

The Influence of Pre-analytical Factors on the Analysis of Circulating MicroRNA

塩津, 弘倫

<https://hdl.handle.net/2324/2236070>

出版情報：九州大学, 2018, 博士（保健学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏名	塩津 弘倫
論文名	The Influence of Pre-analytical Factors on the Analysis of Circulating miRNA (循環miRNAの解析に解析前因子が及ぼす影響の検討)
論文調査委員	主査 九州大学 教授 水野 晋一 副査 九州大学 教授 藤本 秀士 副査 九州大学 教授 有村 秀孝

論文審査の結果の要旨

MicroRNA (miRNA) は遺伝子発現を調整する低分子RNAであるが、近年になり疾患の特異性や活動性の指標になることが報告されてきており、次世代のバイオマーカーとしての応用が期待されている。miRNAの測定には種々の方法が提案されているが、測定ステップも複雑で報告者により結果が一致しない事例も多く、問題となっている。結果が一定しない原因としては、疾患研究の対照群となる健常人miRNAのプロファイルの幅や生理的変動などの基礎的な知見が不十分であることに加え、normalizerの選択や測定手順、阻害物質の存在など各ステップにおける技術的な問題点が残されていることが挙げられるであろう。miRNAの有用性や今後の発展を進めるには、これら生体側の知見の集積とともに、技術的な問題点を解決することが求められている。

本研究は、末梢血液中を循環するmiRNA解析の標準化のために、解析の各ステップにおける変動要因を検討したものである。解析には健常人25名の早朝空腹時の採血検体を使用しており、血清および血漿におけるmiRNA発現量、採血管や凝固促進剤のmiRNA測定に与える影響などを、RT-qPCRによるmiR-16, 451, 126, 223の定量解析にて検討している。同時に、相対定量するためのコントロールとしてmiRNA抽出時に線虫由来のcel-miR-39を導入している。

その結果、遠心分離直後の血清と血漿では異なるmiRNA発現プロファイルが得られることが明らかとなっている。この差異の原因は、血小板マイクロパーティクルなど細胞外小胞体の混入によるものと考えられ、血球分離後の膜フィルターによる濾過や高速遠心法により除去できることが示された。さらに、内部コントロールによるmiRNA相対値の変動が詳細に解析されており、今後の解析における内部標準の選択の重要性を示唆する結果であった。一方、血中に存在するRNaseによるmiRNAの分解をブロックするRNase阻害剤の添加が、安定した解析に有用であることも明らかにされている。

論文審査においては研究の目的、方法、結果について論文審査委員により種々の質問あるいはコメントがあったが、それぞれの問いに対して適切な説明および回答がなされた。本論文は、末梢血液中を循環するmiRNA解析の標準化のために測定条件を詳細に検討した論文であり、これらの知見は今後のmiRNA測定の臨床応用の一助となることが期待される。これらのことより、調査委員の合議の結果、本論文は博士 (保健学) の学位に値すると認めた。