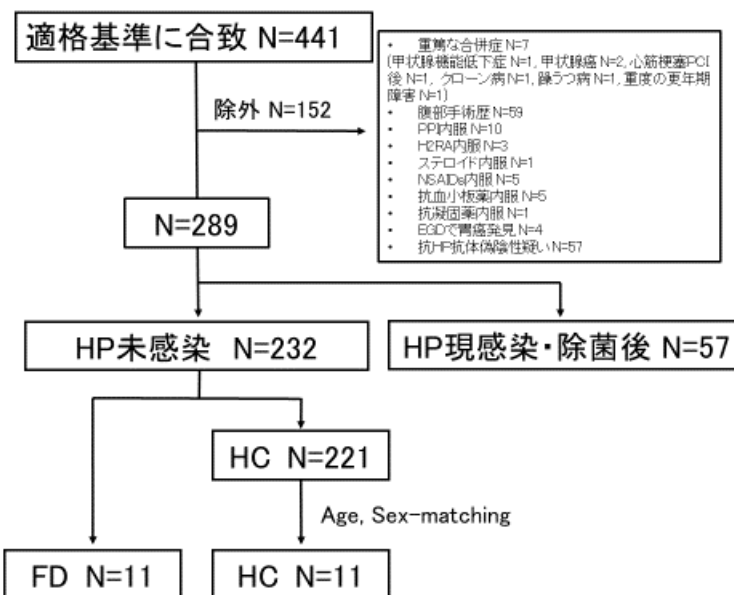
3. 研究の方法

2015年7月~2016年2月 大阪市立大学医学部附属病院先端予防医療部附属クリニック MedCity21における人間ドック受診者で適格基準に合致した441名を対象とした。*Helicobacter pylori*未感染かつ Rome 基準を満たすFD群と、年齢・性別を一致させた健常者 (Healthy control; HC)群で胃液中エクソソーム由来 miRNA 発現量を microarray にて網羅的に解析、2565種類からバイオマーカー候補の miRNA の絞り込みを行った。Microarray は 1. global normalization、2. 最も変動係数の小さい miRNA で内標補正、の2つの方法で検討した。さらには microarray の結果を quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR)法にて再確認した; validation assay。

4. 研究成果

(1) 対象患者の選定

対象となるFD患者は11名であった。Microarray は各群6名、qRT-PCR は各群5名で施行した。



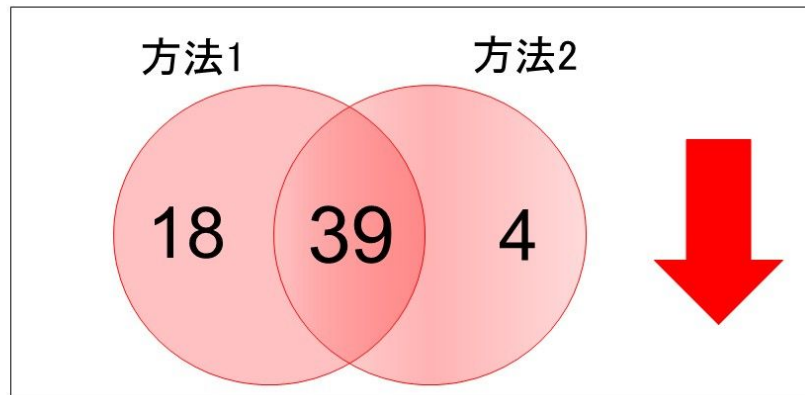
- HP未感染でRome III基準に合致する機能性ディスぺプシア(FD)患者は11名であった。
- Microarray; FD群、健常者(HC)群 各群6名で解析した。
- Validation assay; FD群、HC群 各群5名で解析した。

