

網膜硝子体疾患の眼内組織のmicroRNAの解析

廣田 和成 慶野 博 平形 明人

杏林大学医学部眼科学教室

【背景と目的】

miRNA (microRNA) は18-25塩基からなる小分子RNAであり、標的mRNAの発現を抑制することで発生や分化などの様々な生命現象を制御している。近年、miRNAが血管新生、炎症をはじめとする様々な病態に関与することが次々と明らかとなっており、最近では血清や乳汁中などの体液中においてもmiRNAが安定して存在することが確認されている。

一方で眼内におけるmiRNAの発現や機能に関してはほとんど解析されておらず、眼内のmiRNAの発現について検討することは眼内におけるmiRNAの生理的な役割、眼疾患におけるmiRNAとの関連を今後探求していくうえで重要な基盤となりうる。

本研究では硝子体手術の適応となる疾患の網膜上線維組織に発現しているmiRNAを網羅的に解析することを目的とするが、本報告書では黄斑上膜 (ERM) 患者3名および増殖糖尿病網膜症 (PDR) 患者2名より採取した網膜上線維組織を解析しそれぞれに発現するmiRNAの傾向について報告する。

【対象】

杏林アイセンターにて硝子体手術を行ったERM患者3名およびPDR患者2名 (表1)

表1 対象の性別および年齢

	年齢	性別
ERM1	51	女性
ERM2	61	女性
ERM3	66	男性
PDR1	49	女性
PDR2	49	男性

【方法】

硝子体手術を施行し術中に網膜より分離した増殖組織を採取して保存液 (RNAlater®) 中に保存し、RNA抽出キット (mirVana™ miRNA Isolation Kit) を用いてRNAを抽出、TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kitを用いてcDNAを合成しTaqMan Array Human MicroRNA Cardを用いて384種類のmiRNAについて定量PCRを行った。

【結果】

ERM患者3名より採取した検体間での定量PCRにおけるCt値の相関係数は0.402, 0.481, 0.485であり増殖糖尿病網膜症患者2名間では0.357であった。(図1)



図1 各サンプル間におけるピアソンの相関係数

ERM患者にのみ発現していたmiRNAを27種類、PDR患者のみに発現していたmiRNAを6種類、両群に共通して発現していたmiRNAを58種類確認した。(図2)

【考 察】

ERMに発現していたmiRNA27種類のうち10種類、PDRに発現していたmiRNAのうち6種類のうち4種類は癌細胞において増殖抑制因子としての働きを有するとの報告があり、成熟した増殖膜においてはむしろ増殖を抑制するようなmiRNAの発現が多くみられる可能性が考えられた。

またPDRにおいて発現していたhsa-miR-208bは心筋梗塞後の血管のremodellingに関与しているとの報告があり、血管新生を主体としたPDRの増殖膜形成の病態を反映していると思われた。またERMおよびPDR共通に発現していた58種類のmiRNAについてはサンプル数が少ないため発現量について統計学的検討は行えなかった。

今後はサンプル数を増やし発現傾向についてより正確な検討を行うとともに硝子体液中のタンパクの発現との関連についても解析していく予定である。

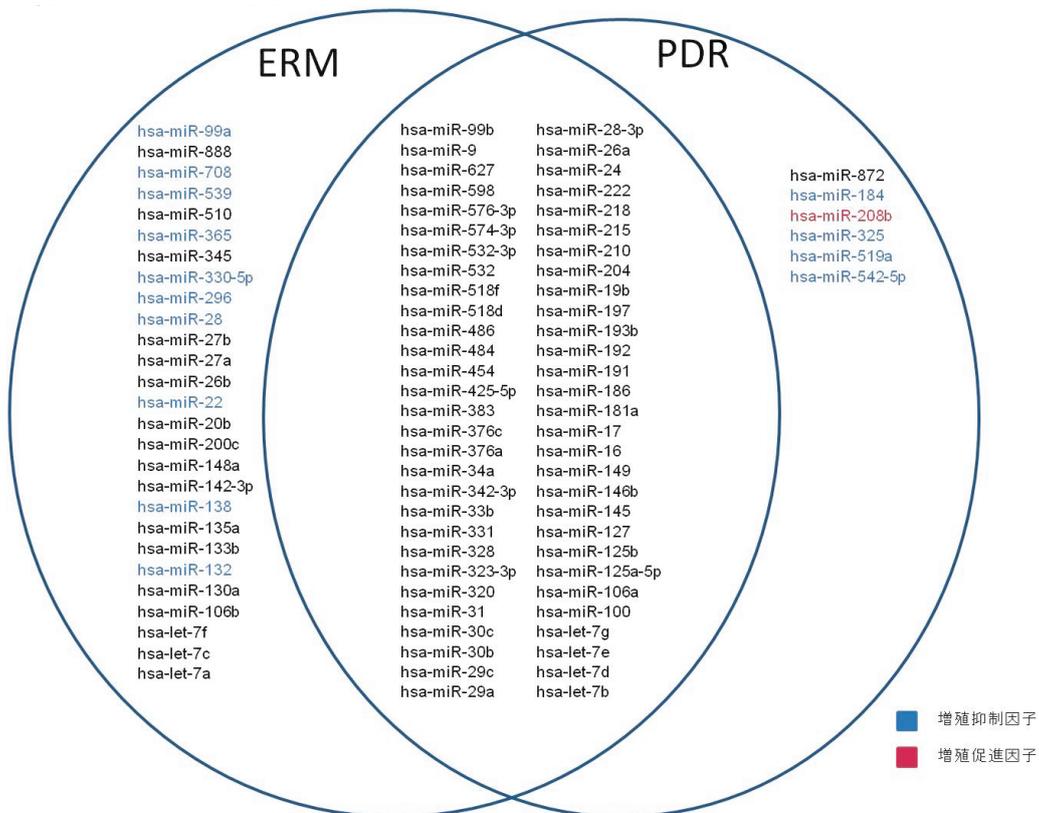


図2 各サンプルに発現したmiRNA