

論文審査の要旨

| | | | |
|--|----------------|----|--------|
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) | 氏名 | 赤松 さくら |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第①・2項該当 | | |
| 論 文 題 目 Differences in serum microRNA profiles in hepatitis B and C virus infection. (B型およびC型肝炎ウイルス感染における血清マイクロRNA特性の違い) | | | |
| 論文審査担当者 主 査 教 授 田 中 純 子 印 審査委員 教 授 大 段 秀 樹 審査委員 准教授 田 代 裕 尊 | | | |
| 〔論文審査の要旨〕 完全二重鎖のDNAウイルスであるB型肝炎ウイルス(HBV)と一本鎖RNAウイルスであるC型肝炎ウイルス(HCV)による慢性感染は、肝硬変や肝不全、肝癌へと移行するリスクを伴う。現在、インターフェロンや核酸アナログ、直接作用型抗ウイルス薬(Direct Acting Antivirals ; DAA)などの抗ウイルス性治療薬の開発が進んでおり、ウイルスを排除できる症例も増えてきた。しかし、特にHBVではHCVに比べてウイルスが排除できる症例は少なく、HCVでも無効や再燃を繰り返す難治性も存在する。そのため、ウイルス感染やそれによる肝細胞障害の有用なバイオマーカーを探索することは、臨床および前臨床の場で重要な課題となっている。最近血液中にマイクロRNA(miRNA)が安定的に存在していることが明らかにされ、バイオマーカーの一つとして注目されている。本研究では肝炎ウイルス感染患者の血清から得られたmiRNAのプロファイリングを行い、バイオマーカーとしての意義の検討を行った。 健常者22名、HBV患者42名、HCV患者30名の血清300u1を使用し、TORAY 3-Dアレイシステムを用い解析を行った。マイクロアレイ解析により選ばれたmiRNAは定量RT-PCRにより再現性を確認し、その値を元に回帰分析を行った。定量PCRには、健常者22名、HBV患者186名、HCV患者107名の血清300u1を使用した。 結果は以下のように要約される。 マイクロアレイ解析結果より、HBVおよびHCVともに健常者に比べて血清中miRNAの発現量が高値あるいは低値であったものが多数認められ、高値であったものの方が多く認め | | | |

られた。HBV 感染者においては miR-122、miR-99a、miR-125b、miR-720、miR-22、miR-1275 等 16 種類が、HCV 感染者では miR-720、miR-122、miR-1246 等 34 種類が有意に高値であった。HBV 感染で有意に高値であった miR-122、miR-99a、miR-125b、miR-720、miR-22、miR-1275 について定量 RT-PCR で確認を行ったが、マイクロアレイの結果と同様に HBV 感染患者で高値であった。定量 PCR の結果を HBeAg 陽性、陰性別に比較すると、miR-1275 を除いたすべての miRNA で HBeAg 陰性患者より HBeAg 陽性患者の方がより高発現であった。さらに、HBV DNA、HBsAg、HBeAg、HBeAb、ALT、AST、 γ -GTP の高低に寄与する miRNA について、高値を呈した miRNA との関連を回帰分析により解析したところ、HBV ウイルス量との間に有意な関連が見られたものは miR-122 と miR-125b であった。その他に HBsAg、HBeAg と miR-125b との間に有意な関連が見られ、 γ -GTP と miR-22 と miR-1275 との関連が認められた。Pathway 解析では HBV、HCV 感染により高値あるいは低値を示した miRNA はともに pathways in cancer に属するものが有意なものとして検出された。

HCV や HBV 感染により特異的変動する血清 miRNA の存在は、ウイルスの産生、宿主による抗ウイルス防御や病態形成に関与していることを示唆する。これらのことから、血清 miRNA 発現レベルがウイルス肝炎の原因や HBeAg の陽性、陰性による違いを反映している事がわかった。miR-122、miR-125b、miR-199a、miR-210 などの miRNA は、直接 HBV ゲノムのターゲット配列に結合することが報告されており、これらが高値であることは宿主の防御反応である可能性を示唆している。また miR-199a と miR-210 は、培養細胞中の HBsAg を抑制していることが報告されている。本研究では HBeAg の陰性、陽性によって血中に存在する miRNA のプロファイルが異なっていることを明らかにした。このことは宿主の HBV に対する抵抗性が現れてきたことに伴うものである可能性が有り、さらに今後検討する必要がある。このほかの miRNA の変動についても様々な病態と関連している可能性が高い。

以上の結果から、本論文は miRNA 解析が肝疾患の病態解析に有用なバイオマーカーとなり得ることを示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

