

毛根細胞を用いた統合失調症発症予測因子の探索

東北大学大学院医学系研究科

前川 素子

Biomarkers at the substance level are needed as objective evidence to elucidate the pathophysiology of schizophrenia. We have been focusing on “hair follicles,” which are derived from the same ectoderm as the brain, as a biological sample useful for stratifying psychiatric disorders. In this study, we compared gene expression patterns in follicle cells from schizophrenia and healthy controls and found that 241 genes were up-regulated, and 28 genes were down-regulated in the schizophrenia group (FDR < 0.1, |fold change| > 1.2). The Gene Ontology (GO) Biological Process pathway was found to be enriched in a pathway related to “prepulse inhibition”, a known intermediate phenotype of schizophrenia, a “microglial pathway”, and an “MHC class II pathway” involved in antigen presentation by immune system cells. In addition, the GO Cellular Component pathway was enriched in pathways related to “ribbon synapses” in the active zone of synapses and pathways related to “astrocyte projection”, which have attracted attention for their association with brain function. It is very significant that we found these results by conducting hypothesis-free gene expression analysis of hair follicles. Based on the results of this study, we intend to pursue the possibility that the expression of these biomarker genes may be useful in the early detection of schizophrenia patients, therapeutic evaluation, and drug discovery.

1. 緒言

統合失調症をはじめとする精神疾患の診断は、特徴的な精神症状や経過を組み合わせた「面接」で行われている。しかし、従来の「面接」による診断の結果は、客観的評価指標に基づいたものではないため、脳病態を十分には反映していないのが現状である。このような現状を改善するため、エビデンスに基づく客観的な指標を用いた診断法の開発が精神医学全体の緊急かつ最重要な解決すべき課題であると考えられている。特に、客観的根拠としての物質レベルでのバイオマーカーが求められており、このようなバイオマーカーを開発して疾患を層別化することで、精神疾患の病態理解や治療薬開発などへの応用が期待されている。

我々は、精神疾患の層別化に役立つ生体試料として、脳と同じ外胚葉由来組織である「毛根細胞」に注目してきた。我々は、ヒトの「毛根細胞」を用いて遺伝子発現解析を行い、主に脳に発現すると考えられてきた“オリゴデンドロサイト関連遺伝子”や“GABA 関連遺伝子”などが、実は「毛根細胞」にも発現することを発見した (Maekawa et al., *Biol Psychiatry*, 2015)。また、統合失調症患者群の毛根細胞では、脂肪細胞型脂肪酸結合タンパク質 FABP4 遺伝子 (Maekawa et al., *Biol Psychiatry*, 2015)、核内受容体 PPARA 遺伝子 (Maekawa et al., *Transl Psychiatry*,

2017)、*SFII* 遺伝子 (Matsuura et al., *Sci Rep*, 2018)、硫化水素産生酵素 *MPST* 遺伝子 (Ide et al., *EMBO Mol Med*, 2019)、などの発現が変動することを見出している。さらに、動物モデルを用いた解析でこれらの遺伝子が統合失調症の病態生理と関わる可能性があることも明らかにしている (Maekawa et al., 2015, Maekawa et al., 2017, Ide et al., 2019, Wada et al., 2020)。我々は、上記の他にも多くの未同定のバイオマーカー候補遺伝子があると考えている。そこで本研究では、統合失調症及び健常対照者から毛根細胞及びその他の生体試料や生体情報を収集し、バイオマーカー探索を行い、毛根細胞の遺伝子発現を指標とした統合失調症の病態理解を目指す。

2. 方法

本研究は、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会にプロトコルの承認を得て行った (2022-1-832)。

2.1. 研究対象者の募集

本研究では、健常対照者 (男性 9 名、女性 8 名、平均年齢 28.4 ± 5.6)、統合失調症 (男性 6 名、女性 16 名、平均年齢 38.0 ± 8.1) のリクルートに成功した。統合失調症患者は、アメリカ精神医学会の DSM-5 (精神障害の診断と統計マニュアル第 5 版) の診断基準で、統合失調症と診断された 20 歳以上、65 歳未満の者を対象とした。健常者は精神疾患簡易構造化面接法 (Mini-International Neuropsychiatric Interview : M. I. N. I) を用いて精神疾患の基準を満たし



Exploration of biomarkers of schizophrenia using hair follicles

Motoko Maekawa

Department of Organ Anatomy, Graduate School of Medicine, Tohoku University

	健常対照	統合失調症
年齢	28.4±5.6	38.0±8.1
性別 (男性 / 女性)	6/16	9/8

ていない者を対象とした。

2.2. 精神症状の評価

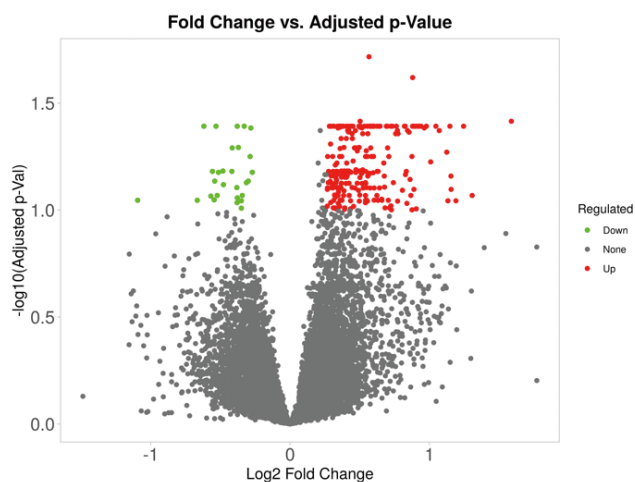
統合失調症の精神症状と抗精神病薬の治療反応性は陽性陰性症状評価尺度 (Positive and Negative Syndrome Scale : PANSS)、Clinical global impression - severity (CGI-S) を用いて評価した。また認知機能に関しては、統合失調症認知機能簡易評価尺度 (Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, Japanese version : BACS-J) を用いて評価する。副作用やアドヒアランスに関しては、薬原性錐体外路症状評価尺度 (Drug Induced Extrapyramidal Symptoms Scale : DIEPSS) や薬に対する構えの調査票 (Drug Attitude Inventory-10 : DAI-10) を使用した。

