



Title	血漿中microRNA網羅的発現解析によるもやもや病発病・病態修飾因子の探索的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	内野, 晴登
Description	配架番号 : 2339
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12835号
Issue Date	2017-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67467
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruto_Uchino_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 内野 晴登

主査 准教授 矢部 一郎
審査担当者 副査 教授 畠山 鎮次
副査 教授 廣瀬 哲郎
副査 教授 石田 晋

学 位 論 文 題 名

血漿中 microRNA 網羅的発現解析によるもやもや病発病・病態修飾因子の探索的研究
(Genome-wide microRNA profiling in circulating plasma -An exploratory research in
epigenetic aspects of moyamoya disease)

本論文は、もやもや病の病態をエピジェネティクスの観点から明らかにするため、血漿およびiPS細胞誘導内皮細胞（iPSECs）におけるmiRNA発現の解析を行ったものである。表現不一致一卵性双生児（Discovery cohort）、一般患者群と健常群（Validation cohort）の血漿サンプルから、マイクロアレイによるmiRNA網羅的発現解析を行い、両コホートで共通変動する23種のmiRNAが同定された。real-time PCRによる定量解析では、患者群において3種類のmiRNAの有意な発現増加を認めた。これらのmiRNAは患者iPSECsにおいても、同様の発現傾向を示した。さらに、iPSECsの発現遺伝子において、これらのmiRNAによる制御と発現方向が一致したもののpathway解析では、細胞増殖、細胞生存、細胞接着などに関わる経路が示された。以上より、miRNAは、もやもや病における疾患バイオマーカーとなる可能性があり、その中には血管内皮細胞の遺伝子発現を制御し、血管恒常性に異常をきたすことで、本疾患の発病・病態に関与しているものがあることが示唆された。

質疑応答にて、畠山教授よりRNF213と今回のmiRNA発現はどのように関連しているのかとの質問に対し、RNF213は、発現変動を認めたmiRNAの標的遺伝子となっておらず、RNF213以外の観点から病因を検討できたと考えるが、患者群と健常群ではRNF213遺伝子型が異な

り、交絡因子となっている可能性は否定できないと申請者は回答した。それに対し、正常細胞に RNF213 変異を導入して、miRNA 発現の変化を解析することで有効なデータが得られる可能性があるとのコメントがあった。また本研究では一部の miRNA の定量にとどまっているが、RNA-seq を用いて、より網羅的な定量が今後期待されるとのコメントがあった。

廣瀬教授からは、iPSECs がどれほど実際の患者の病態を反映しているかとの質問があった。申請者は、本疾患において、病巣部である脳血管細胞を採取して培養することは非常に困難なため iPSECs を病態モデルとして用いたこと、患者細胞では、機能異常・遺伝子発現の変化などが報告されており、モデルとして一定の有効性はあると考えるが、実際の患者の血管細胞をどれほど反映しているのかは不明であり、検討課題であることを回答した。

石田教授からは、本疾患の血管病理像、血管新生因子と病態との関連について質問があった。申請者は、典型的な病理像の 1 つとして、内膜の線維性細胞肥厚が知られているが、その内膜肥厚の由来となる細胞種は解明されていないと回答した。また髄液や血中において、FGF、HGF、TGF などの血管新生因子の上昇が確認されているが、これが脳虚血に対する反応なのか、病態の原因なのかは結論が得られていないこと、またそうした病理像や血管新生因子と miRNA との関係は今後の検討課題であると回答した。

矢部准教授からは、非発症の一卵性双生児も、今後ややも病を発症する可能性があるならば、双生児を比較する意義はどのように考えるのかという質問があった。miRNA には恒常的に発現しているものと、経時変化を示すものがあると思われ、発症していない時点での解析にも意義があると考え、また仮に発症した場合、発症前と発症後で比較をすることで新たな知見が得られるかもしれないと申請者は回答した。双生児の一卵性はどのように確認したのかという質問に対し、マイクロアレイにて、双生児間、兄弟間、親子間の SNP 一致率を比較し、双生児間でのみ 99%以上の高い一致率を示したことにより、一卵性であることの傍証と判断したと申請者は回答した。最後に、本研究の臨床応用の可能性について質問があった。申請者は、miRNA が、ややも病における診断マーカー、予後・治療効果判定マーカーのほか、将来的に発症や進行抑制といった治療標的にもなりえると回答した。

本論文は、未解明である、ややも病の発症・病態修飾因子をエピゲノムの観点から検討したものであり、miRNA のバイオマーカーとしての有用性、病因との関連性を示唆する意義深い研究成果である。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。