

## 論文内容要旨

論文題目

Role of microRNA-21 in hypertrophic cardiac remodeling  
肥大型心臓リモデリングにおけるマイクロ RNA-21 の役割

責任講座： 内科学第一 講座  
氏名： 渡部 賢

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景・目的】

高齢人口の増加に伴い心不全患者が増加し、心不全パンデミックと呼ばれ世界的な問題となっている。心不全では左室の収縮不全と拡張不全の二つのタイプが存在するが、高齢者の心不全では特に拡張不全を有する割合が多い。その原因として高血圧の関与が重要であり高血圧性心疾患 (HHD: Hypertensive heart disease) と呼ばれる。拡張不全では心肥大を特徴とし心筋線維化により左室スティッフネスが上昇する (心筋リモデリング)。これにより十分な左室拡張末期容積が得られないため心拍出量が低下し臓器の低灌流をきたす。また左室拡張末期圧が上昇するため肺うっ血をきたす。microRNA (miR) は標的タンパク質の発現を調整することが知られている。今回我々は臓器の線維化に関与する miR と心筋リモデリングの関係を検討した。

【方法・結果】

HHD 患者 10 例と対照患者 10 例において 4 種類の線維化に関与する miR を測定した。その中で miR-21 が HHD 患者では有意に高値であり、その値は血中の心筋線維化マーカーである III 型プロコラーゲン N 末端ペプチドおよび I 型コラーゲン C 末端テロペプチドと有意な相関関係を示した。また心筋組織中の miR-21 も HHD 患者で有意に高値であった。そこで我々は miR-21 に着目した。アンギオテンシン II 投与 (Ang II) と大動脈縮窄術 (TAC: transverse aortic constriction) によるマウス左室肥大モデルを作成した。両モデルマウスにおいて、左室心筋では線維化と肥大が確認され、また miR-21 が有意に上昇していた。miR-21 の標的遺伝子の中で Programmed cell death 4 (PDCD4) が Ang II、TAC の両モデルで低下していた。PDCD4 は核内転写因子である AP-1 を介して Transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 発現を抑制することが知られている。Ang II、TAC の両モデルにおいて AP-1 および TGF- $\beta$ 1 は上昇していた。新生仔ラット心筋細胞に Ang II 刺激を行った。Ang II 刺激により心筋細胞では miR-21 が上昇し、PDCD4 が低下し、その下流に存在する AP-1 および TGF- $\beta$ 1 は上昇した。miR-21 阻害薬を投与することにより、PDCD4 は上昇し Ang II 刺激による AP-1 および TGF- $\beta$ 1 の上昇は抑制された。また miR-21 阻害薬は TGF- $\beta$ -activated kinase 1 のリン酸化を介する心肥大を抑制した。さらに胎児性遺伝子 ANP、BNP も miR-21 阻害薬により抑制された。

【考察】

TGF- $\beta$ 1 は心筋線維化および肥大を誘導する。TGF- $\beta$ 1 は miR-21 の発現を上昇させるとともに、miR-21 も下流の標的遺伝子を介して TGF- $\beta$ 1 を上昇させる。これによりポジティブフィードバックループが形成され心筋リモデリングを促進する可能性がある。HHD 患者、Ang II および TAC の両モデルマウスにおいて miR-21 が上昇していることから、左室肥大や心筋の線維化の形成には、miR-21/PDCD4/TGF- $\beta$ 1 の経路が重要な役割を果たしていると考えられた。心筋細胞を用いた実験において、miR-21 を阻害することで Ang II による TGF- $\beta$ 1 増加を抑制することができた。miR-21 阻害薬は心筋細胞の TGF- $\beta$ 1 シグナル抑制を介して心筋リモデリングを抑制できる可能性が示唆された。

【結論】

miR-21 は PDCD4/AP-1/TGF- $\beta$ 1 経路を介して心筋リモデリングに関与していた。miR-21 は左室肥大リモデリングの治療標的になる可能性がある。

令和2年 1月 8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：渡部 賢

論文題目：肥大性心臓リモデリングにおけるマイクロRNA-21の役割

審査委員：主審査委員 永瀬 智



副審査委員 飯野 光喜



副審査委員 石井 邦明



審査終了日：令和2年 1月 6日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

高齢人口の増加に伴った心不全患者の増加は社会的に重大な問題となっている。高齢者の心不全は拡張不全を有する割合が高く、高血圧性心疾患（HHD）が原因として重要である。拡張不全をきたす心不全では心筋線維化による左室スティッフネスが上昇する心筋リモデリングが特徴であり、本研究では、心筋の線維化に関するマイクロRNA（miRNA）と心筋リモデリングの関係を検討した。

HHD患者10例とコントロール群10例で、線維化に関するmiRNA（miR-21、miR-29、miR-30、miR-133）の発現と心筋線維化マーカー（Ⅲ型プロコラーゲンN末端ペプチド、Ⅰ型コラーゲンC末端ペプチド）との相関を比較したところ、HHD患者ではmiR-21発現上昇と心筋線維マーカー上昇とに有意な相関関係があったことから、miR-21に焦点をあて解析を行った。

マウス左室肥大モデルを用いた検討では、心筋におけるmiR-21の有意な上昇と、miR-21の標的遺伝子であるProgrammed cell death 4（PDCD4）の有意な発現低下を確認した。さらに、アンジオテンシンⅡ刺激により、miR-21が上昇しPDCD4が低下、さらに、その下流に存在するAP-1とTGF-β1が上昇することを明らかにした。miR-21阻害剤を用いた検討では、miR-21阻害剤投与によりPDCD4発現が上昇し、AP-1とTGF-β1上昇が抑制された。さらに、miR-21の阻害はTGF-β-activated kinase 1のリン酸化を介する心肥大を抑制することを明らかにした。

TGF-β1は心筋線維化及び心筋肥大を誘導することが知られているが、本研究結果から、miR-21は下流の標的遺伝子を介してTGF-β1を上昇させ、ポジティブフィードバックにより心筋リモデリングが促進される可能性があることが明らかになった。審査委員会では1）臨床データ解析のHHD患者群にNYHAⅠ・Ⅱ度が60%含まれており、Ⅲ・Ⅳ度と分けて解析をすべきではないか、2）コントロール群には高血圧症合併例が30%含まれており、線維化に着目したのであれば、高血圧症を認めるが心肥大をきたしていない人、あるいは高血圧症を合併していない人のどちらかに統一すべきであった、3）2種類の動物モデルの妥当性などの質問や指摘があった。英語のスペル間違いを含め指摘事項に関しては修正を行うことになった。

本研究は、in vitro、in vivoにおいてmiR-21による心筋リモデリングの調節機構を示した研究で、特に、HHD患者の心筋組織と血中におけるmiR-21の上昇を明らかにし、また、miR-21が心筋細胞においてPDCD4/AP-1/TGF-β1/シグナル経路を制御することを明らかにした研究であり新規性を有している。以上より、審査委員会では、本研究内容は学位に値するものであると判定した。