

ロファイリングに生物学的意義を持たせることは困難であるのが現状である。本研究では新たに導入したパスウェイ解析アプリケーションである IPA (Ingenuity) のデータベースを活用し、「PCR アレイによるプロファイリング—IPA を用いたパスウェイ解析による生物学的解釈」という一連の解析系の確立を目指した。

**【方法】** 脱メチル化剤耐性細胞株(白血病細胞由来)において、PCR アレイによって得られた miRNA プロファイルの Ct 値データを、発現解析アプリケーション GeneSpring (Agilent) にて統計処理後、IPA にインポートしてパスウェイ解析を行った。また、miRNA—mRNA 統合解析を行うにあたり、GeneChip Human ST Array (Affymetrix) を用いて遺伝子発現解析を行い、IPA にて miRNA プロファイルと統合的にパスウェイ解析を行った。

**【結果と考案】** 脱メチル化剤耐性株において特異的に発現上昇する miRNA 群と減少する群をリスト化し、IPA でパスウェイ解析した結果、P53 および MYC を中心とする発癌関連 miRNA-遺伝子パスウェイが得られた。そこで、脱メチル化剤耐性株において特異的に発現上昇する miRNA 群と減少する遺伝子群を抽出して IPA で統合解析すると、HDAC1 をハブとした DNA 脱メチル化作用に関連するパスウェイが得られ、miRNA-mRNA 統合解析が機能している事が示唆された。今後は臨床サンプルを用いた解析を行っていく。

#### P1-5.

##### ミトコンドリア新機能と疾患

(東京薬科大 生命科学 分子生化学)

○武田 啓佑、長島 駿、柳 茂

ミトコンドリアは融合と分裂を繰り返しながら微小管に沿って動的に移動している。このようなミトコンドリアダイナミクスの破綻は、神経変性疾患などさまざまな病態を引き起こす。私たちはミトコンドリア外膜を4回貫通する新規膜型ユビキチンリガーゼ MITOL を発見し、MITOL が分裂因子である Drp1 を制御することによりミトコンドリアダイナミクスを調節していること (EMBO J. 2006)、および MITOL がミトコンドリアに蓄積する変性タンパク質の分解を促進することより、ミトコンドリア

の品質管理機構に関与していることを示した (Mol. Biol. Cell 2009)。また、MITOL が一酸化窒素によって S-ニトロ化された MAP1B-LC1 を特異的に認識し、ユビキチン・プロテアソーム経路を介して分解を促進することにより、MAP1B-LC1 の過剰蓄積によるミトコンドリア機能不全を防御していることを明らかにし、ミトコンドリアによる新しい酸化ストレス防御機構を示唆した (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2012)。最近、MITOL が Mitofusin2 を活性化することにより、ミトコンドリアと小胞体との接着構造とカルシウム動態を制御していることを見出した (Mol. Cell 2013)。今回は、MITOL 欠損繊維芽細胞を樹立し、機能解析を行ったので、これまで得られた知見を報告する。また、現在 MITOL の臓器特異的ノックアウトマウスの表現系について解析を行っているが、途中段階の結果を一部紹介し、疾患との関連性について考察したい。

#### P1-6.

##### 低酸素暴露によりトロホプラストにおける miR-365 は HLA-G の発現を抑制する

(社会人大学院 4年産科婦人科学)

○永藤 純子

(産科婦人科学)

西 洋孝、三森 麻子、佐々木 徹

高江洲陽太郎、永光 雄造、井坂 恵一

**【目的】** 妊娠初期の胎盤は低酸素状態にあるが、妊娠 10 週以降は絨毛間隙が母体血に満たされ酸素濃度が上昇する。低酸素はトロホプラストの分化を抑制し、その浸潤能に寄与すると考えられている。一方で、約 22 塩基からなる機能性低分子 RNA である microRNA (miRNA) はさまざまな生理学的・病理学的現象に関与していることが知られており、胎盤特異的に発現する miRNA も見出されてきている。今回、低酸素下に培養したトロホプラスト細胞株において発現の変動を認める miRNA を同定し、胎盤の成長、分化に対する低酸素の影響のメカニズム解明を試みた。

**【方法】【成績】** 不死化トロホプラスト細胞株 HchEpC1b を酸素濃度と 1% 酸素濃度下に 24 時間培養し、miRCURY LNA microRNA Array にて miRNA 発現の網羅的解析を行ったところ、低酸素暴露によ