2.3. 毛根細胞の収集

各被験者から、頭髮 (毛根細胞) を 10 本採取した。毛根細胞を含む領域を切り取り、NucleoSpin RNA XS (MACHEREY-NAGEL 社) を使用して total RNA の抽出を実施した。TapeStation または BioAnalyzer (Agilent Technologies) を用いた電気泳動による核酸定量を実施し、RNA の品質検定を行った。SMART (Switching Mechanism At 5' End of RNA Template) 法を用いてライブラリ作製を実施した。その後、NovaSeq システム (NovaSeq X Plus / NovaSeq 6000) を用いて 150 base 長ペアエンドシーケンス解析を実施した。得られたデータは FASTQ ファイル形式に変換した。

3. 結果

まず、健常対照群の男性、女性の毛根細胞を用いて遺伝子発現パターンを比較し、毛根細胞の遺伝子発現について男女差の有無を調べた。その結果、54 遺伝子が発現上昇、72 遺伝子が発現低下を示した (FDR < 0.1, |fold change| > 1.2)。Gene Ontology (GO) 解析を行った結果、生殖に



関わる遺伝子などが発現変動していた。

次に、統合失調症群及び健常対照群の毛根細胞を用いて遺伝子発現パターンを比較した結果、健常対照群と比較して統合失調症群で 241 遺伝子が発現上昇、28 遺伝子が発現低下を示した (FDR < 0.1, |fold change| > 1.2)。Pathway 解析を行った結果、Gene Ontology (GO) Biological Process の経路では、統合失調症の中間表現型の一つとして知られるプレパルス抑制に関連する経路、ミクログリアの経路、免疫系細胞の抗原提示に関わる MHC クラス II の経路がエンリッチされていることが明らかになった。また、GO Cellular Component の経路では、シナプスのアクティブゾーンに存在するリボンシナプスに関わる経路、脳機能との関連が注目されているアストロサイトに関連する経路などがエンリッチされていた。

4. 考察

本研究では、統合失調症患者の毛根細胞において、脳のシナプス機能やシナプス形成に関わる経路や、統合失調症の行動表現型と関連が深いプレパルス抑制に関わる経路がエンリッチされていることが判明した。仮説フリーで毛根細胞の遺伝子発現解析を実施し、このような結果に辿り着いたことは、大変意義深い結果であると言える。今回の結果を踏まえ、今後、これらのバイオマーカー遺伝子の発現が、統合失調症患者の早期発見、治療評価、創薬などに役立つ可能性についても追求していきたいと考えている。

一方で課題も見つかった。健常対照者の毛根細胞の遺伝子発現パターンを男性と女性の間で比較すると、複数の遺伝子の発現変化が認められた。その多くが、生殖に関わる遺伝子であり、統合失調症で変化している遺伝子との重複はなかったが、男女の差を踏まえて結果を慎重に解釈する必要があると言える。

5. 総括

本研究は、健常対照者、統合失調症患者、合計 39 名の検体を使って実施した。検体を集めることから研究を開始し、2 年間でこのような成果を得られたことは大変意義深かったと言える。ただし、現時点でサンプルサイズとしてはまだ十分ではないため、今後もサンプル収集を続け、より大きな集団で研究を実施したいと考えている。また、本研究では、毛根細胞の遺伝子発現解析を行うとともに、被験者に対して詳しい精神症状の調査、脳の画像解析、網膜の断層画像撮影、血液検体収集なども同時に行った。今後、バイオマーカー遺伝子の発現量とこれらの指標との関連を調べ、毛根細胞の遺伝子発現と統合失調症の特性や生理学的特性との関連について調べたいと考えている。これらの研究を実施することで、実際に社会に役立つバイオマーカー開発に取り組んでいきたいと考えている。

(引用文献)

- 1) Maekawa M, et al., Utility of scalp hair follicles as a novel source of biomarker genes for psychiatric illnesses. *Biol Psychiatry*. 78 (2): 116-25, 2015.
- 2) Maekawa M et al., Polyunsaturated fatty acid deficiency during neurodevelopment in mice models the prodromal state of schizophrenia through epigenetic changes in nuclear receptor genes. *Transl Psychiatry*. 7, e1229, 2017.
- 3) Matsuura A et al., Dietary glucoraphanin prevents the onset of psychosis in the adult offspring after maternal immune activation. *Sci Rep*. 8 (1): 2158.
- 4) Ide M, et al., Excess hydrogen sulfide and polysulfides production underlies a schizophrenia pathophysiology. *EMBO Mol. Med*. e10695, 2019.
- 5) Wada Y, et al., Peroxisome proliferator-activated receptor α as a novel therapeutic target for schizophrenia. *EBioMedicine*. 62: 103130, 2020.