

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18833

研究課題名（和文）サルコイドーシスぶどう膜炎におけるバイオマーカーとしてのmicroRNAの検討

研究課題名（英文）Examination of microRNA as a biomarker in sarcoidosis uveitis

研究代表者

金子 優（YUTAKA, KANEKO）

山形大学・医学部・講師

研究者番号：60536952

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、サルコイドーシスぶどう膜炎患者を対象とし、血液中のmicroRNA（miRNA）に関する網羅的な発現解析を行った。有意に発現量の変化がみられたmiRNAのうち、炎症性疾患に関連があるhsa-miR-155-5pが有意に発現低下していた。hsa-miR-155-5pの発現低下は、樹状細胞に関する免疫反応を増強させることで炎症誘発に関連する可能性がある一方、IL-6やTNFなどの炎症性サイトカインの産生を抑制させるといった逆の働きも報告されている。このmiRNAがサルコイドーシスぶどう膜炎患者の炎症活動性や治療反応におけるバイオマーカーとなる可能性を示すにはさらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコイドーシスぶどう膜炎患者の病態を反映するmiRNAを同定することができれば、それらをバイオマーカーとして用いることで、炎症活動性の評価や現在行なっている薬物治療に対する反応性を的確に把握することが可能となり、または治療の標的分子としても期待できる。その結果、今まで長期間にわたり薬剤を継続しなければならなかったサルコイドーシスぶどう膜炎患者において、局所のおよび全身的副作用が生じるリスクを減らし効果の良い治療を行うことが可能となる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted a comprehensive expression analysis of microRNA (miRNA) in blood in patients with sarcoidosis uveitis. Among the miRNAs whose expression levels were significantly changed, hsa-miR-155-5p, which is associated with inflammatory diseases, was significantly reduced in expression. Decreased expression of hsa-miR-155-5p may be associated with pro-inflammatory by enhancing the immune response of dendritic cells. On the other hand, it has also been reported that it has the opposite effect of suppressing the production of inflammatory cytokines such as IL-6 and TNF. Further studies are needed to show that this miRNA may be a biomarker in inflammatory activity and therapeutic response in patients with sarcoidosis uveitis.

研究分野：眼炎症疾患

キーワード：サルコイドーシス ぶどう膜炎 microRNA

## 1．研究開始当初の背景

指定難病でもあるサルコイドーシスは種々の臓器障害を呈する原因不明の全身性疾患であり、非乾酪性類上皮細胞肉芽腫を主体とした肉芽腫性血管炎と microangiopathy を伴い、多彩な臨床症状を呈する。眼病変は肺病変について多く、ぶどう膜炎の主要な原因疾患となっており、日本国内の疫学調査においても、ぶどう膜炎全体（対象 3,830 名）の 10.6%を占め最多となっている<sup>1)</sup>。その治療にはステロイド剤を中心とした免疫抑制剤を局所投与または全身投与で用いるが、治療開始後は炎症の再燃がなければ医師の経験と裁量により一定量を減量する（例：2～4 週ごとにプレドニゾロンを 5～10mg ずつ減量）のが現状であり、何らかの血液中バイオマーカーを参考にしているわけではない。ゆえに、減量した直後に炎症が再燃し、再びステロイドや免疫抑制剤を増量しなければならないということをよく経験する。その結果、長期間にわたり薬剤を継続しなければならず、局所・全身の副作用を生じることが問題となっている。

microRNA(以下、miRNA)は機能性 non-coding RNA の 1 種で、18～24 塩基長からなる。それ自身が遺伝子の最終産物であり、標的となる mRNA の発現を制御することで細胞の発生や分化、癌化など様々な生命現象に関与していることが明らかとなっている。最近では、自然免疫や獲得免疫においてもその重要な役割が報告されている。

サルコイドーシスぶどう膜炎患者の病態を反映する miRNA を同定することができれば、それらをバイオマーカーとして用いることで、炎症活動性の評価や薬物治療に対する反応、または治療の標的分子として期待できるのではないかと考えた。