り miR-365 の発現が亢進していた。この発現の差異は realtime RT-PCR 法により確認された。in silico 解析により、HLA-G が miR-365 の標的遺伝子候補としてあげられた。絨毛癌細胞株 JAR および BeWo を低酸素に暴露し、または、miR-365 を強制発現させ、ウェスタンブロットを行ったところ HLA-G の発現が抑制された。また、HLA-G の 3'-UTR を包含したルシフェラーゼコンストラクトを用い、miR-365 の強制発現のもとルシフェラーゼアッセイを行ったところ、ルシフェラーゼ活性が低下した。免疫組織学的検討では、extravillous trophoblast に HLA-G の発現を認め、villous trophoblast には発現を認めなかった。

**【結論】** HLA-G は妊娠の免疫寛容に深く関わりとされる。低酸素によるトロホプラストの miR-365 発現の亢進は、HLA-G の発現を抑制することが示された。トロホプラストにおける酸素濃度と miR-365 の発現は、妊娠維持のための免疫寛容に寄与する可能性が示唆された。

#### P1-7.

#### インスリン使用患者における低用量シタグリプチン 25 mg 併用療法の検討

(八王子：糖尿病・内分泌・代謝内科)

○梶 邦成、石村 奈那、梶 明乃  
白井 崇裕、松下 隆哉、大野 敦

**【目的】** インスリン治療中の 2 型糖尿病患者にシタグリプチンの通常使用量より少ない 25 mg を使用し、インスリンとの併用効果を後ろ向きで調査した。

**【方法】** 対象はインスリン治療に 6 ヶ月以上シタグリプチン 25 mg を併用し、かつそれ以外に併用している経口血糖降下薬に変更のなかった 36 名である。シタグリプチン開始時と 6 ヶ月後のインスリン 1 日使用量の変化、BMI、血圧、血糖 (HbA1c、GA)・脂質 (TC、LDL-C、TG)・腎機能 (BUN、SCr、e-GFR) の各データの推移について、Wilcoxon 検定で評価を行った。

**【結果】** 調査対象者 36 名の背景は、男性 14 名、女性 22 名、年齢  $70.3 \pm 12.3$  歳、糖尿病罹病歴  $18.6 \pm 8.6$  年、インスリン使用歴  $8.4 \pm 4.7$  年 (平均  $\pm$  SD) で、インスリン療法は強化療法 18 名、混合製剤 15 名、その他 3 名、シタグリプチン以外の経口血糖降下薬

使用者は 18 名で、SU 薬使用者 8 名、BG 剤使用者 13 名、 $\alpha$ GI 使用者 9 名、TZ 使用者 3 名。シタグリプチン併用開始時と 6 ヶ月後の比較では、BMI が  $24.6 \pm 3.9$  から  $24.7 \pm 3.7$  と有意 ( $p < 0.05$ ) に増加したが、HbA1c は  $8.6 \pm 1.0\%$  から  $7.9 \pm 0.9\%$ 、GA は  $26.1 \pm 3.5\%$  から  $22.9 \pm 3.5\%$  と有意 (各  $p < 0.0001$ ) に改善し、インスリン 1 日使用量も  $28.4 \pm 14.3$  IU/day から  $27.1 \pm 14.8$  IU/day と有意 ( $p < 0.005$ ) に減少した。TC、LDL-C、TG、BUN、SCr、e-GFR、血圧に有意な変化は認めなかった。

**【総括】** インスリンに通常使用量より低用量のシタグリプチン 25 mg を併用することで、血糖コントロールの有意な改善がみられた。1 日インスリン投与量も減少し、インスリン使用患者におけるシタグリプチンの併用は低用量であっても有効であると考えられる。

#### P1-8.

#### 慢性腎不全患者における血中アセチルカルニチン濃度上昇が骨格筋糖代謝に与える影響

(大学院 2 年・第五内科)

○宮本 和宜  
(茨城・共同研究センター)  
宮崎 照雄、本多 彰  
(茨城・内科 (腎臓))  
下畑 誉、小林 正貴

**【背景】** 慢性腎臓病 (CKD) 患者では、インシュリン抵抗性が生じるが、原因は解明されていない。糖・脂質異化反応の際、主に骨格筋において、エネルギー産生物質であるアセチル CoA (AcCoA) とカルニチン (CT) が反応し、アセチルカルニチン (AcCT) が生じる。我々はこれまで、CKD 患者において、有意な血清 AcCT 濃度上昇を確認している (第 170 回東医大医学会総会)。今研究では、AcCT 濃度上昇が、糖代謝・インシュリン抵抗性に与える影響について検討した。

**【方法】** 透析導入前の CKD 患者 (66 名) および健康人 (47 名) の血清において、血糖値、インスリン値、HOMA-IR、CT 値、AcCT 値を測定した。また、骨格筋細胞 (C2C12) において、AcCT 添加による糖 (2-デオキシグルコース: 2DG) 取り込み能と細胞内 AcCoA/遊離 CoA (AcCoA/CoA) 比に及ぼす影