

学生優秀発表賞受賞者：柏木悠里 演題番号 049

## 急性放射線症候群バイオマーカーとしての 血清中循環 microRNA

柏木 悠里\*1 山田 直\*1 千葉 満\*2§

### I. 研究の概要

#### 【背景】

核テロや原子力発電所事故などの際、多くの国民が高線量の電離放射線に被ばくする危険性が懸念されており、それに対応できる緊急被ばく医療体制の重要性が増している。高線量電離放射線被ばくは、生命を脅かす急性放射線症候群(ARS)を発症するため、その対応医療には迅速なトリアージ(識別救急)が必要となる。実際に日本では1999年に茨城県東海村の核燃料貯蔵施設JCOの原子力臨界事故によって作業員にARS患者が3人発生している。

現在、被ばくの生物学的線量評価は主に末梢リンパ球の染色体異常をもとに行われている。二動原体染色体を基にしたDIC assayは、正確な線量評価が可能であるため国際原子力機関(IAEA)によって標準化されているが、この方法にはいくつかの問題点があり、迅速に多くの被ばく者をスクリーニングする方法の確立が必要とされている。

近年、体液中に細胞由来のmicroRNAが存在することが明らかになった。体液中のmicroRNAは、細胞外小胞内やタンパク質と結合した状態で存在しており、多くの疾患の診断マーカーとなり得ることが報告されている。

#### 【目的】

血清中に検出されるmicroRNAに着目し、致死線量放射線を全身被ばくさせたマウスを用いて、迅速にARSの推定が可能な血清中microRNAの探索を目的とした。

#### 【方法・結果】

X線7.0Gy(1.0Gy/min)の致死線量を曝露したC57BL/6Njcl雄マウスから72時間後に血清を採取し、抽出したRNAを用いてマウスmicroRNAマイクロアレイ解析(Agilent Technologies社)を実施した。非照射群と7Gy照射群を比較したところ、7Gy照射群で増加しているmicroRNAは12個あり、特にmiR-375-3pが被ばく後72時間で2倍以上増加していた。この結果はリアルタイムPCRによって再現された。さらに、被ばくしたマウスの血清にExoQuick(System Biosciences社)を加えて細胞外小胞を回収して同様に調べたところ、miR-375-3pが有意に増加していた( $p < 0.05$ )。このことよりmiR-375-3pは細胞外小胞に内在した状態で存在することが推定された。またROC解析を行った結果、miR-375-3pは0.9以上の高いAUC値を示し、バイオマーカーとしての有用性が示唆された。血清中miR-375-3pの保存条件を検討したところ、室温では24時間、凍結融解では2回まで安定性が確認された。

miR-375-3pの由来臓器を特定するために、マウ

\*1 弘前大学医学部保健学科検査技術科学専攻

\*2 弘前大学大学院保健学研究科生体検査科学領域 § mchiba32@hirosaki-u.ac.jp

ス各臓器における miR-375-3p 発現をリアルタイム PCR によって調べた結果、miR-375-3p は膵臓に最も高発現であることが確認された。このことより膵臓が miR-375-3p の主要な由来臓器であることが推定された。膵臓におけるアポトーシスを含めた細胞死を確認するため TUNEL 染色を行った。その結果、X 線 7Gy 照射後の膵臓の様々な細胞で TUNEL 陽性が確認された。

#### 【考 察】

致死線量の X 線被ばくによって膵臓で細胞死が誘導され、miR-375-3p がアポトーシス小体内に含まれた状態で血中に放出されることが推定された。本研究によって血清中 miR-375-3p は ARS の早期診断マーカーとなり得ることが明らかになった。

#### II. 受賞の感想

この度は第 11 回日本臨床検査学教育学会学術大会において、このような賞を頂き、光栄に思います。今回が初めての発表であったため緊張しましたが、他の方々の発表を聞き、先生方からご意

見を頂くなど貴重な経験をすることができました。この経験を励みとして今後の研究に取り組んでいく所存です。

研究を進めていくにあたって失敗することや私の技術では困難なこともありましたが、先生のご指導により研究を続けていくことができました。この場を借りて感謝申し上げます。

#### III. 将来への抱負

急性放射線症候群のバイオマーカーとしての microRNA を探求するというのが研究テーマでしたが、まだ具体的な由来細胞や被ばく後の生理的変動の解明には至っていません。臨床での利用を可能にするために、今後は今回の発表以上に分析を進める必要があると考えています。

本研究を通して、放射線に関する知識や様々な解析方法を学ぶことができました。来年度からは社会人となりますが、研究を通して培った技術や知識を糧にして努めてまいりたいと思っています。