

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 舟橋 裕

論 文 名 統合失調症患者の血漿中エクソソームにおける、miR-675-3p 発現に対する
抗精神病薬クロザピンの効果

学位論文要旨

はじめに

統合失調症(SCZ)は社会的機能の障害を引き起こす重要な精神疾患であり、これまでドパミン仮説を含むいくつかの仮説が検討されているが、未だに病因および発症機序のすべては明らかになっていない。SCZ は、遺伝および環境要因の双方が病態に関与する多因子疾患と考えられ、申請者はこれまでヒト末梢血を対象に、遺伝子発現解析および DNA メチル化解析を行い、SCZ のバイオマーカーの探索を行ってきた。エクソソーム(EXO)は細胞から放出される直径約 40-100 nm 程度の細胞外小胞の一つであり、内部にマイクロ RNA(miRNA)などを含み、組織の細胞間コミュニケーションに関わっており、さらに、EXO は血液脳関門を通過することが可能である。miRNA は、短い一本鎖 RNA であり遺伝子発現調節に重要な内在性核酸と考えられている。今回、申請者は、血漿 EXO 中の miRNA が SCZ の病態において重要な役割を果たしていると考え、本研究を立案し遂行した。

方法

各群の血漿サンプルより超遠心法を用いて EXO を単離し、EXO miRNA を含む total RNA は Trizol Reagent を用いて抽出し保存した。SCZ 患者の約 30% は抗精神病薬に反応しない治療抵抗性統合失調症 (TRS) であり、抗精神病薬クロザピン(CLZ)は、TRS に対して最も効果的な薬剤である。まず、SCZ の中で TRS 患者に着目し、血漿中 EXO miRNA 発現に対する CLZ の効果を、TRS 患者群と健常対照群(各群 9 例)の miRNA を用いて microarray にて網羅的に比較した。

氏名 舟橋 裕

続いて、microarrayにて発現が変化していた miRNA を選択し、TRS 患者群、non-TRS 患者群と健常対照群に分け、qPCR 法を用いた検証実験を行った。最後に、miRNA 発現に対する CLZ の効果を培養細胞にて調べた。この研究は、愛媛大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会で承認されている。(2020年6月19日、承認番号 R2-6)

結果

Microarray の結果、TRS 患者群において健常対象群と比較して、13 個の miRNA 発現上昇、18 個の発現低下を確認した。有意に変化していた miRNA から予測される標的遺伝子群は、神経および脳の発達に関連していることが示唆された。次に、microarray の結果、有意に発現が変化していた miRNA から 5 個を選択(2 個の発現上昇、3 個の発現低下)し、qPCR 法を用いた検証実験を行った。両群で変動係数が低く発現量が多い miR-4507 を内部標準として選択した。TRS 群では、qPCR 法においても microarray の結果と同様に miR-675-3p の発現が有意に上昇していた。しかし一方で、CLZ を服用していない SCZ 群 (non-TRS 群) と健常対象群の比較(各群 50 例)では、non-TRS 群で miR-675-3p の発現が有意に低下していた。TRS 群でのみ使用されている CLZ 投与が qPCR 解析結果の一致しない要因であると考えられたため、ドパミン系の培養細胞 SH-SY5Y 細胞を用いて EXO miR-675-3p の発現に対する CLZ の効果を検討した。CLZ 投与群および非投与群を用意し、曝露後 48 時間後の EXO を単離し抽出した miRNA の発現量を調べたところ、CLZ 投与により EXO 中の miR-675-3p の発現が増加していた。

結論

TRS 患者のいくつかの血漿中 EXO miRNA の変化は、SCZ または CLZ 投与に関連していることが示唆され、その中でも、miR-675-3p は、CLZ 投与により変化し、SCZ の病態に関係することが本研究より明らかになった。本研究の課題として、サンプル数が少ないことや、血漿中 EXO には神経細胞由来のみの EXO だけではないことが挙げられた。今後は、神経細胞由来の EXO や死後脳を用いた検証実験が必要と思われた。

キーワード (3~5)	統合失調症 エクソソーム MiRNA クロザピン
-------------	--