

機関番号：12602  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2009～2010  
 課題番号：21790944  
 研究課題名（和文） 関節リウマチの病態におけるmicroRNAの役割の解明と治療応用の検討  
 研究課題名（英文） Identification of miRNA as therapeutic target in rheumatoid arthritis  
 研究代表者  
 溝口 史高（MIZOGUCHI FUMITAKA）  
 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教  
 研究者番号：60510360

研究成果の概要（和文）：関節リウマチの主病態である滑膜線維芽細胞の増殖・活性化を担うmicroRNAを同定し、治療標的としての可能性を明らかにするため、関節リウマチ由来滑膜線維芽細胞に約900種類のmicroRNA阻害剤をそれぞれ導入し、TNF- $\alpha$ による細胞増殖や活性化を制御するmicroRNA阻害剤を複数同定した。本研究はこれまで困難であった関節リウマチにおけるmicroRNAを標的とした治療の端緒となるものである。

研究成果の概要（英文）：Hyperplasia and activation of synovial fibroblasts are the characteristic findings of rheumatoid arthritis. To identify the key microRNAs to regulate the pathogenesis of rheumatoid arthritis, 900 microRNA inhibitors are introduced to the synovial fibroblasts derived from the patients of rheumatoid arthritis, and examine the influence to the cell proliferation and activation. We identified some microRNA inhibitors which suppress the cell proliferation and the production of MMP-3 and IL-6. These microRNAs could be the new therapeutic target of rheumatoid arthritis.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 ・ 膠原病・アレルギー内科学

キーワード：関節リウマチ、滑膜線維芽細胞、microRNA

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 関節リウマチに対する治療の現況と課題

関節リウマチは関節滑膜組織の炎症と増生により、多関節炎とこれによる骨関節破壊を来す疾患である。近年、TNF- $\alpha$ やIL-6などの炎症性サイトカインを標的とした生物学的製剤により、関節リウマチの治療成績は大きな改善が得られるようになってきてい

るが、依然治療抵抗例もあり、また感染症に対する危険性などから、新たな治療法の開発が依然必要とされている。

(2) 関節リウマチとmicroRNA

microRNAは約22塩基からなるRNAであり、複数の標的遺伝子の発現を抑制することにより細胞の増殖・分化・細胞死などの調節を行い、発生過程や様々な疾患において重要な

役割を担っている。近年、血液細胞においても microRNA の役割の解析が進められ、免疫における microRNA の重要性が徐々に明らかとなりつつある。また近年、関節リウマチの滑膜組織における microRNA の発現やその働きについての報告もなされてきている。しかし、生体内において実際にどの microRNA がどのように関節リウマチの病態に関与しているか、また、治療応用への可能性については未だ報告はなく、不明のままである。

## 2. 研究の目的

本研究では関節リウマチの病態に関与する重要な microRNA を同定し、microRNA を標的とした治療応用の可能性を明らかにすることを目的とし検討を行った。

## 3. 研究の方法

関節リウマチにおける滑膜線維芽細胞の増殖・活性化を制御する microRNA を同定するため、関節リウマチ患者の手術検体より患者の同意を得て採取・培養した滑膜線維芽細胞を用いた。

関節リウマチ由来滑膜線維芽細胞に対し、約 900 種類の microRNA 阻害剤をそれぞれ導入し、TNF- $\alpha$  の刺激による滑膜線維芽細胞の増殖や IL-6, MMP-3 産生に対する影響につき網羅的に解析を行った。

これらの解析にて滑膜線維芽細胞の増殖や活性化を抑制することのできる microRNA 阻害剤については、さらに複数の患者由来の滑膜線維芽細胞を用いて検討を行った。

また、阻害剤による網羅的解析にて治療標的と考えられた microRNA については、RT-PCR にて発現量の評価を行った。

## 4. 研究成果

microRNA 阻害剤による網羅的解析の結果、900 種類の microRNA 阻害剤のうち、滑膜線維芽細胞の増殖や活性化を抑制する microRNA 阻害剤を複数同定した。

これらの microRNA の滑膜線維芽細胞における発現につき RT-PCR にて検討を行い、滑膜線維芽細胞における発現レベルが低い microRNA については、阻害剤の非特異的効果と考え、治療標的 microRNA の候補から除外した。

更に複数の患者由来の滑膜線維芽細胞にて検討を行い、再現性の得られた microRNA を治療標的候補 microRNA として抽出した。

これまで microRNA の解析手法として、特定の細胞や組織における microRNA の発現を網羅的に解析し、発現レベルが高いものに注目し、その働きを解析するという方法が一般的に広く用いられている。このような方法は特定の細胞や組織において高い発現を認め

る microRNA の働きを調べるという目的にはかなうものの、特定の疾患に対する治療標的となりうる microRNA を同定するという目的には適していない。今回我々が用いた microRNA 阻害剤を用いた網羅的解析は、細胞の増殖や活性化など、主病態を担う microRNA を直接同定することのできる方法であり、これまで困難であった治療を念頭においた microRNA の同定手法として有用であることを示す成果と考えられる。

現在、同定した、microRNA の関節リウマチの滑膜線維芽細胞における働きや標的遺伝子につき検討を進めており、今後、これらの microRNA を阻害することによる、関節炎に対する治療効果についても検討をすすめていくこととしている。

## 5. 主な発表論文等

(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)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計◇件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

溝口 史高 (MIZOGUCHI FUMITAKA)

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究  
科・助教  
研究者番号：60510360

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：