

(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EX0 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EX0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EX0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EX0 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EX0には神経細胞由来のみのEX0だけではないことが挙げられた。今後は、神経細胞由来のEX0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
-------------	--