慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	miRNAを介した肺MAC症の病態解明
Sub Title	Elucidation of miRNA-mediated pathophysiology of MAC pulmonary disease
Author	長谷川, 直樹(Hasegawa, Naoki) 星野, 仁彦(Hoshino, Yoshihiko) 西村, 知泰(Nishimura, Tomoyasu)
Publisher	
Publication year	2019
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	microRNA (miRNA)はタンパク質をコードしない微小なRNAであり、細胞内で転写調節因子として機能し、様々な疾患の病態に関与している。我々は、ヒトマクロファージを用いたMycobacterium avium complex (MAC)感染実験、肺MAC症患者の血清を用いた臨床研究により、ヒトmiRNAのhsa-miR-346が肺MAC症の病態に関与し、疾患活動性を評価する血清バイオマーカーになりうることを発見した。 MicroRNAs (miRNAs) are small, non-coding RNAs involved in the pathophysiology of several diseases by means of post-transcriptional regulation of gene expression within cells. Experiments with MAC-infected human macrophages and clinical studies using serum of patients with MAC pulmonary disease indicated that the human miRNA, hsa-miR-346, has a role in the pathophysiology of Mycobacterium avium complex (MAC) pulmonary disease. It is a potential serum biomarker reflecting MAC pulmonary disease activity.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2016～2018 課題番号：16K09941 研究分野：感染症
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K09941seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ５ 月 ２８ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ０９９４１

研究課題名（和文）miRNAを介した肺MAC症の病態解明

研究課題名（英文）Elucidation of miRNA-mediated pathophysiology of MAC pulmonary disease

研究代表者
長谷川　直樹（Hasegawa, Naoki）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授

研究者番号：２０１９８７２４

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,600,000円

研究成果の概要（和文）：microRNA (miRNA)はタンパク質をコードしない微小なRNAであり、細胞内で転写調節因子として機能し、様々な疾患の病態に関与している。我々は、ヒトマクロファージを用いたMycobacterium avium complex (MAC)感染実験、肺MAC症患者の血清を用いた臨床研究により、ヒトmiRNAのhsa-miR-346が肺MAC症の病態に関与し、疾患活動性を評価する血清バイオマーカーになりうることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
日本において、肺MAC症の罹患率は増加傾向にあるが、肺MAC症は慢性難治性呼吸器感染症であり、疾患活動性を評価するバイオマーカーも無く、臨床経過や予後を予測することは極めて困難である。血清hsa-miR-346濃度測定に基づいた肺MAC症の疾患活動性評価が可能になれば、臨床経過や予後予測が容易になり、より良い肺MAC症診療が可能となる。また、hsa-miR-346を介した肺MAC症の病態が解明されれば、新規治療標的の発見につながる。

研究成果の概要（英文）：MicroRNAs (miRNAs) are small, non-coding RNAs involved in the pathophysiology of several diseases by means of post-transcriptional regulation of gene expression within cells. Experiments with MAC-infected human macrophages and clinical studies using serum of patients with MAC pulmonary disease indicated that the human miRNA, hsa-miR-346, has a role in the pathophysiology of Mycobacterium avium complex (MAC) pulmonary disease. It is a potential serum biomarker reflecting MAC pulmonary disease activity.

研究分野：感染症

キーワード：肺MAC症　microRNA

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９、ＣＫ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

(1)　日本において、肺 *Mycobacterium avium* complex (MAC)症の罹患率は、喫煙歴の無い中年女性を中心に増加傾向にある。しかし、肺 MAC 症はその病態に依然不明な点が多い慢性難治性呼吸器感染症である。肺 MAC 症には多剤併用抗菌化学療法が行われるが、治療開始時期、治療期間、治療終了時期を判断する基準がないため、治療に苦慮する症例が多い。また、中には病状が変化せず長期間無治療で経過観察が可能な症例もあれば、急速に進行し致命的な呼吸不全に陥る難治例も存在する。しかし、現時点では、肺 MAC 症の疾患活動性を評価するバイオマーカーは無く、本疾患の経過や予後を予測することは極めて困難である。

(2)　microRNA (miRNA)はタンパク質をコードしない 22 塩基程度の 1 本鎖 RNA であり、細胞内で転写調節因子として機能し、様々な疾患の病態に関与していることが近年報告されている。また、miRNA は細胞内で産生され細胞外に放出されるが、血液中にも存在し、その測定も可能となったため、疾患バイオマーカーとしても注目されている。

