

論文内容要旨

論文題目

Inhibition of microRNA-34a suppresses aortic valve calcification via Notch1-Runx2 signaling pathway

(MicroRNA-34a の抑制は Notch1-Runx2 経路を介して大動脈弁の石灰化を抑制する)

責任講座：内科学第一講座

氏名：豊島 拓

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】石灰化大動脈弁狭窄症 (CAVS) は最も多い弁膜症であり、高齢人口の増加に伴い増加している。CAVS の治療は外科的弁置換術が基本である。CAVS は動脈硬化と危険因子を共有するが、スタチンや ACE 阻害薬は無効であり、CAVS の進行を抑制する有効な薬物治療は未だ確立されていない。また近年、標的遺伝子の発現を抑制する microRNA (miR) が注目され、癌や消化器疾患への臨床応用が試みられている。しかし、CAVS 発生における miR の役割については十分に検討されていない。

【方法・結果】ヒト大動脈弁標本、ブタ大動脈弁間質細胞、ワイヤー傷害 CAVS マウスを用いて CAVS と miR の関連について検討した。CAVS 患者と大動脈弁逆流 (AR) 患者の大動脈弁標本を用いて、石灰化への関与が報告されている 10 個の miR の発現を qRT-PCR を用いて調べた。CAVS 群において miR-34a を含む 6 個の miR の発現が亢進し、2 個の miR の発現が低下していた。CAVS 群では石灰化を促進する Runt-related transcription factor 2 (Runx2) の発現が亢進し、Runx2 の発現を抑制する Notch1 の発現が低下していた。ブタ大動脈弁間質細胞を石灰化誘導培地で刺激すると、miR-34a の発現は有意に亢進した。また、Runx2 の発現亢進と、Notch1 の発現低下を認めた。ブタ大動脈弁間質細胞に miR-34a を過剰発現させたところ、Notch1 の発現が低下し、Runx2 の発現および石灰沈着が亢進した。miR-34a を抑制すると、Notch1 の発現が亢進し、Runx2 の発現および石灰沈着が抑制された。また Notch1 mRNA を用いたルシフェラーゼアッセイおよびプルダウンアッセイにより、ブタ大動脈弁間質細胞において miR-34a は Notch1 の発現を直接調節していることが示された。CAVS マウスへの Locked Nucleic Acid (LNA) miR-34a inhibitor の投与により、術後 8 週での大動脈弁の肥厚および石灰化が有意に抑制され、心肥大と左室収縮能が改善した。免疫染色では LNA miR-34a inhibitor の投与によりマウス大動脈弁の Runx2 の発現が低下しており、miR-34a の抑制は大動脈弁石灰化を抑制することが示された。

【結論】CAVS 患者の大動脈弁で miR-34a の発現が亢進していた。miR-34a は大動脈弁間質細胞の Notch1 の発現を抑制し、石灰化を亢進すると考えられた。miR-34a の抑制により、CAVS の進展および病的な心臓リモデリングが抑制された。miR-34a 抑制は CAVS に対する新たな治療標的になることが示唆された。

平成 31 年 1 月 15 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：豊島 拓

論文題目：Inhibition of microRNA-34a suppresses aortic valve calcification via Notch1-Runx2 signaling pathway

(MicroRNA-34a の抑制は Notch1-Runx2 経路を介して大動脈弁の石灰化を抑制する)

審査委員：主審査委員

山川 光徳



副審査委員

川前 金幸



副審査委員

後藤 薫



審査終了日：平成 31 年 1 月 10 日

【論文審査結果要旨】

石灰化大動脈弁狭窄症 (CAVS) は、進行性の線維石灰化リモデリングおよび大動脈弁尖肥厚を特徴とし、数年すると心臓流出路の高度の閉塞を引き起こす。先進国では、冠動脈疾患と全身性動脈性高血圧に次いで 3 番目に多い。CAVS の病態には、遺伝的要因、リポタンパク質の沈着と酸化、慢性炎症、心臓弁間質細胞から骨芽細胞への変換および顕著な弁尖石灰化が関与する。重症 CAVS に対する治療法は大動脈弁置換術で、有効な薬物療法は無い。一方、標的遺伝子の発現を抑制する microRNA (miR) の CAVS 発生における役割についての検討は十分でない。著者は、ヒト大動脈弁標本、ブタ大動脈弁間質細胞、ワイヤー傷害 CAVS マウスを用いて CAVS と miR の関連について多方面から検討した。

その結果、以下の新たな知見が得られた。①ヒト CAVS 群で miR-34a と Runx2 の発現が亢進していた。②ブタ大動脈弁間質細胞を刺激すると、miR-34a と Runx2 の発現が亢進し、Notch1 の発現が低下した。③ブタ大動脈弁間質細胞での miR-34a の過剰発現で、Notch1 の発現が低下し、Runx2 の発現および石灰沈着が亢進した。④CAVS マウスへの miR-34a inhibitor の投与で、大動脈弁の肥厚および石灰化が有意に抑制された。以上の結果から、miR-34a は大動脈弁間質細胞の Notch1 の発現を抑制し、石灰化を亢進すると結論された。

本研究には重要な新知見が含まれており、こられの結論を導き出す過程についても熟慮され、結果に対する十分な考察もなされていた。本研究で得られた成果は、CAVS の病態解明と薬物治療に有用な情報を与えるものである。本審査委員会では、全員一致して、博士 (医学) 論文にふさわしいものと判断し、合格とした。

(1200 字以内)