

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890165

研究課題名(和文) シェーグレン症候群の疾患特異的microRNAの同定とその治療応用

研究課題名(英文) Identification of microRNA which play important role in Sjogren's Syndrome

研究代表者

岩本 直樹 (Iwamoto, Naoki)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号：80437897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：Sjogren 症候群(SS)において、異常発現/制御されているmicroRNAの同定をおこなったところ、miR-181bがcontrolに比べ発現上昇していた。また、miR-181bはIFN- γ の刺激によりその発現が抑制された。今回の研究でSSではmiR-181bが異常発現しており、その病態に関与していることが示された。今後はmiR-181bの標的遺伝子の同定や、SS唾液腺細胞に与える影響を解析し、その是正によりSSの病態が改善されることを検証していく予定である。

研究成果の概要(英文)：We found miR-181b was up-regulated in Sjogren syndrome (SS) salivary epithelial cells as compared with controls. The stimulation of IFN- γ decreased the levels of miR-181b. Our data suggested that in SS, miR-181b was up-regulated and IFN- γ regulates the expression of miR-181b in SS salivary gland. Thereby upregulation of miR-181b might play important role in pathogenesis of SS. Future experiment about function of miR-181b in SS and analysing predicted target of miR-181b are needed.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：膠原病・アレルギー内科学

キーワード：microRNA Sjogren症候群 IFN- γ

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群(以下 SS)は、涙腺・唾液腺を中心とする外分泌器官を主な標的臓器として発症し、乾燥症状を引き起こす原因不明の難治性自己免疫疾患である。乾燥症状のみならず、進行例では全身諸臓器に様々な症状を呈し、リンパ球の活性状態の持続に起因するリンパ増殖性疾患も併発する。このようなポリクローナルおよびモノクローナルな免疫異常が惹起されるにも関わらず、関節リウマチや全身性エリテマトーデスなどの他の自己免疫疾患と比較し、免疫抑制剤や生物学的製剤による治療は確立しておらず、SS に対する疾患特異的治療法は現在までない。このような状況を鑑みると、新たな治療標的の確立が急務であると思われる。近年、micro RNA(miRNA)が自己免疫疾患を含め、多様な疾患への病態制御、進展において重要な役割を担うことが明らかとなっている。異常制御/発現された miRNA の是正による影響は疾患特異的なことが多く、生理的な状態であれば、正常細胞への miRNA の導入/阻害による影響は少ない。すなわち、治療応用した際、有効性のみならず、安全性が期待できる。以上の点より、SS の病態形成における miRNA の役割を研究することは、今後の SS 患者の治療において甚だしく有用になると考えた。

2. 研究の目的

SS において異常発現もしくは異常制御されている miRNA を同定する。また、我々は以前の研究により IFN- γ が SS 由来の唾液腺細胞において MCP-1 の産生を誘導することを見出している(Rheumatology. 2010)。そこで、SS の病態に重要な役割を果たしていると思われる IFN- γ による miRNA の発現変動を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 口唇生検により得られた唾液腺組織より、唾液腺細胞を単離培養したのち、mirVana isolation kit(Ambion 社)を使用して、microRNA を含む totalRNA を抽出した。

2) 口唇生検での病理所見のうち、1 視野に 50 個以上の単核球の浸潤がみられず、臨床的にも SS の診断基準を満たしていない症例を control とし、control 群と SS 群の microRNA の発現を Specific single TaqMan miRNA assays (Ambion 社)を用い定量的 RT-PCR 法にて測定した。

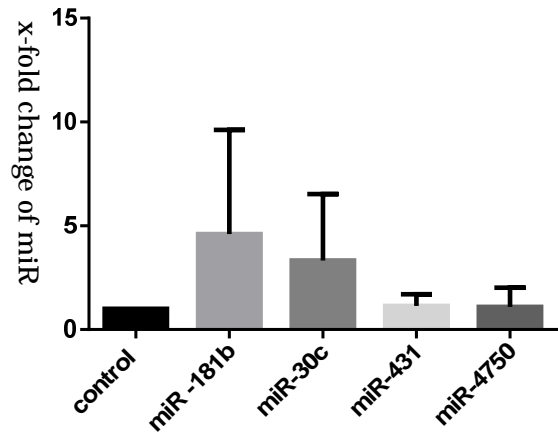
3) 唾液腺細胞を IFN- γ (R&D 社)にて 48 時間刺激し、1)と同様の方法にて RNA を抽出、2)で同定された microRNA の IFN- γ による発現への影響を解析測定した。

4) 2) で同定された miRNA について MiRecords (<http://mirecords.biolead.org/>)

を用いた in silico 解析を行い、その標的遺伝子を予測する。

4. 研究成果

1,2) SS群(n=5)とcontrol(n=1)でのmicroRNA発現を検討した。結果を図1に示す。



また、それぞれのmicroRNA発現のcontrol と比べた発現上昇、減少は以下のとおりである。

- miR-181bはSS5例すべてにおいてcontrol と比べ発現の上昇を認めた。
- miR-30cはSS3例で発現上昇していたが、2例では発現が減少していた。
- miR-431はSS1例で発現減少し、残り4例で発現上昇していた。
- miR-4750は3例で発現減少し、1例で発現上昇していた。

