

学位論文抄録

強皮症皮膚線維芽細胞における microRNA-196a の役割
(The role of microRNA-196a in scleroderma dermal fibroblasts)

本多 教稔

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚機能病態学

指導教員

尹 浩信 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻皮膚病態治療再建学

学位論文抄録

【目的】 microRNA (miRNA) は non coding RNA の一種で平均 22 塩基程度の長さを持ち mRNA の 3'非翻訳領域の相補的配列に結合し標的 mRNA の安定性や蛋白への翻訳を阻害する事で遺伝子発現調節を行っている。miRNA は様々な疾患に関与していることが報告されているが、全身性強皮症 (systemic sclerosis; SSc) における miRNA に関する報告は少ない。そこで我々は SSc の皮膚線維化における miRNA の関与の検討を行った。

【方法】 正常皮膚線維芽細胞、TGF- β 1で刺激を加えた正常皮膚線維芽細胞及び強皮症皮膚線維芽細胞より miRNA を抽出し Array で網羅的に比較した。培養皮膚線維芽細胞における miRNA 量を real-time PCR、miRNA の変化による type I collagen のタンパク量の変化を免疫プロット法にて評価した。miRNA の機能解析には miRNA inhibitor、miRNA mimic を用いた。in vivo における miRNA の評価は、in situ hybridization 法、皮膚組織より抽出した miRNA による real-time PCR 法にて行った。血清の miRNA 濃度は real-time PCR にて評価し、臨床症状との相関を検討した。

【結果】 TGF- β 1で刺激を加えた正常皮膚線維芽細胞及び強皮症皮膚線維芽細胞において複数の miRNA の発現が低下していた。その中で、miR-196a は in vivo, in vitro とともに SSc で発現が低下していた。TGF- β small interfering RNA により強皮症皮膚線維芽細胞の発現レベルが正常化した。正常皮膚線維芽細胞において miR-196a の発現を阻害すると type I collagen の発現が増加し、強皮症皮膚線維芽細胞において miR-196a の発現を増加させると type I collagen の発現が低下した。加えて、miR-196a は強皮症患者血清で定量的に検知可能であった。強皮症患者群で血清 miR-196a が低値を示す群では、dcSSc の割合、modified Rodnan's total skin thickness score、皮膚潰瘍の有病率が高かった。

【考察】 強皮症皮膚線維芽細胞において複数の miRNA の発現が増加または低下していた。その中で、miR-196a は強皮症の線維化に関与していると考えられた。強皮症患者において、血清 miR-196a 値は type I collagen の産生の活動性を反映する疾病マーカーとなりうると思われた。

【結論】 miR-196a による type I collagen の発現の調節は miRNA を用いた新たな治療につながる可能性が示唆された。