

ノンコーディング RNA の動脈硬化における機能の解明

尾野 亘

京都大学大学院医学研究科 循環器内科学

【研究の背景】

ゲノムの広大な non-coding 領域から、膨大な数の non-coding RNA (ncRNA) が転写され、様々な生命現象において重要な役割を果たしていることが近年明らかになっている。これらの ncRNA は、タンパク質が多彩な機能を持つと同様に、多様な特性を持っていると考えられる。我々は、これまでに循環器疾患における ncRNA、特に miRNA の働きを詳細に検討し、論文報告を行ってきた (*Circ Res.* 2015, *Sci Rep.* 2014, *Nat Commun.* 2013, *J Am Heart Assoc.* 2012, *Circulation: Cardiovascular Genetics.* 2011, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 など)。今回、さらにその成果を long ncRNA にも広げ、動脈硬化における ncRNA の役割について明らかにする予定である。

【目 的】

現在、動脈硬化性疾患は日本人の死因の約 5 分の 1 を占め、高齢化に伴いますます増加すると考えられる。今後、スタチンによる治療に加え、いわゆる「残存リスク」を下げるための新規治療法の開発が必須である。我々はこれまでに、動脈硬化発症における microRNA-33a/b について詳細な検討を続けてきた。さらに、動脈硬化発症に関わる long non-coding RNA を網羅的に解析し、治療へと繋げる予定である。今回は、マクロファージへの分化に必須の lincRNA について検討することが目的である。

【方 法】

PMA を用いて THP1 細胞からマクロファージに分化させる系において、Long intergenic ncRNAs (lincRNA) の発現を網羅的にマイクロアレイにより解析し、分化に伴い大きく発現変化する lincRNA を見いだした。その中から、RNAi 法により抑制した際に、分化が抑制される lincRNA-A を同定した。lincRNA の機能を、マクロファージ分化系を用いて解析する。さらにヒト血清においても測定できるかどうかを検討し、臨床的意義の解析に繋げる。

【結 果】

この lincRNA-A のノックダウンにおいては、ゲノム上の近傍の遺伝子発現が減少していた。すなわち、lincRNA-A は enhancer RNA として機能していることが推察された。また、THP1 細胞(単球)において lincRNA-A をノックダウンし、PMA で刺激したところ、マクロファージへの分化マーカーの発現が抑制されていた。一方、ビオチン化 lincRNA-A をストレプトアビジンビーズに結合させ、単球由来の核蛋白の中で lincRNA-A と結合する蛋白を分離し、質量分析によって RNA 結合蛋白を複数同定した。その中で 2 つの蛋白 X、Y がそれぞれの抗体を用いた免疫沈降法により lincRNA-A と結合することが分かった。また、これらの X、Y のノックダウンにおいても THP1 からマクロファージへの分化が抑制された。さらに Tet-off システムを用いて、マクロファージの状態でも lincRNA-A をノックダウンした場合においてもマクロファージへの分化マーカーの発現が抑制された。

一方、京大病院に入院された患者血清において血中 lincRNA-A を測定したところ、不整脈患者に対して、狭心症および閉塞性動脈硬化症患者の血清で有意に高値を示した。

【考 察】

lincRNA-A は単球およびマクロファージの両者において、ゲノム上の近傍の遺伝子発現を正に制御して、マクロファージの形質を保つための enhancer RNA として機能している可能性がある。すなわち、血中 lincRNA-A は動脈硬化進行のバイオマーカーとして使える可能性があると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、非コード RNA がマクロファージの分化や動脈硬化に関与していることが明らかになった。特に、lincRNA-A が enhancer RNA として機能している可能性が明らかになったことで、同様の非コード RNA が多数存在し、病態形成に影響を及ぼしている可能性が推察される。さらに血中 lincRNA-A は動脈硬化進行のバイオマーカーとして使える可能性があるため、病気の早期診断に役立つと考えられる。

【参考・引用文献】

Engreitz-JM et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing. Nature 2016;539:452-455