

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 24 年 5 月 1 日現在

機関番号：13201
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22790969
 研究課題名（和文）川崎病急性期における自然免疫応答による炎症の制御機構の解明
 研究課題名（英文）The mechanism of inflammation in autoimmune response during the acute phase of Kawasaki disease.
 研究代表者
 齋藤 和由 (SAITO KAZUYOSHI)
 富山大学・大学病院・助教
 研究者番号：30566097

研究成果の概要（和文）：川崎病急性期における流血中の人末梢血単核球細胞における miR の変化の同定を試みたところ、川崎病に特異性が高いと考えられる 5 種の miR (miR-93、miR-877、miR-92b、miR-182、miR-296-5p) が同定された。miR-93 は *VEGFA* の発現を調節し、川崎病冠動脈病変における重要なシグナル伝達系を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We identified 5 miRs, miR-93, miR-877, miR-92b, miR-182 and miR-296-5p, which were highly specific to the acute phase of Kawasaki disease. In particular miR-93 likely controlled the expression of *VEGFA* and probably has an important role in pathogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：医学・小児科学

キーワード：川崎病、マイクロ RNA、VEGF-A、血管炎

1. 研究開始当初の背景

我々は川崎病の急性期において、その発症や血管病変の進展に miR が重要な役割を担っていると仮定した。

2. 研究の目的

急性期川崎病に関与する miR を明らかにし、messenger RNA (mRNA) との関連を検討すること。

3. 研究の方法

我々は急性期川崎病患者 4 名、川崎病以外の熱性疾患患者 (ウイルスまたは細菌感染症) 6 名

および年齢、性別を合わせた健常対照群 6 名から末梢血単核球細胞を分離し、mRNA および miR の microarray を施行した。川崎病患者はすべて標準治療に反応した患者とし、治療前、治療開始後 2-4 日および 7-10 日に全血 4ml を採取した。データは GeneSpring GX 11.0 software および Ingenuity Pathways Analysis tools を用いて解析した。(Table 1)

Table 1. Demographic data of KD patients and two control groups

	Kawasaki disease (n=4)	Febrile disease (n=6)	Healthy controls (n=6)
Age at onset, months old	3-47 (15)	8-49 (21.5)	12-40 (24.5)
gender, Male/ female	2/2	3/3	2/4
CAL, +/-	0/4	0/6	0/6
CRP, mg/dl	2.97-7.91 (4.63)*	0.05-3.14 (1.68)*	ND
White blood cell count, /mm ³	14300-18300 (16010)	5100-24100 (9900)	7230-13060 (9155)
Neutrophils, %	44-86 (44)	20-78 (51)	31-59.5 (36.5)
Lymphocytes, %	10-52 (40.5)	20-75 (41.5)	47-64 (53)
Monocytes, %	2 (2)	2-21 (6)	3-11(5)
Platelet count, x10 ⁴ /mm ³	33.2-47.4 (38.4)	24.2-44.0 (27.2)	25.3-42.7 (33.35)
Na, mmol/l	132-136 (133.5)	ND	ND
AST, IU/L	22-140 (64.5)	24-63 (32)	29-51 (44)
Duration of fever, days	3-7 (6)	2-7 (5)	ND

Demographic data of each group shows there were no significant differences between the KD patients and the control groups except that CRP levels were higher in the KD patients. P values were obtained using a two-sample *t* test or Fisher's exact test. () indicates median, * indicates P<0.01, and ND indicates no data

4. 研究成果

1) miRに関して: 全847miRのうち、川崎病に特異的と考えられるmiRは以下の5種あり、治療前、コントロールと比較して、miR-93, miR-877は発現が有意に低下、miR-92b, miR-182, miR-296-5pは発現が有意に亢進していた。治療後、これら5種のmiRの発現はすべて正常化した。(Table 2, Figure 1)

2) miRとmRNAの関係: 川崎病特異的に変化した5種のmiRとの関連が報告されている、治療前後で有意に変化したmRNAは12種であった。これらのうち、miR-93によって制御されていると報告のある *VEGFA* の発現も治療によって正常化した。miR-93と *VEGFA* の発現を調べると強い負の相関を認めた ($R^2=0.9683$)。(Figure 3-5)

