

日本最大規模患者サンプルネットワーク構築を通じた肺動脈性肺高血圧症におけるlong non-coding RNAの機能の解明



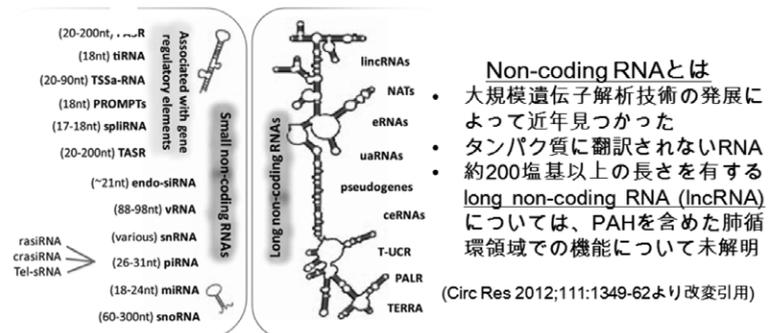
慶應義塾大学医学部循環器内科 特任講師 片岡 雅晴

【研究背景と目的】

肺動脈性肺高血圧症（以下、PAH）は、肺動脈圧の上昇から右心不全を発症しうる生命予後不良の難治性疾患である。肺動脈性肺高血圧症Pulmonary Arterial Hypertension（PAH）は、肺動脈の内膜や中膜の肥厚を原因として肺動脈圧が上昇し、右心不全を起こす生命予後不良の難病疾患である。膠原病や先天性心疾患に伴うPAHに加えて、特発性PAH（idiopathic PAH）や家族性PAH（familial PAH）は比較的若年に発症し極めて予後不良である。原因はいまだ一部の遺伝子異常が明らかになっているものの、そのみでは説明がつかず、他の遺伝子異常の存在、また、epigenetic制御の可能性、何らかの外的因子の重要性、など未だ病態解明には疑問点が残されている。

一方、近年ではepigenetic制御機能を持つlong non-coding RNA (lncRNA) が注目されている。ヒト遺伝子のうち、蛋白質をコードする遺伝子は、全染色体DNAの2%を占めるに過ぎない。しかし、全染色体DNAの半分以上はRNAへと転写されており、蛋白質をコード

Small and long non-coding RNAs



しないRNA (non-coding RNA) が大量に存在する。Non-coding RNAのうち、約30塩基以下のmicroRNAsについては、数年前より研究が活発に行われ、その機能がある程度解明されつつあるが、一方で、約200塩基以上の長さを有するlncRNAについては、その存在や機能について、いまだほとんど解明されていない。特に、循環器領域においては、ES細胞やiPS細胞の心筋細胞への分化誘導過程における特定のlncRNAの機能が、ごく近年に解明されつつあるが、いまだPAHを含めた成体期の肺循環におけるlncRNAの役割は全く解明されていない。

そこで本研究では、lncRNAの肺循環領域における役割の世界初の解明を目的とした。PAH患者検体を用いてlncRNAの発現量の解析、epigenetic制御の可能性の検討、臨床指標との相関解析からlncRNAの非侵襲的指標としての可能性も模索し、臨床への還元とlncRNAによる個別化医療の実現を目指す。

【研究成果と今後の展望】

PAH患者からのRNA検体を用いて、lncRNA Array解析を実施した。その結果、健康者コントロールRNA検体と比較して、PAH患者RNA検体では一部のlncRNAの発現量が大きく異なっていることが明らかとなった。Heat-map解析・PCA解析等も施行し、多角的

にlncRNA発現量について精査した。発現量がコントロールと比較して大きく異なるlncRNA複数個を絞りこんだ。定量的RT-PCR法を併用することによって、Array解析結果との相関性を調べ、最終的にPAH病態制御に重要な役割を果たしていることが予想される候補lncRNAを絞り込むことに成功した。

今後は、絞り込んだ候補lncRNAについて、発現量と臨床指標との相関解析を行う。臨床指標としては、右心カテーテル検査で得られる血行動態指標（右房圧、肺動脈圧、肺血管抵抗値）、PAH患者の予後や臨床的重症度を反映するとされる血中BNP値、NYHAクラス分類、6分間歩行距離などが挙げられる。いまだ循環器領域においてほとんど解明されていないlncRNA患者検体発現量と臨床指標が相関することを実証すれば、臨床重症度を反映する非侵襲的指標としてのlncRNAの可能性を世界初で実証することにもつながり、極めて価値が高いと思われる。

さらに、候補となるlncRNAに対してshort hairpin RNAをデザインして、ウイルスベクター等を用いることによって、in vivo動物モデルでのgain- and/or loss-of-function studyや、ヒト肺血管内皮細胞やヒト肺血管平滑筋細胞を用いたin vitro培養系での増殖能やシグナル経路を含めた詳細なメカニズム解析を行い、lncRNAがどのようにPAH病態制御に関与しているかを解明していく。また、将来的には、lncRNA発現量を制御することによる難病疾患PAHの克服と個別化医療実現に繋げていく。

【謝 辞】

本研究の遂行にあたり、多大なご支援を受け賜りました公益財団法人難病医学研究財団の皆様には厚く御礼を申し上げます。

肺高血圧症(PAH)の病態形成と長鎖非コーディングRNA(lncRNA)に着目した本研究の概念図

