

学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
学籍番号	08D740	氏名	三村 志麻
論文題目	Profile of microRNAs associated with aging in rat liver		

(論文要旨)

【目的】

マイクロRNA (microRNA; miRNA) は細胞内に存在する、19~25塩基で構成される1本鎖のRNAである。機能としては、他の遺伝子の発現を調節し、タンパク質をコードしないノンコーディングRNAと考えられている。これまで、miRNAは細胞増殖、分化、発生、形態形成といったさまざまな生命現象に強く関連していることが徐々に明らかになってきた。しかしながら、加齢に伴う肝組織のmiRNAの発現の変化を調べた研究は少ない。そこで、今回、われわれはラットの肝臓において、胎児を含めた種々の週齢における肝組織のmiRNAの発現動態を解析した。

【方法】

胎児肝、生後3日、1週齢、2週齢、4週齢、8週齢、36週齢の雄性Wisterラットの肝臓を麻酔科で摘出した。肝組織からtotal RNAを回収後、RNAの純度を2100 バイオアナライザを用いて確認した。アレーチップ (V16, Toray) を使用し679種類のmiRNAの発現レベルを網羅的に解析した。そのうち、年齢とともに増加する、あるいは減少するmiRNAを同定した。また、各週齢の肝組織を増殖細胞を示すとされるProliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) 染色を行い、PCNA陽性細胞の発現率を比較した。

【結果】

バイオアナライザでの測定では、すべてのサンプルにおいて18S、28SリボソームRNAのバンドが明瞭であり、RIN値も8.2以上であることから、リボソーム分解の進んでいない良好なサンプルであることを確認した。

アレイを用いた網羅的なmiRNAの解析から年齢とともに肝において増加するmiRNAは4遺伝子 (miR-29a, miR-29c, miR-195, miR-497) であり、減少するmiRNAは9遺伝子 (miR-301a, miR-148b-3p, miR-7a, miR-93, miR-106b, miR-185, miR-450a, miR-539, miR-301b) であった (図1)。

ヒートマップを用いることでもそれぞれのサンプルにおいて、各週齢で増加もしくは減少するmiRNAが同じ傾向であることを視覚的に確認した (図2)。

PCNA合成レベルは、細胞周期中の細胞増殖及びDNA合成の程度に相関し、DNA合成が開始される直前のG1末期から核内でPCNAのレベルが上昇し、S期で最大となり、G2及びM期で低下するとされている。PCNA染色では週齢とともにPCNA陽性細胞の発現率が低下し、36週齢のラットの肝臓では、わずかな発現しか確認できなかった。

【考察】

増加する miRNA においては、肝細胞増殖因子 (HGF), cyclin E, Cdk4, Cdk6, cyclin D1 を標的遺伝子としていることから、これらの miRNA が増加することで細胞周期を抑制的に作用していると考えられた。PCNA 染色でも週齢とともに PCNA 陽性細胞の発現率が低下していることから、加齢に伴い細胞周期の回転は低下していると考えられた。また、増加する miRNA は Bcl-2 を標的にしていることから、細胞のアポトーシスにより老化に関与していることが示唆された。

一方、加齢とともに減少する miRNA では miR-93, miR-106b がサイクリン依存性キナーゼインヒビターである p21 を標的遺伝子としており、老化に伴い p21 が増強にするにつれ、細胞周期の抑制に関与していることが示唆された。また、サーチェイン遺伝子、癌抑制遺伝子である FUS1 が加齢と共に減少する miRNA の標的遺伝子に同定されており、今回、我々が同定した miRNA が加齢における肝細胞の増殖活性に重要な役割を果たしていると考えられた。今後、さらなる加齢に伴う肝組織の解明のためには、miRNA の標的遺伝子とその役割、および肝組織における miRNA の役割を明確にすることが必要と考えられる。

【結論】

肝組織において加齢とともに増加、あるいは減少する miRNA を同定した。これらの遺伝子が肝の老化に関与していることが示唆された。

図 1

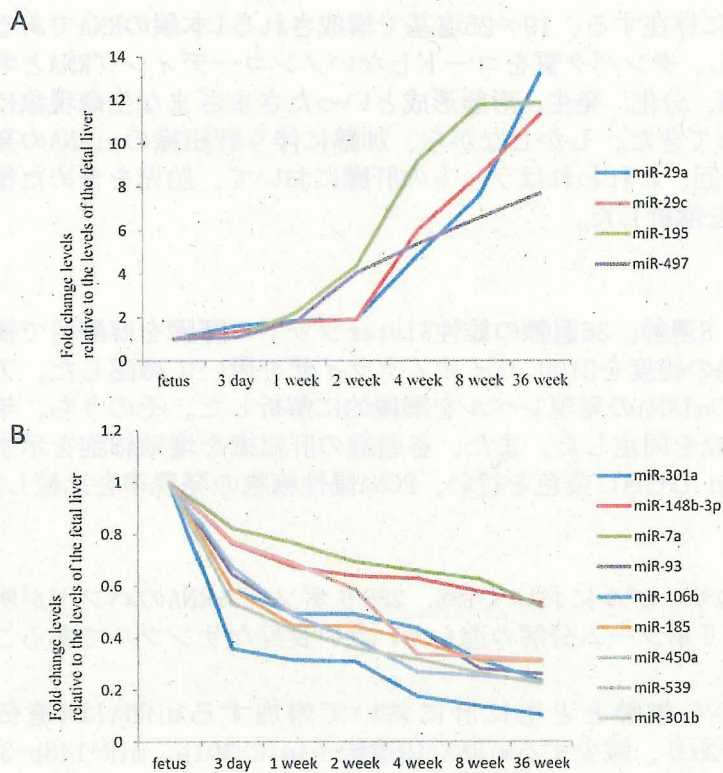
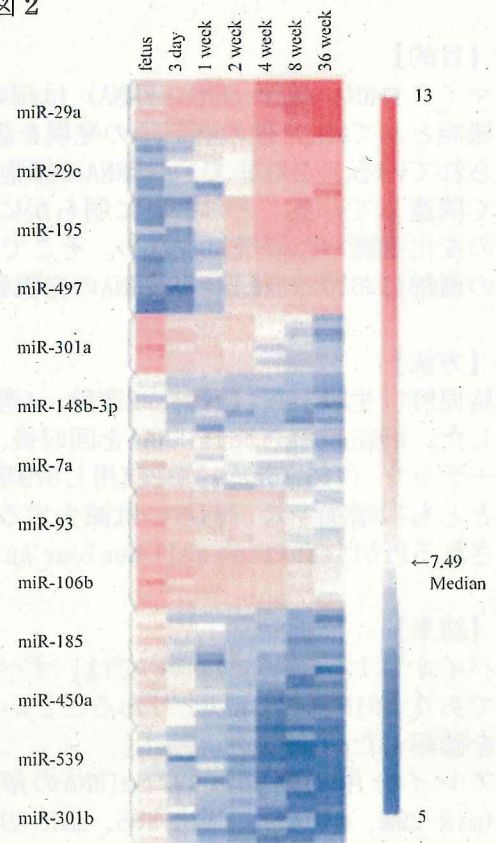


図 2



掲載誌名	International Journal of Molecular Medicine		
	第 巻, 第 号		
(公表予定) 掲載年月	受理 2014年2月	出版社(等)名	Spandidos Publications
Peer Review	有 ・ 無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。