

# 論文内容要旨

## 論文題目

MiR-139-5p is a Novel Marker for Predicting the Clinical Course of Primary Biliary Cirrhosis, and is Differentially Expressed in Hepatocytes and Lymphocytes in the Liver

(miR-139-5p は原発性胆汁性肝硬変の新規予測バイオマーカーの可能性があり、肝組織内で肝細胞と肝内リンパ球に相反的に作用し病態形成に関与する)

責任講座： 内科学第二 講座  
氏 名： 勝見 智大

## 【内容要旨】(1,200 字以内)

### 【背景】

原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cirrhosis: PBC) は慢性進行性に胆汁鬱滞を来す肝疾患である。現在の我が国では臨床的に約 70%が無症候性で予後良好であるが(緩徐進行型)、一部には食道静脈瘤合併(門脈圧亢進症型)や早期に肝不全に至る(肝不全型)予後不良な症例も存在する。PBC の病因は未だ不明で、病態進展のメカニズムも不明である。一方、内在性の短鎖 RNA である microRNA (miRNA) は標的 mRNA の切断や蛋白質の翻訳抑制といった遺伝子発現制御機能を持ち病態形成にも重要な役割を果たす。また、各種疾患において特異的な発現パターンが報告されており、組織や血清中の miRNA 発現を評価することで診断やバイオマーカーとしての応用も期待できる。本研究ではこの miRNA に着目し PBC の病態形成について検討した。

### 【方法】

PBC 症例を緩徐進行型、門脈圧亢進症型、肝不全型に分類し比較検討した。血清 total RNA を抽出し、32 mer single end で次世代シーケンサー (Genome Analyzer II x, Illumina) を用いて網羅的に解析した。各群で有意な発現を示す miRNA を抽出し血清内発現パターンをプロファイリングした。特定した miRNA を PBC 亜病型毎にリアルタイム PCR にて定量し validation を行った。さらにその miRNA の肝臓内での発現局在を *in situ hybridization* (ISH) にて確認した。組織内 miRNA 発現量を測定するため、レーザーマイクロダイセクション法にてリンパ球と肝細胞を選択的に切り分け、細胞毎に発現している miRNA を定量し疾患コントロール群と比較検討した。

### 【結果】

1 検体あたり平均 1100 万リード検出され、そのうち亜病型間で有意な発現量の変化を示す miRNA を特定した。クラスタリングでは各群間で異なるパターンを示した。組織内では門脈域内浸潤リンパ球における特定の miRNA 発現量が肝細胞の発現量と比べて高かった。他の疾患コントロール群と比べてもリンパ球における特定 miRNA の発現量は有意に高く、反対に肝細胞における発現量は有意に低かった。ISH では門脈域内浸潤リンパ球に特定 miRNA が高発現していた。

【結論】 PBC 血清内 miRNA プロファイリングを行い、亜病型毎に異なる miRNA 発現パターンを特定した。また PBC 血清及び組織内において特定の miRNA が疾患特異的な発現変化を示すことを特定した。PBC 病型予測バイオマーカーとしての可能性と、制御因子として PBC の病態進行に深く関与している可能性が示唆された。

平成 27 年 1 月 20 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 : 勝見 智大

論文題目 : MiR-139-5p is a Novel Marker for Predicting the Clinical Course of Primary Biliary Cirrhosis, and is Differentially Expressed in Hepatocytes and Lymphocytes in the Liver

(MiR-139-5p は原発性胆汁性肝硬変の新規予測バイオマーカーの可能性があり、肝組織内で肝細胞と肝内リンパ球に相反的に作用し病態形成に関与する)

審査委員 : 主審査委員

山川 光徳



副審査委員

三井 哲夫



副審査委員

上野 久



審査終了日 : 平成 27 年 1 月 19 日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

原発性胆汁性肝硬変 (PBC)は、原因不明の慢性進行性に胆汁鬱滞を来す肝疾患 (緩徐進行型) であるが、時に食道静脈瘤を合併する症例 (門脈圧亢進症型) や早期に肝不全に至る症例 (肝不全型) もある。内在性の microRNA (miRNA)は標的 mRNA の切断や蛋白質の翻訳抑制といった遺伝子発現制御機能を持ち、種々の疾患の病態形成に重要で、疾患に特異的な発現パターンをとる。従って、組織や血清中の miRNA 発現を評価することで診断やバイオマーカーとしての応用も期待できる。

著者はこの miRNA に着目し、緩徐進行型、門脈圧亢進症型、肝不全型の PBC について、血清 total RNA から miRNA ライブラリを作成し、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析し、さらに肝組織における miR-139-5p の発現を PCR 法と *in situ* hybridization (ISH)にて比較検討した。

その結果、以下の新たな知見が得られた。①1 検体あたり平均 1,100 万リードが検出され、そのうち病型間で有意な発現量変化を示す miRNA が特定され、クラスタリングでは各群間で異なるパターンを示した。②肝組織内では門脈域内浸潤リンパ球における miR-139-5p 発現量が肝細胞のそれと比べて高かった。他の疾患コントロール群と比べてもリンパ球における miR-139-5p 発現量は有意に高く、反対に肝細胞におけるそれは有意に低かった。③ISH では門脈域内浸潤リンパ球に miR-139-5p が発現していた。

以上の結果から、miRNA が PBC の病型を予測できるバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

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、特に PBC の病型予測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)