3) 2) の結果のうち、すべての症例で発現上昇していたmiR-181bについて、IFN- γ 刺激の影響を検討したところ、IFN- γ により miR-181bの発現は減少を認めた(0.71倍)。

4) in silico 解析で明らかとなった miR-181b の予測される標的遺伝子のうち細胞浸潤やサイトカイン、ケモカインに関与する標的遺伝子は CXCL12, IL2, CASP1, CASP7, MEGF10 であった。

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13件)

1. Horai Y, Iwamoto N (8 番目/14 人) Methicillin-resistant Staphylococcus aureus-related Septic Pulmonary Embolism and Sacroiliitis Treated with Long-term Linezolid in a

- Patient with Adult-onset Still's Disease. Intern Med. 2014;53(9):1023-7 (査読有)
2. Horai Y, Iwamoto N (9 番目/23 人) Serum interferon- γ is a useful biomarker in patients with anti-melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) antibody-positive dermatomyositis. Mod Rheumatol. 2014 Apr 9. [Epub ahead of print] (査読有)
 3. Kawashiri SY, Iwamoto N (7 番目/16 人) Synovial inflammation assessed by ultrasonography correlates with MRI-proven osteitis in patients with rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford). 2014 Mar 22. [Epub ahead of print] (査読有)
 4. Kawashiri SY, Iwamoto N. (6 番目/14 人) Ultrasonographic examination of rheumatoid arthritis patients who are free of physical synovitis: power Doppler subclinical synovitis is associated with bone erosion. Rheumatology (Oxford). 2014 Mar;53(3):562-9. (査読有)
 5. 岩本直樹, 川上純 (1 番目/2 人): 血清学的因子、炎症・バイオマーカーによる早期診断の可能性. Prog.Med. 2013;33:1905-1908. (査読無し)
 6. Nakamura H, Iwamoto N (2 番目/10 人) A case of adult T-cell leukemia presenting primary Sjögren's syndrome-like symptoms. Int J Rheum Dis. 2013;16(4):489-92. (査読有)
 7. Ichinose K, Iwamoto N (5 番目/13 人) An elderly patient with chronic active Epstein-Barr virus infection with mixed cryoglobulinemia and review of the literature. Mod Rheumatol. 2013 ;23(5):1022-8. (査読有)
 8. 岩本直樹, 寺田馨, 中村秀樹, 川上純 (1 番目/4 人): アダリムマブ: 最近の新知見 リウマチ科 2013;50(1):51-58. (査読無し)
 9. Kita J, Tamai M, Arima K, Kawashiri SY, Horai Y, Iwamoto N (6 番目/18 人) Significant improvement in MRI-proven bone edema is associated with protection from structural damage in very early RA patients managed using the tight control approach. Mod Rheumatol. 2013;23:254-9. (査読有)
 10. 岩本直樹, 川上純 (1 番目/2 人) 分類不能関節炎に対するアバタセプトの効果-ADJUST 試験の結果を中心に-. リウマチ科 2012;48(6):647-652. (査読無し)
 11. Iwamoto N, Distler O (1 番目/2 人). Molecular targets for therapy in systemic sclerosis. Fibrogenesis

- Tissue Repair. 2012;5 Suppl 1:S19. (査読無し)
12. Koga T, Fujikawa K, Horai Y, Okada A, Kawashiri SY, Iwamoto N (6 番目/22 人) The diagnostic utility of anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody testing for predicting the prognosis of Japanese patients with DM. Rheumatology (Oxford). 2012;51(7):1278-84. (査読有)
 13. Tamai M, Iwamoto N (7 番目/14 人) Magnetic resonance imaging (MRI) detection of synovitis and bone lesions of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis: comparison of the accuracy of plain MRI-based findings and gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI-based findings. Mod Rheumatol. 2012;22 (査読有)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Iwamoto N, Kawakami A et al. Musculoskeletal ultrasound and Magnetic resonance imaging of the wrists and finger joints in Sjögren's syndrome (SS) with articular manifestations. 第 58 回日本リウマチ学会総会、2014 年 4 月 24 日-4 月 26 日、東京
2. 岩本直樹、川上純 他、トシリズマブ投与経路変更の有用性および安全性の検討、第 47 回九州リウマチ学会 2014 年 3 月 15 日-3 月 16 日、長崎
3. Iwamoto N, Distler O et al. Downregulation of miR-193b in systemic sclerosis contributes to the proliferative vasculopathy via uPA-uPAR independent pathway. Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2013 12-15 June 2013. Madrid Spain.
4. Iwamoto N, Distler O et al. Downregulation of miR-193b in systemic sclerosis regulates the proliferative vasculopathy by urokinase-type plasminogen activator expression. 第 57 回日本リウマチ学会総会、2013 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)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩本 直樹 (IWAMOTO NAOKI)

長崎大学病院・助教

研究者番号：80437897