## 2．研究の目的

サルコイドーシスぶどう膜炎患者の血液サンプルを用いて網羅的な miRNA 発現解析を行うことで、サルコイドーシスぶどう膜炎の新たなバイオマーカーとなりうる miRNA を同定することを目的とした。

## 3．研究の方法

(1) サルコイドーシスぶどう膜炎患者群8例、対照群（非炎症性疾患の手術症例）3例を対象とし、通常の採血方法にて血液検体1mLを採取した。

(2) 血液検体を採取後、山形大学医学部附属病院内にて血清を分離し、凍結状態で（株）東レ・（株）鎌倉テクノサイエンスに郵送し、3D-GENE<sup>®</sup>マイクロRNAチップを用いて網羅的に miRNA の抽出・発現解析を行った。

(3) サルコイドーシスぶどう膜炎患者群と対照群間における miRNA 発現量比較解析を行い、サルコイドーシスぶどう膜炎群において有意に発現が上昇あるいは低下している miRNA を同定した（群間で発現量が2倍以上または0.5倍以下となっている miRNA を変動ありとした）。

## 4．研究成果

解析の結果、対照群と比較し、サルコイドーシスぶどう膜炎患者群において hsa-miR-6869-3p、hsa-miR-12127 の有意な発現上昇、hsa-miR-363-3p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-8080、hsa-miR-155-5p の有意な発現低下がみられた。これらの miRNA のうち、hsa-miR-155-5p は、樹状細胞の成熟の過程で高度に発現上昇し、Toll-like Receptor/IL-1 経路に関与する蛋白であ

る TAB2 を制御して IL-1 シグナルを制御する可能性が報告されている<sup>2)</sup>。本研究における hsa-miR-155-5p の発現低下は、これらの免疫反応を増強させることで、サルコイドーシスぶどう膜炎患者の炎症惹起に関連している可能性がある。全身性エリテマトーデスにおいては、本研究と同様に、健常対照群に比べ患者血清中の hsa-miR-155 の発現が有意に低下していたが、カルシトリオール治療により発現が上昇したとの報告もある<sup>3)</sup>。

一方、hsa-miR-155-5p は IL-2 受容体シグナルの negative regulator である suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1 の発現低下を通して、IL-6 や TNF などの炎症性サイトカインの産生を増加させており<sup>4)</sup>、関節リウマチ患者の末梢血リンパ球においては、hsa-miR-155 の発現が有意に上昇していたとの報告がある<sup>5)</sup>。本研究において、これとは逆にサルコイドーシスぶどう膜炎患者で hsa-miR-155-5p の発現低下がみられたことは予想に反した結果であり、理由は現時点で不明である。

以上より、炎症性疾患の中でも、miRNA の発現パターンは多様であり、かつ疾患の活動性における検体採取のタイミングや治療薬の有無などもこれらの結果に影響を及ぼしていると考えられる。今回は施行できなかったが、同一患者における miRNA の発現量モニタリングを行うことで、炎症活動性と miRNA の関連を調べる必要性があると考えられた。本研究で発現に有意差がみられた miRNA がサルコイドーシスぶどう膜炎患者の炎症活動性の評価や薬物治療に対する反応をみるための新たなバイオマーカーとなる可能性を示すにはさらなる検討が必要である。

#### 参考文献：

- (1) Ohguro N, Sonoda KH, et al. The 2009 prospective multi-center epidemiologic survey of uveitis in Japan. *Jpn J Ophthalmol.* 2012;56(5):432-5.
- (2) Ceppi M, et al. MicroRNA-155 modulates the interleukin-1 signaling pathway in activated human monocyte-derived dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2009;106(8):2735-40.
- (3) Wang G, et al.: Serum and urinary cell-free MiR-146a and MiR-155 in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2010;37:2516-22.
- (4) Jinshan Ye, Ruiwei Guo, et al. MiR-155 Regulated Inflammation Response by the SOCS1-STAT3-PDCD4 Axis in Atherogenesis. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 8060182.
- (5) Pauley K.M., et al.: Upregulated miR-146a expression in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(4):R101.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|