

平成 29年度 科研費学内奨励金研究計画書

| | |
|--|--|
| 研究課題名 | 筋ジストロフィーにおけるバイオマーカーマイクロRNAの同定と分泌機序について |
| 研究目的 | 1)デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)病勢と相関性のある血中microRNA(miRNA)の同定、2) DMDにおけるバイオマーカーmiRNA分泌メカニズムの解明、3)バイオマーカーmiRNAの細胞内外での役割を明らかにする。 |
| <p>研究の概要および期待される成果</p> <p>(1)研究概要</p> <p>(2)研究経過</p> <p>(3)研究計画・方法・成果</p> <p>必要経費を含め、当該研究の特色や新規または独創性等を具体的に記入してください。</p> | <p>[研究の概要]</p> <p>デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は筋線維の変性・壊死を主病変とし、進行性の筋力低下を生じる疾患である。DMDは、ジストロフィンという筋細胞の骨格をつくるタンパク質の異常で起こる。DMD治療において、病勢を反映する非侵襲性のバイオマーカーが望まれている。近年、細胞から分泌された血中microRNA(miRNA)が、さまざまな疾患のバイオマーカーとして注目されている。DMD患者では細胞内環境の変化により分泌小胞内のmiRNAの種類が変化していると考えられ、変化しているmiRNAはDMDバイオマーカーとして有用ではないかと考えた。そこで、1)DMD病勢と相関性のあるmiRNAの同定、2) DMDにおけるバイオマーカーmiRNA分泌メカニズムの解明、3)バイオマーカーmiRNAの細胞内外での役割を明らかにする。本研究により、病勢との相関メカニズムが明らかなDMDバイオマーカーが開発され、DMD治療の支援につながる事が期待できる。</p> <p>[研究経過・背景など]</p> <p>申請者は、これまでに筋細胞特異的なmiRNA(myomiRs)がDMDをはじめとする筋疾患のモデル動物の血清中で増加していることを報告した。その後、ヒト患者における増加も報告され、血中myomiRsは新しいタイプの非侵襲性バイオマーカーとなり得ることが示された。しかし、最近、これらのmyomiRsの血中量は病態の進行と必ずしも一致しないことが報告された。病勢と相関するためには、細胞の変化に伴って発現量が変化する分子を用いる必要がある。本研究では、DMD筋細胞からのmiRNA分泌亢進機構を明らかにし、病勢に応じて増減するバイオマーカーmiRNAを同定することを目的とする。</p> <p>[研究計画・方法]</p> <p>a. ジストロフィン遺伝子を変異させたマウス筋芽細胞(C2C12)を用い、培養液を回収して、分泌小胞中のmiRNAの発現量を解析する。</p> <p>b. 遠心分画法によりエクソソーム、microvesicleとそれ以外の画分に存在するmiRNAを分離し、どの画分に含まれるかを解析する。</p> <p>c. Ca-EGTA緩衝液、分泌阻害剤及び細胞死関連タンパク質の阻害剤を細胞に処置後、分泌小胞及び細胞内のmiRNAを解析する。</p> <p>[期待される成果]</p> <p>小胞内にはジストロフィン欠損により発現量が変化するmiRNAが含まれ、これらの発現量を定量すれば、病勢に応じて増減するバイオマーカーが得られることが予想される。筋肉量や筋再生の指標となる血中myomiRsと同時に測定することで、DMDの病態について既存のバイオマーカー以上の情報が得られることが期待できる。</p> |
| 研究期間 | <p>予算配賦決定通知日 ~ 平成30年 3月 23日</p> <p>※H30年3月23日までの期間で設定</p> |