Table 2. mRNAs related to differentially expressed miRs

miRs	up-regulated mRNA				down-regulated mRNA			
	<i>Gene Symbol</i> (Protein)	pre	post-1	fold change	<i>Gene Symbol</i> (Protein)	Pre	post-1	fold change
miR-93	<i>SGCZ</i> (sarcoglycan zeta)	23.4	4.2	0.18	<i>DIP2CDIP2</i> (disco-interacting protein 2 homolog C)	92.4	170.7	1.85
	<i>FNDC3B</i> (fibronectin type III domain containing 3B)	661.8	363.9	0.5494	<i>C10orf140</i> (chromosome 10 open reading frame 140)	6.3	13.4	2.1
	<i>TSHZ3</i> (teashirt zinc finger homeobox 3)	604.5	406.9	0.6731	<i>ICK</i> (intestinal cell (MAK-like) kinase)	3.9	12.6	3.2
	<i>SEC24D</i> (SEC24 family, member D (S. cerevisiae))	95.6	40.8	0.427	<i>OTUD7A</i> (OTU domain containing 7A)	6.8	15.8	2.3
	<i>VEGFA</i> (vascular endothelial growth factor A)	72.6	28.8	0.397	<i>CYBRD1</i> (cytochrome b reductase 1)	42.3	72.8	1.72
miR-182	<i>BNC2</i> (basonuclin 2)	33.5	14.6	0.435	?			

NOTE: Targets of miR-92b, 296-5b, 877 have not been identified.

Among the many RNAs whose expression was altered in the KD patients, several have been reported to be regulated by the miRs that were differentially expressed. Examples of these are listed here.

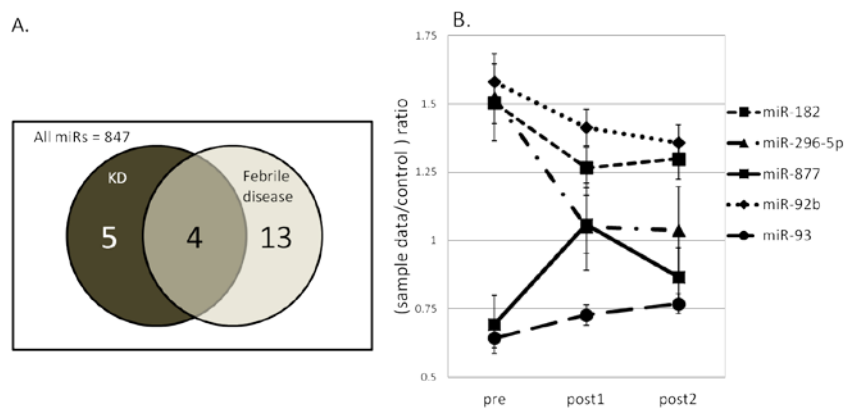


Figure 1.

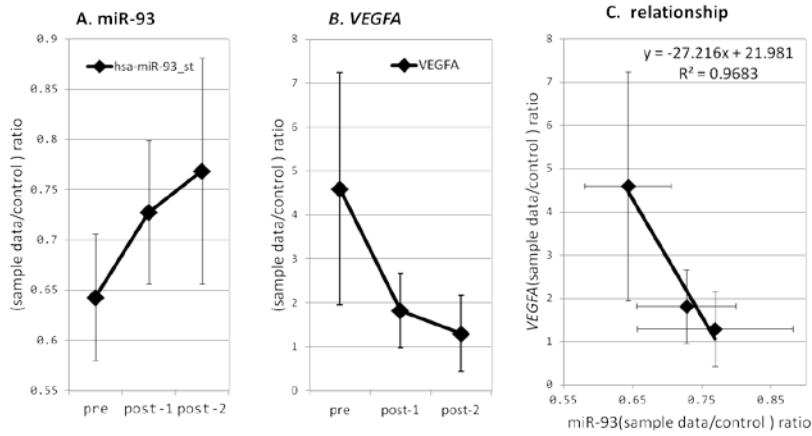


Figure 3.

