

**【目的】** 凍死の診断は、寒冷暴露されたことで生じる左右心臓血の色調差や胃十二指腸粘膜下出血、紅色調死斑などの所見を組み合わせることで行われるが、他の死因においてもこれらの所見は認められることがあるため、凍死特異的な所見とはいえ、確定診断を行うことは難しい。ところで、法医学検査に用いられる検体は、死後経過時間を伴うため新鮮でないことが多く、そのような検体を用いた検査は、必ずしも死亡時の状態を反映しているとは限らない。従って、より死後変化に耐える分子診断マーカーの探索が必要となる。近年、死後変化に耐える分子として microRNA (miRNA) の存在が注目されてきた。そこで本研究は、寒冷環境下での恒常性維持に関与する褐色脂肪組織 (BAT) における網羅的 miRNA・mRNA 発現検討を行い、死因究明が困難な病態の一つである凍死の診断に有用な分子診断マーカーを同定することで、死後変化に耐える新しい凍死の分子病理学的診断法を確立する。

**【方法】** コントロール群 (Ctrl)、軽度低体温群 (Mild)、中等度低体温群 (Moderate)、重度低体温群 (Severe) の動物モデルを作製した。軽度・中等度・重度低体温群は、直腸温がそれぞれ 30°C・22°C・12°C になった時点で安楽死させ、直ちに BAT を摘出し、Total RNA を抽出した。コントロール群の直腸温は約 37°C であった。マイクロアレイ及び次世代シーケンス (NGS) を用いて、網羅的 miRNA 及び mRNA 発現解析を行った。詳細な発現検討は、quantitative real-time PCR (qRT-PCR) を用いて行った。

**【結果】** マイクロアレイ解析において 5 つの miRNA が、コントロール群と比較して重度低体温群で 1.5 倍以上の発現増加を示した。qRT-PCR において、*rno-let-7b-5p* の発現が体温低下とともに増加し、コントロール群と比較して中等度及び重度低体温群で有意な増加を示した。NGS 解析において、469 の mRNA がコントロール、軽度、中等度低体温群と比較して重度低体温群で 1.5 倍以上の発現増加を示した。さらに、qRT-PCR において、*Pmaip1* 及び *Pgc1 $\alpha$*  の発現が、重度低体温群のみで有意な増加を示した。本研究で同定された miRNA 及び mRNA は、凍死診断を補完する新規分子診断マーカーになりうる可能性が示唆された。

体温低下に伴い発現増加した 5 つの miRNA

