

機関番号：32666

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659786

研究課題名(和文) 剖検肺組織標本のマイクロRNA網羅的発現解析による羊水塞栓症発症機序解明への挑戦

研究課題名(英文) Micro RNA expression profile in lungs of the autopsied patients with amniotic fluid embolism

研究代表者

米山 剛一 (YONEYAMA, Koichi)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：90220772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円、(間接経費) 810,000円

研究成果の概要(和文)：今回、羊水塞栓症3例、および羊水塞栓症以外で死亡に至った妊産婦死亡例1例の剖検により得られた肺組織を対象とした。

RNAの質の評価であるA260(核酸)/A280(蛋白)の値は良好と判断される1.8-2.0の範囲に入っていた。

未だ研究途上で今後、症例数を追加し、検討する必要があるが、羊水塞栓症症例の肺組織標本において非羊水塞栓症の肺組織標本と比較し、5種類のマイクロRNAが1.5倍以上の強度で増加していた。また、12種類のマイクロRNAが1.5倍以上に減弱していた。また、網羅的に解析したマイクロRNAの関連を評価するためにヒートマップを作成した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the difference of micro RNA (miRNA) expression profiles between in lungs of the autopsied patients with amniotic fluid embolism and in those with non-amniotic fluid embolism. We used formalin fixed paraffin embedded lung tissues of the three autopsied patients with amniotic fluid embolism and one autopsied patient with non-amniotic fluid embolism as a control. RNA was extracted from formalin fixed paraffin embedded lung tissues. The qualities of extracted RNA were evaluated by using A260(nucleic acid)/A280(protein) ratio. Then, miRNA expression profiles were analysed by Toray miRNA Oligo Chip. In lung tissues of the patients with amniotic fluid embolism, intensities of five miRNAs increased more than 1 1/2 times than in those with non-amniotic fluid embolism. Contrary, in lung tissues of the patients with amniotic fluid embolism, intensities of 12 miRNAs decreased more than 1 1/2 times than in those with non-amniotic fluid embolism.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：羊水塞栓症 マイクロRNA

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景 (本研究に関連する国内・国外の研究動向、着想にいたった経緯)

miRNA は、遺伝子の発現を調節する機能を有する 18-25 塩基程度の小さな non-coding RNA (蛋白質に翻訳されない RNA) である。ヒトでは既に 940 以上の miRNA が同定されている。miRNA は主に翻訳阻害と messengerRNA (mRNA) の切断 (分解) という 2 つのプロセスで標的となる複数の遺伝子を制御している。ヒトの発生、形態形成、発がん (Calin, G.A. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101: 2999-3004, 2004) 等と miRNA の関連が報告されている。

一般に疾患と miRNA の研究ではまず、病変部と非病変部の組織における miRNA の発現を網羅的に比較検討し、両者間で発現変動の大きい miRNA を抽出する。次に、絞り込んだ miRNA がどの遺伝子を調節しているかを確認するという手法が用いられる。

申請者はこれまで羊水塞栓症の臨床病理学的研究を継続してきた (米山剛一、他 過去 25 年間に関与した羊水塞栓症 10 症例の臨床病理学的検討. 第 61 回日本産科婦人科学会)。また、同時に子宮体癌を中心に miRNA と発がんの研究を継続中である。**これらの背景から剖検例の肺のパラフィンブロック標本を用いた miRNA の網羅的発現解析による羊水塞栓症発症機序解明の研究の着想に至った。**

2. 研究の目的

羊水塞栓症剖検例の肺のパラフィンブロック標本から RNA を抽出し、microRNA (miRNA) の発現解析を行うという、今までと全く異なるアプローチで羊水塞栓症の発症機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

羊水塞栓症と最終診断された症例および羊水塞栓症以外の妊産婦死亡症例の肺の組織ブロックを準備する。ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) された肺のブロックを 10 ミクロンに薄切する。FFPE RNA 分離キットを用いて RNA を抽出する。RNA の評価としては A260 (核酸)/A280 (蛋白) で評価した。A260 (核酸)/A280 (蛋白) の値は 1.8 ~ 2.0 を良好と判断した。東レ社製のマイクロ RNA アレイキット miRNA Oligo Chip を用いて網羅的発現解析にて検討する。