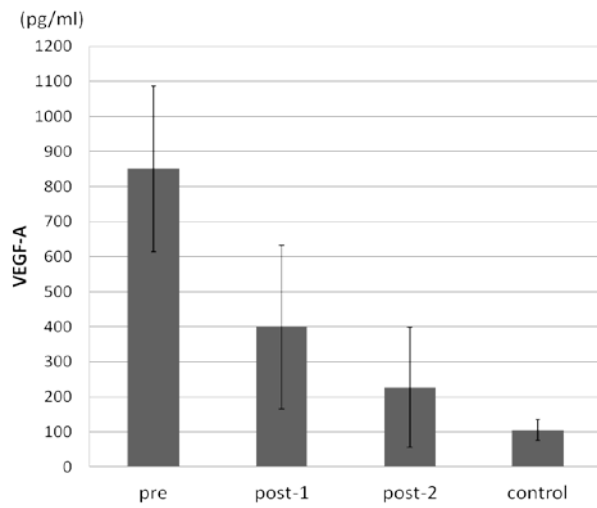


Figure 4.

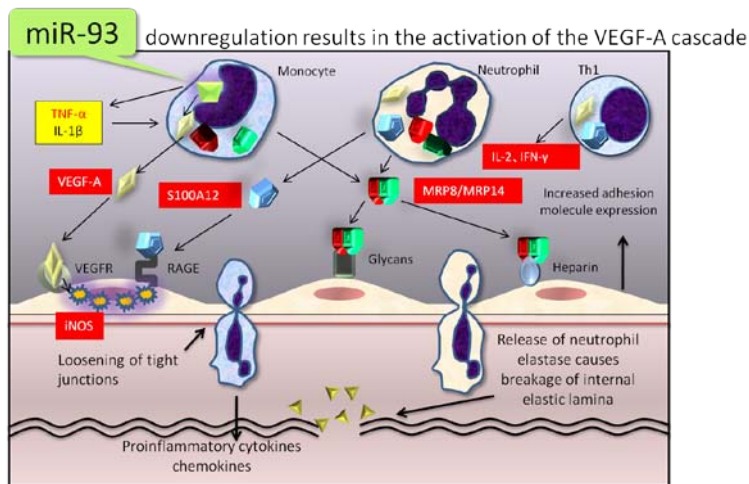


Figure 5.

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1件)

- ① 市田 蔭子、齋藤和由、川崎病急性期における miRNA による NF-kB を中心とした自然免疫応答による炎症の制御機構の解明、厚生労働省研究費補助金、重症川崎病患者に対する免疫グロブリン・ステロイド初期併用投与の効果を検討する前方視的無作為化比較試験 平成 22 年度研究年度終了報告書 , 2011. 4、p60-62 (査読無し)

〔学会発表〕(計4件)

- ① 齋藤和由、急性期川崎病の流血中末梢血単核球細胞におけるマイクロ RNA による mRNA の発現制御の可能性～miR-93 による VEGFA の制御～、第 114 回日本小児科学会学術集会、2011.8.14、東京
- ② 齋藤和由、急性期川崎病の流血中末梢血単核球細胞におけるマイクロ RNA による mRNA の発現制御の可能性、第 75 回日本循環器学会学術集会、2011.8.2、横浜
- ③ Kazuyoshi Saito, MicroRNAs May Control mRNA In Circulating PBMCs During The Acute Phase Of Kawasaki Disease、The 45th Annual Meeting for the Association for European pediatric cardiology、2011.5.20、Granada, Spain
- ④ Kazuyoshi Saito, MicroRNAs may control mRNA networks in circulating PBMCs during the acute phase of Kawasaki disease、AHA 2010 Chicago、2010/11/13-17、McCormick Place

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

齋藤 和由 (SAITO KAZUYOSHI)

富山大学・大学病院・助教

研究者番号：30566097

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし