

氏名	石黒智也
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1264号
学位授与の日付	2021年3月14日
学位論文題名	Circulating miR-489 as a potential new biomarker for idiopathic dilated cardiomyopathy 「特発性拡張型心筋症の潜在的新規バイオマーカーとしての血清miRNA-489」 Fujita Medical Journal. 2021;7:18-22
指導教授	井澤英夫
論文審査委員	主査 教授 高木 靖 副査 教授 長崎 弘 教授 伊藤 弘 康

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

特発性拡張型心筋症(DCM)は原因不明の心筋疾患で治療抵抗性心不全を引き起こすことから、日本における心臓移植の原因疾患として最も多い。心不全症状が軽度の早期に診断し、心保護効果のある内服薬を投与することで心不全の進展抑制が期待される。しかし無症状の患者をスクリーニングできるDCMに特異的な診断的血液バイオマーカーが存在しないことが課題となっている。マイクロRNA(miRNA)は遺伝子発現を調整して多くの疾患の発症に関与していることが知られている。最近の研究では、血清中に存在するmiRNAが癌をはじめ様々な疾患の早期診断バイオマーカーとして臨床応用可能であることも報告されている。従来、DCM患者における右室心筋生検標本でのmiRNA発現についての検討はされてきたが、DCM患者の血清中で疾患特異的に異常発現するmiRNAについては未だ確立されていない。

### 【目的】

本研究はDCMの診断バイオマーカーとして血清miRNAの有用性を明らかにすることを目的として行った。

### 【対象】

対象は、左室造影にて左室駆出率が50%未満に低下を認め、かつ、冠動脈狭窄、高血圧心、弁膜症、持続性心房細動、心臓補助デバイスの植え込み症例、糖尿病、慢性腎疾患を除いた症例で外来に通院中の心不全がコントロールされているDCM患者を対象とした。健常対照として、DCM患者と年齢が近く、定期検診で異常を指摘されていないグループとした。すべての対象から研究参加の文書による同意を得て研究を行った。

### 【方法】

健常対照グループ(n=3)およびDCMグループ(n=6)の血清サンプルからトータルRNAを抽出後、マイクロアレイを使用して患者血清中で異常発現しているmiRNAのスクリーニングを行った。マイクロアレイによるスクリーニングの結果に基づき、候補miRNAを

選択した。次に新規の健常対照グループ(n=5)とDCMグループ(n=20)の血清サンプルにおいてRT-PCRによる候補miRNAの定量分析を実施した。DCMグループの平均年齢は57±15歳、平均左室駆出率は37.1±10.3%、平均BNP濃度は117.4±148.8 pg/mLであった。一方、健常対照グループの平均年齢は53±6歳で、DCMグループとの間に有意差は認めなかった。さらにDCMグループにおいて、血清中で疾患特異的に異常発現しているmiRNA発現レベルと血行動態パラメーターとの関連を検討した。

### 【結果】

2,565個のmiRNAにおけるマイクロアレイによる1次スクリーニングの結果、9個の候補miRNA(miR-489, -496, -3156, -4721, -4745, -4781, -5010, -5088, -8052)が同定された。RT-PCRの結果、血清中miR-489のみ発現レベルが健常対照グループと比較してDCMグループで有意に高かった。さらに、DCMグループにおいてmiR-489の発現レベルと左心室駆出率との間に有意な正の相関(r=0.46)を認めた。

### 【考察】

本研究の結果、DCMの血清中miR-489が特異的に異常発現していることが示された。miR-489はこれまでに腫瘍細胞の増殖や転移を抑制することが報告され、また筋ジストロフィーでも血清miRNA-489の発現が亢進していることが報告されている。今回の研究でも血清miR-489の発現レベルと左室駆出率との間には正の相関を認めた。したがって、DCMにおける血清miR-489発現レベルが心不全の重症度や予後予測のバイオマーカーとなる可能性が考えられた。今回の研究では、血清miR-489の発現レベルを定量化するための内因性コントロールとして、miR-16およびmiR-423-3pを使用した。miR-489の発現は、miR-16を内因性コントロールとして使用した分析でのみ有意に高く、今後症例数を増やして、さらなる検討が必要であると考えられた。

### 【結語】

血清miR-489がDCMの診断に有用な血液バイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。今後、症例を増やして検討を重ねることで、DCMの患者血清で特異的に異常発現する複数のmiRNA群を同定して診断や予後予測に有用な血液バイオマーカーとして確立できる可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

拡張型心筋症(DCM)を早期に診断でき、治療に結びつけるためのバイオマーカーは確立されておらず、様々な疾患の早期診断のバイオマーカーとして臨床応用が可能となりつつある血清マイクロRNA(miRNA)に期待が寄せられている。

本研究は、心不全がコントロールされているDCM患者を対象とし、健常対照はDCM患者と年齢が近い健常人とした。健常対照3人およびDCM患者6人の血清サンプルからトータルRNAを抽出後、マイクロアレイを使用して患者血清中で異常発現しているmiRNAのスクリーニングを行ない、その結果より候補miRNAを選択した。次に、新規の健常対照グループ5人とDCMグループ20人においてRT-PCRによる候補miRNAの定量分析を実施した。さらにDCMグループにおいて、DCM特異的に異常発現しているmiRNA発現レベルと血行動態パラメーターとの関連を検討した。2,565個のmiRNAにおけるマイクロアレイによる1次スクリーニングの結果、9個miRNA(miR-489, -496, -3156, -4721, -4745, -4781, -5010, -5088, -8052)が同定された。RT-PCRの結果、血清中miR-489のみ発現レベルが健常対照グループと比較してDCMグループで有意に高かった。さらに、DCMグループにおいてmiR-489の発現レベルと左心室駆出率との間に有意な正の相関(r=0.46)を認めた。

本研究により、DCMの患者血清で特異的に異常発現するmiRNA群を同定して診断や予後予測に有用な血液バイオマーカーとして確立できる可能性が開かれ、学位論文として十分な内容と評価した。