4. 研究成果

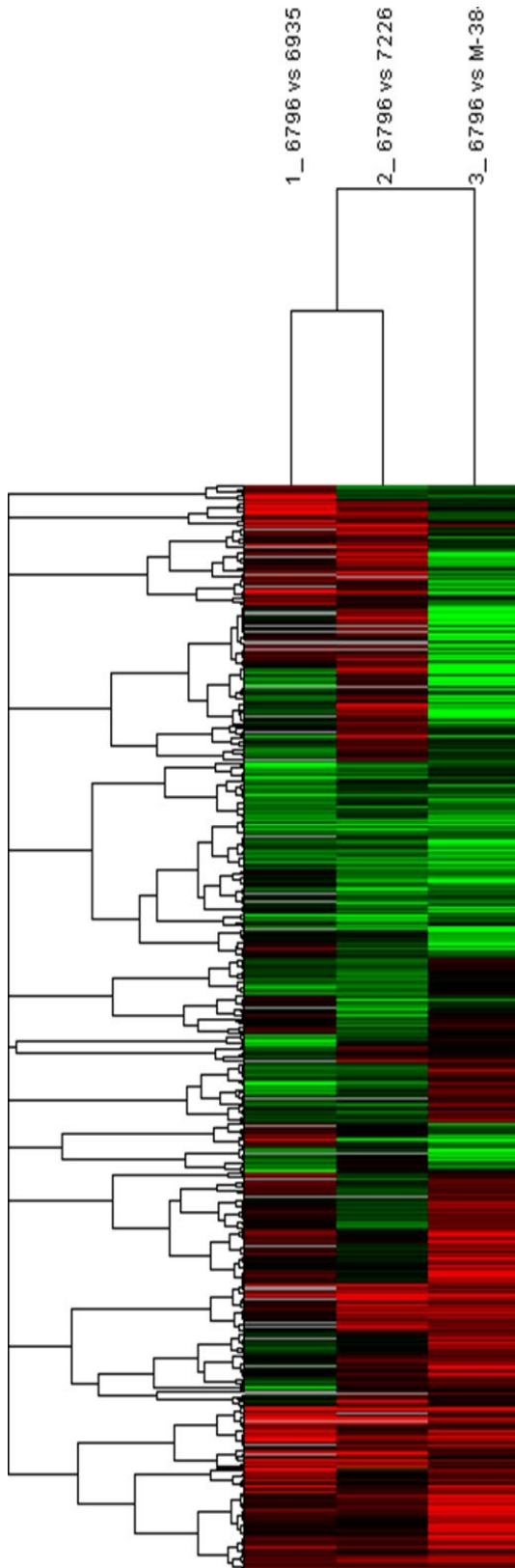
今回、羊水塞栓症 3 例、および羊水塞栓症以外で死亡に至った妊産婦死亡例 1 例の剖検により得られた肺組織を対象とした。

RNA の質の評価である A260 (核酸)/A280 (蛋白) の値は良好と判断される 1.8-2.0 の範疇に入っていた。

未だ研究途上で今後、症例数を追加し、検討する必要があるが、羊水塞栓症症例の肺組織標本において非羊水塞栓症の肺組織標本と比較し、5 種類のマイクロ RNA が 1.5 倍以上の強度で増加していた。また、12 種類のマイクロ RNA が 1.5 倍以上に減弱していた。また、網羅的に解析したマイクロ RNA の関連を評価するためにヒートマップを作成した。以下に、その結果を示す (図 1)。

また、羊水塞栓症の臨床的特徴を明らかにするために当施設および関連施設で経験した、今回研究の対象とした羊水塞栓症を含む 10 症例の臨床的事項をまとめ論文化した。

図 1



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. Koichi Yoneyama, Atsuko Sekiguchi, Takashi Matsushima, Rieko Kawase, Akihito Nakai, Hirobumi Asakura and Toshiyuki Takeshita. Clinical characteristics of amniotic fluid embolism: An experience of 29 years: J Obstet and Gynaecol Res 2014; 査読有 in Press

[学会発表](計3件)

1. 米澤美令、米山剛一、松本二郎、白銀 恵、中西一步、村川裕子、高屋 茜、山田 隆、渡辺美千明、中井章人、朝倉啓文、竹下俊行 頸管縫縮系抜糸は羊水塞栓症の危険因子となり得るか 第123回関東連合産科婦人科学会(2012年6月17日、東京)
2. 米山剛一、米澤美令、高屋 茜、永野玲子、伊藤麻利江、中井章人、朝倉啓文、竹下俊行 頸管縫縮系抜糸後に発症した致死的羊水塞栓症2症例の検討 第48回日本周産期・新生児学会(2012年7月8日~7月10日埼玉、大宮)
3. 米山剛一、関口敦子、松島 隆、川瀬里衣子、中井章人、朝倉啓文、竹下俊行 発症時期に視点を置いた羊水塞栓症の臨床的特徴 第66回日本産科婦人科学会学術講演会(2014年4月18日~4月20日、東京)

〔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0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

米山 剛一 (YONEYAMA Koichi)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：90220772

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：