(3)　我々は先行研究で、肺 MAC 症患者の血清において、ヒト miRNA である hsa-miR-346 (miR-346)が有意に上昇していること、更に MAC 感染ヒトマクロファージで miR-346 の分泌が亢進していることを確認した。

２．研究の目的

(1)　肺 MAC 症患者の臨床検体を用いて、血清 miR-346 が肺 MAC 症の疾患バイオマーカーになりうるかを検討する。

(2)　MAC 感染実験を行い、肺 MAC 症の病態における miR-346 の関与を検討する。

３．研究の方法

(1)　慶應義塾大学医学部倫理委員会承認の下、クラリスロマイシン、リファンピシン、エタンブトールによる６か月以上の治療後、喀痰培養検査で菌が陰性化した肺 MAC 症患者(菌が陰性化した症例)と菌が陰性化しなかった肺 MAC 症患者(菌が陰性化しなかった症例)の治療開始前後の血清 miR-346 濃度を比較検討した。

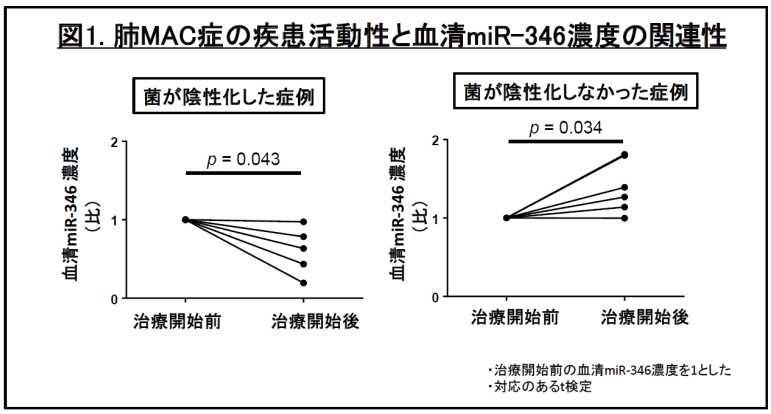
(2)　MAC が感染しうる宿主細胞として、マクロファージ、気道上皮細胞が知られている。そこで、MAC 感染気道上皮細胞から miR-346 分泌が亢進するかを検討するため、ヒト気道上皮細胞株 BEAS-2B に MAC を感染させ、培養上清中の miR-346 濃度を測定した。また、マクロファージの miR-346 分泌が、貪食に伴う非特異的な現象でないことを確認するため、ヒト末梢血単核球由来マクロファージ(ヒトマクロファージ)にラテックスビーズを貪食させ、培養上清中の miR-346 濃度を測定した。

(3)　miR-346 が肺 MAC 症だけでなく、広く抗酸菌症の病態に関与し、抗酸菌症のバイオマーカーになりうるかを検討するため、MAC と同じ抗酸菌である結核菌をヒトマクロファージに感染させ、培養上清中の miR-346 濃度を測定した。また、慶應義塾大学医学部倫理委員会承認の下、肺結核症患者と健常者の血清 miR-346 濃度を測定し比較検討した。

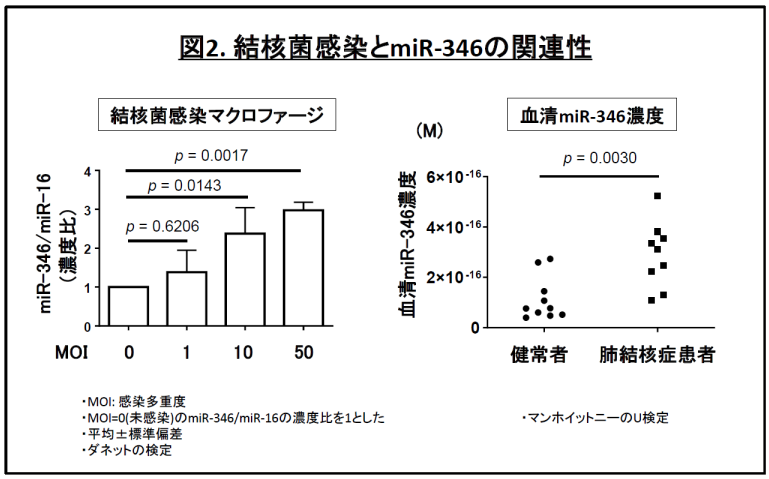
４．研究成果

(1)　菌が陰性化した症例 5 例と菌が陰性化しなかった症例 6 例の治療開始前後の血清 miR-346 濃度を図 1 に示す。菌が陰性化した症例では有意に血清 miR-346 濃度は低下し、菌が陰性化しなかった症例では有意に血清 miR-346 濃度が上昇していた。

