

学位論文審査の結果の要旨

令和 4 年 2 月 2 日

審査委員	主査	三宅啓介 (三宅)		
	副主査	山本 融 (山本)		
	副主査	中村 祐 (中村)		
願出者	専攻	医学専攻	部門	(平成27年度以前入学者のみ記入)
	学籍番号	18D719	氏名	野中 和香子
論文題目	A cerebrospinal fluid microRNA analysis: Progressive supranuclear palsy			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	<input type="radio"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)	
<p>〔要旨〕</p> <p>【背景・目的】本研究では、PSP患者の脳脊髄液の網羅的なmiRNA発現解析を行い、発症早期から発現変化のあるmiRNAに着目し、未だ解明されていない分子病態の理解を目的とした。</p> <p>【方法】進行性核上性麻痺（MDS-PSP分類probable PSP）と診断した11例（発症2年以内の早期群5例と進行期群6例）および対象群8名を対象とし、2632個のプローブを搭載したHuman miRNA Oligo Chipを用いて、脳脊髄液の網羅的なmiRNA発現解析を施行した。そのうち特に早期群から有意な変化が認められたmiRNA候補について、データベースを用いてin silico解析を行って予測標的遺伝子を抽出し、その分子機能や病態を検討した。</p> <p>【結果】マイクロアレイ解析を行った結果、患者群および対照群すべての髄液中1104のmiRNAが検出された。患者群と対照群間での発現比が2倍以上、0.7倍未満のmiRNAで、統計学的に有意な変化が認められたmiRNAを同定し、クラスター解析を行った。そのうち、早期発症群で最も有意に発現量が増加または減少したmiRNAは、miR-204-3p、miR-873-3p、miR-6840-5pであった。また、これらのmiRNAの標的遺伝子は、ユビキチン-プロテアソーム系やオートファジー経路に関連する分子と関連していた。</p> <p>【考察・結論】マイクロアレイを用いて、PSP患者脳脊髄液において有意に変化したmiRNAを同定した。そのうちいくつかのmiRNA (hsa-miR-204-3p, 873-3p, 6840-5p) は、疾患の早期から有意に変化していた。また、これらの発現変化が見られたmiRNAはPSP患者脳組織のepigenome-wide association study (EWAS)解析でエピジェネティックな変化を示すことが過去に報告されている遺伝子を標的としていた。以上より、これらのmiRNAや遺伝子がPSPの病態に何らかの関与をしている可能性が示唆された。</p>				

令和4年2月2日に行われた学位論文審査委員会において、以下に示す様々な質疑応答が行われたが、それぞれに対して適切な回答が得られた。

(1) 進行期群2例が対照群のmiRNAの変動に類似しているのは。

対照群と類似したmiRNAの挙動がみられた進行期群2例については、進行期群の6例の中でも発症から6年と最も長期に経過した2例であったため、脳内のmiRNAの変化が一通り終わった状態を反映している可能性が考えられた。この進行期群2例を除外した検討を今後の課題としたい。

(2) miRNAは神経細胞にどのように働くか。miRNAとメチル化の直接的な関係はあるか。

完全に解明されている訳ではないが、DNAメチル化とmiRNAが相互に関連しており、epigeneticな遺伝子の発現制御に関わっているという報告は近年増えている。本研究で過去のPSP患者のEWAS解析で変化の見られた遺伝子を標的とするmiRNAの変化がみられたことは興味深いと考える。

(3) miR-3桁台までのmiRNAで検討してはどうか。

miR-3桁台までのmiRNAは機能など広く検討されているもの多いが、本研究では特に有意な変化のあったmiRNAを選択した。本研究では特にプローブ数の多いチップを用いたため、過去にあまり報告のないようなmiRNAが検出できた点は強みと考える。

(4) Richardson typeの患者を選択した理由は。

PSPの病型には様々なものがあるが、希少疾患であるPSPで、最も典型的な型であり、患者数が多いRSタイプを選択した。他の型についても患者数を蓄積し、今後の検討課題としたい。

(5) 病理学的に確定診断ができた症例は含まれるか。

剖検を施行できた例はなく、国際診断基準に基づいてPSPと診断した例を対象とした。病理で確認ができていないため、他疾患である可能性は完全に排除できていないことが制限事項となる。

(6) 髄液でNFLやタウについては測定したか。

NFLについては確認できていない。リン酸化タウについては全例でないものの検討はしたが、有意な差は指摘できなかった。過去にPSP髄液でリン酸化タウが上昇するという報告があるが、一方で変化はないとの報告もあり、本研究の結果は後者の研究結果を支持するものだった。

(7) 血清で検討してはどうか。血清で評価するとすれば、どのmiRNAを対象にするか。

本研究ではより脳内の変化を鋭敏に捉えると考えられる髄液での検討を選択したが、バイオマーカーとしてのアクセスのしやすさを考慮すると血清での検討は有用と考えられ、今後の課題としたい。miR-204は、過去にAD、FTDやMSA等の神経変性疾患の髄液で発現低下していること報告が示唆されており、かつ他のmiRNAに比して発現量が非常に多いため候補となる。miR-873-3pは、過去の研究でもPDとPSPで発現量の違いがあることが指摘されており、鑑別が難しい両疾患の診断につながる可能性があるため候補と考える。

委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に値するものと判定した。

掲載誌名	Molecular Medicine Reports		第25巻, 第3号
(公表予定) 掲載年月	2022年3月 online: 14 Jan 2022	出版社(等)名	Spandidos Publications

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。