

## 題目：循環マイクロ RNA 測定による II 型糖尿病の診断・病期分類

保健医療学専攻 臨床検査学分野 臨床検査学領域

氏名：高田 勇吉

キーワード：2 型糖尿病, 血清中マイクロ RNA, バイオマーカー, 病期診断

### 【背景・目的】

糖尿病 (Diabetes Mellitus: DM) は血液中の糖分 (血糖) が慢性的に上昇する疾患であり、世界で 4 億人以上が罹患し、我が国も罹患者数は 300 万人以上に上る。DM には I 型糖尿病と II 型糖尿病に大別され、その発症原因や病態、治療法が異なるが全体の 95%以上が II 型糖尿病 (Type2DM: T2DM) である。T2DM は遺伝的要因に加え環境要因が原因となり発症し、血糖を減少させるホルモンであるインスリンの分泌低下やインスリン抵抗性の増大によって血糖の上昇が起こる。糖尿病を発症すると網膜症、神経症状、腎症 (3 大合併症) をはじめとする種々の合併症を引き起こす原因となり、癌や認知症のリスクも増大する。また、近年では COVID-19 感染症における重症化のリスクファクターとしても注目されており、T2DM の病態把握は非常に重要となっている。

現在、T2DM の診断や病態把握の指標として HbA1c が広く用いられている。HbA1c は糖が結合したヘモグロビンの割合であり、食事や運動の影響をほとんど受けず、1 回結合した糖は乖離しない性質上、過去約 2 ヶ月間の血糖値を反映することから、T2DM の中長期的なコントロールの指標とされている。一方、T2DM による多彩な合併症の有無や進行状況は個人差が大きく、HbA1c 値のみでは必ずしも予測できない。

そこで本研究では、血清マイクロ RNA のアレイ解析および、先行研究において T2DM の病態に関与すると報告されている複数のマイクロ RNA から選定した 4 種のマイクロ RNA を解析することで、T2DM の診断・病期分類に有用なバイオマーカー探索を目的とし、研究を実施した。

### 【方法・倫理的配慮】

健常人 15 例、T2DM 50 例の血清を用いた。血清を  $0.45 \mu\text{m}$  のフィルタで濾過し、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。個別の血清および健常人 5 例、T2DM 5 例を等量混合したプール血清からカラム法 (Nucleospin Plasma: タカラバイオ) によりマイクロ RNA を抽出した。その後 3D-GENE (東レ) によるアレイ解析およびリアルタイム核酸増幅装置 (ABI7500fast:

Thermo Fisher 社) によるマイクロ RNA 測定を行った。測定した 5 種類のマイクロ RNA について、外部コントロールである cel-miR-39 (1fmol/ $\mu$ L) との相対発現量を算出し、統計学的解析を行なった。統計学的解析には Mann-Whitney U 検定および Pearson の積率相関係数検定を用いた。本研究は国際医療福祉大学倫理審査委員会 (承認番号: 19-Ith-070) および社団法人高邦会高木病院倫理審査委員会 (承認番号: 333) の承認を受け行った。本人の同意は文書により取得した。

### 【結果】

アレイ解析によって、複数のマイクロ RNA が T2DM によって変動することが明らかとなった。また、測定した 5 種のマイクロ RNA (miR-21、miR-126、miR-10a、miR-18b、miR-200c) の中で、健常人と比較し miR-126 は T2DM 患者で有意に低下 ( $p=0.01$ )、miR-10a は優位に上昇していた ( $p=0.05$ )。また、miR-126 および miR-10a の値は重症度に応じて変化していた。miR-21、miR-200c は健常人との有意な差は見られなかったが、miR-126 および miR-10a と組み合わせることで健常人との群分けが可能であった。miR-18b については全ての検体で測定感度以下であった。

### 【考察】

miR-126 は脂肪組織や内臓脂肪で多く発現するとされているが、本研究では miR-126 と脂質関連検査項目 (総コレステロール、HDL、Non-HDL、TG) は相関が見られなかった。このことから、miR-126 が脂質の影響を受けにくい T2DM 診断指標として有用であることが示唆された。また、miR-10a の過剰発現は尿中アルブミンの増加と相関し、腎障害との関連が示唆されている。本研究においても HbA1c が高い患者群で miR-10a の上昇が見られたことから、血糖コントロール不良によって T2DM が進行した患者を特定する指標として有用である可能性が示された。

また、本研究においては HbA1c や臨床データと高い相関を示さないマイクロ RNA も見られたが、その原因として HbA1c を初めとする臨床データとマイクロ RNA の半減期の違いや性質の違い (マイクロ RNA は 1 つの標的遺伝子に対して複数のマイクロ RNA が関与する) が考えられる。特に T2DM は多様な合併症を持ち、マイクロ RNA がより複雑に発現、制御されていると考えられる。マイクロ RNA を有用なバイオマーカーとして利用するには、複数のマイクロ RNA を用いて総合的に判断する必要がある。

### 【結語】

本研究によって、T2DM の診断指標として miR-126 および miR-10a の有用性が示唆された。また、複数のマイクロ RNA を組み合わせることによって高い感度での T2DM の診断が可能であることが示唆された。