(2)　ヒト気道上皮細胞株 BEAS-2B を用いて MAC 感染実験を行ったところ、感染細胞と未感染細胞で培養上清中の miR-346 濃度に有意な差を認めなかった。また、ヒトマクロファージにラテックスビーズを貪食させても、培養上清中で miR-346 分泌亢進を認めなかった。



(3)　ヒトマクロファージに結核菌を感染させ、培養上清中の miR-346 濃度を測定したところ、未感染細胞に比べ、培養上清中の miR-346 濃度が有意に高かった(図 2)。また、肺結核症患者 9 例と健常者 10 例の血清 miR-346 濃度を比較したところ、肺結核症患者で有意に血清 miR-346 濃度が高かった(図 2)。



(4)　miR-346 は抗酸菌感染ヒトマクロファージで分泌が亢進し、肺 MAC 症に限らず、肺結核症等を含めた抗酸菌症の病態に関与し、疾患バイオマーカーになりうる可能性が示唆された。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 7 件）

1. Asakura T, Nakagawa T, Suzuki S, Namkoong H, Morimoto K, Ishii M, Kurashima A, Betsuyaku T, Ogawa K, Hasegawa N; Nontuberculous Mycobacteriosis Japan Research Consortium (NTM-JRC). Efficacy and safety of intermittent maintenance therapy after successful treatment of *Mycobacterium avium* complex lung disease. J Infect Chemother. 査読有り. 25(3): 218-221, 2019. doi: 10.1016/j.jiac.2018.07.021.
2. Asakura T, Yamada Y, Suzuki S, Namkoong H, Okamori S, Kusumoto T, Niijima Y, Ozaki A, Hashimoto M, Yagi K, Kamata H, Funatsu Y, Ishii M, Jinzaki M, Betsuyaku T, Hasegawa N. Quantitative assessment of erector spinae muscles in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease. Respir Med. 査読有り. 145: 66-72. 2018. doi: 10.1016/j.rmed.2018.10.023.
3. Suzuki S, Asakura T, Namkoong H, Okamori S, Yagi K, Kamata H, Uwamino Y, Funatsu Y, Nakano Y, Nishimura T, Ishii M, Ebihara T, Betsuyaku T, Hasegawa N. Aspergillus precipitating antibody in patients with *Mycobacterium avium* complex lung disease: A cross-sectional study. Respir Med. 査読有り. 138: 1-6, 2018. doi: 10.1016/j.rmed.2018.03.013.

4. Kamata H, Asakura T, Suzuki S, Namkoong H, Yagi K, Funatsu Y, Okamori S, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishimura T, Ishii M, Betsuyaku T, Hasegawa N. Impact of chronic Pseudomonas aeruginosa infection on health-related quality of life in *Mycobacterium avium* complex lung disease. BMC Pulm Med. **査読有り**. 17(1): 198, 2017. doi: 10.1186/s12890-017-0544-x.
5. Nishimura T, Tamizu E, Uno S, Uwamino Y, Fujiwara H, Nishio K, Nakano Y, Shiono H, Namkoong H, Hoshino Y, Iwata S, Hasegawa N. hsa-miR-346 is a potential serum biomarker of *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease activity. J Infect Chemother. **査読有り**. 23(10): 703-708, 2017. doi: 10.1016/j.jiac.2017.07.015.
6. Asakura T, Yamada Y, Namkoong H, Suzuki S, Niijima Y, Kamata H, Funatsu Y, Yagi K, Okamori S, Sugiura H, Ishii M, Jinzaki M, Betsuyaku T, Hasegawa N. Impact of cavity and infiltration on pulmonary function and health-related quality of life in pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease: A 3-dimensional computed tomographic analysis. Respir Med. **査読有り**. 126: 9-16, 2017. doi: 10.1016/j.rmed.2017.03.010.
7. Morimoto K, Namkoong H, Hasegawa N, Nakagawa T, Morino E, Shiraishi Y, Ogawa K, Izumi K, Takasaki J, Yoshiyama T, Hoshino Y, Matsuda S, Hayashi Y, Sasaki Y, Ishii M, Kurashima A, Nishimura T, Betsuyaku T, Goto H; Nontuberculous Mycobacteriosis Japan Research Consortium. Macrolide-resistant *Mycobacterium avium* complex lung disease: Analysis of 102 Consecutive Cases. Ann Am Thorac Soc. **査読有り.** 13(11): 1904-1911, 2016.