(2) Microarray

Global normalizationを行ったmicroarrayでは、FDで1種類のmiRNA発現量が有意に亢進し、一方では57種類が低下していた。最も変動係数の低いhsa-miR-6759-5pを用いて補正した検討では、FDで2種類が亢進、43種類が低下していた。これらの解析法で共通していたmiRNAは、FDで亢進していたものが1種類、低下していたものは39種類であった。亢進が認められたhsa-miR-4745-3p、および低下を認めたmiRNAから12種類を選択し、qRT-PCRの対象とした。

The results of microarray analysis

解析方法1、2で共通してFDで有意に発現量が亢進しているmiRNAは1種類、低下しているmiRNAは39種類だった。



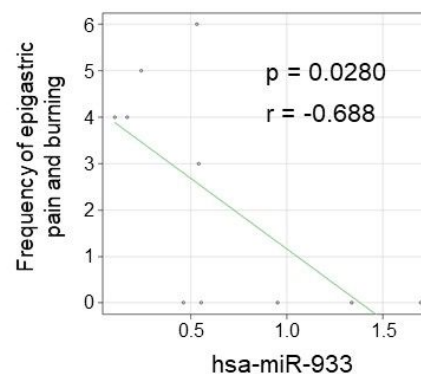
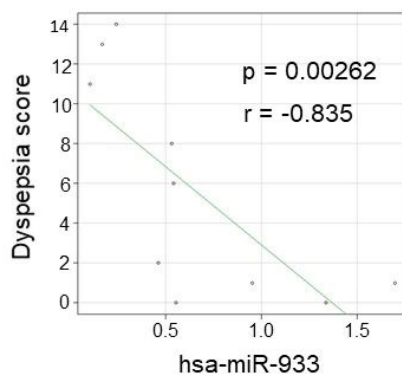
有意に亢進していたhsa-miR-4745-3p、および低下していたmiRNAから12種類を選択し、qRT-PCRを施行した。

(3) qRT-PCR

FDにおいて hsa-miR-933 は健常者の約 0.317 倍と有意な低下が認められ、microarray の結果の妥当性が確認された ($P=0.0317$)。また hsa-miR-933 発現量はディスペプシアスコア、心窩部痛・心窩部灼熱感の頻度とそれぞれ有意な負の相関を認め、症状との関連性が示された (それぞれ $P = 0.00262$, $r = -0.835$; $P = 0.0280$, $r = -0.688$)。

The correlation analysis between hsa-miR-933 and clinical symptoms

Variable	p value (correlation coefficient)
Dyspepsia score	0.00262 (-0.835)
Frequency of epigastric pain and burning	0.0280 (-0.688)
Frequency of postprandial fullness	0.0511 (-0.630)



(4) 結論

hsa-miR-933 は FD のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

(5) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

胃液中エクソソーム由来 miRNA を用いたバイオマーカーの既報は国内外で全くなく、インパクトが高いものと思われる。今後はさらに低侵襲な検査方法を確立するため、唾液を用いた miRNA 発現量解析を行い、唾液中でも FD で hsa-miR-933 の発現が低下しているかどうか確認する予定である。また hsa-miR-933 の生体内での機能、役割は未だ明らかではないため、基礎実験において解明してゆく予定である。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 米国 DDW (Digestive Disease Week) 2019 Poster session 2019.5.20
「EXOSOMAL HSA-MIR-933 IN GASTRIC JUICE AS POTENTIAL BIOMARKER FOR FUNCTIONAL DYSPEPSIA」
Fumio Tanaka, Shingo Takashima, Koji Otani, Shuhei Hosomi, Yasuaki Nagami, Noriko Kamata, Koichi Taira, Hirokazu Yamagami, Tetsuya Tanigawa, Toshio Watanabe, and Yasuhiro Fujiwara

2. 第 105 回 日本消化器病学会総会 主題演題 2019.5.9
ワークショップ 7: 機能性消化管障害診療の科学的エビデンス
「機能性ディスぺプシアにおける胃液中エクソソーム由来 miRNA 発現量の網羅的解析」
田中 史生、村上 善基、藤原 靖弘

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：該当せず

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：村上 善基

ローマ字氏名：(MURAKAMI, yoshiki)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。