〔学会発表〕（計 13 件）

1. **楠本竜也, 長谷川直樹, 他. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症のフォローアップ中の肺癌合併患者の検討. 第 93 回日本結核病学会総会**, 2018 **年**.
2. Griffith DE, Hasegawa N, et al. Randomized phase 3 trial of amikacin liposome inhalation suspension (ALIS) for treatment-refractory nontuberculous mycobacterial (NTM) lung disease caused by *Mycobacterium avium* complex (MAC) in adult patients. International Conference of American Thoracic Society, 2018.
3. Winthrop KL, Hasegawa N, et al. Six-minute walk test (6MWT) performance in adult patients receiving amikacin liposome inhalation suspension (ALIS) for treatment-refractory nontuberculous mycobacterial (NTM) lung disease caused by *Mycobacterium avium* complex (MAC). International Conference of American Thoracic Society, 2018.
4. Winthrop KL, Hasegawa N, et al. Patient-reported health status measured by St. George's respiratory questionnaire improved with sputum culture conversion in patients with nontuberculous mycobacterial (NTM) lung disease caused by *Mycobacterium avium* complex (MAC). International Conference of American Thoracic Society, 2018.
5. **石井 公美子,長谷川 直樹, 他. 高齢者肺 *Mycobacterium avium* complex 症における健康関連 QOL の検討. 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会**, 2017 **年**.
6. **西村 知泰, 星野 仁彦, 長谷川 直樹, 他. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症における**

血清バイオマーカーの探索. 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会, 2017 年.

7. 山羽 悠介, 長谷川 直樹, 他. *Mycobacterium avium* complex の VNTR 遺伝子型別解析と薬剤感受性との関連. 第 57 回日本呼吸器学会学術講演会, 2017 年.
8. 伊藤穣, 長谷川直樹, 他. *Mycobacterium avium-intracellulare* complex のフルオロキノロン抗菌薬に対する薬剤感受性に関する全国調査. 第92回日本結核病学会総会, 2017年.
9. 山羽悠介, 長谷川直樹, 他. フルオロキノロン耐性 *Mycobacterium avium-intracellulare* complex の gyrA、gyrB 遺伝子変異の解析. 第 92 回日本結核病学会総会, 2017 年.
10. 八木一馬, 西村知泰, 長谷川直樹, 他. 過敏性肺炎様の陰影を伴い増悪した肺 *Mycobacterium avium* complex 症の一例. 第 92 回日本結核病学会総会, 2017 年.
11. 南宮湖, 長谷川直樹, 他. 医薬品副作用データベース(JADER)を用いた肺 *Mycobacterium avium* complex 症の化学療法の有害事象解析. 第 65 回日本感染症学会東日本地方会学術集会第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会, 2016 年.
12. 田水映子, 西村知泰, 星野仁彦, 長谷川直樹, 他. 肺 MAC 症における新規バイオマーカーの探索. 第 91 回日本結核病学会総会, 2016 年.
13. 八木一馬, 西村知泰, 長谷川直樹, 他. 肺 *Mycobacterium avium* complex 症における 6 分間歩行試験の臨床的意義に関する検討. 第 91 回日本結核病学会総会, 2016 年.

６．研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：星野 仁彦
ローマ字氏名：HOSHINO, Yoshihiko
所属研究機関名：国立感染症研究所・ハンセン病研究センター
部局名：感染制御部
職名：室長
研究者番号（8 桁）：20569694

研究分担者氏名：西村 知泰
ローマ字氏名：NISHIMURA, Tomoyasu
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：保健管理センター
職名：専任講師
研究者番号（8 桁）：90348649

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。