

次世代シーケンサーを用いたうつ病の末梢白血球の遺伝子発現解析

沼田周助¹⁾, 石井一夫²⁾, 大森哲郎¹⁾

1) 徳島大学大学院医歯薬学研究部 精神医学分野

2) 東京農工大学農学府 農学部

【目 的】

我々はこれまでに特定のうつ病感受性候補遺伝子の末梢白血球の遺伝子発現を測定し、うつ病の病態解明ならびに診断マーカーの開発を行ってきた(Iga et al. 2016, Watanabe et al. 2015)。近年、次世代シーケンサーを用いた技術の発達により広範囲な遺伝子発現の定量が可能となった。本研究では、うつ病患者と健常者の血液を用いて次世代シーケンサーによる遺伝子発現解析を行ったため報告する。

【方 法】

薬を内服していないうつ病の患者 16 名と性年齢の一致した健常者 17 名から、徳島大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会です承されたプロトコールに基づき文書によるインフォームドコンセントを得て静脈血採血を行い、Qiagen PAXgene Blood RNA キットを用いて白血球 mRNA を採取した。Coding RNA library は TruSeq Stranded Total RNA Sample Prep kit (Illumina) を使用し、Illumina HiSeq2000 で配列を解読した。データ解析は GRCh38.p7 のゲノム配列に対して、Tophat でマッピングし(Trapnell et al. 2009)、遺伝子発現の定量は Cufflinks を用いて fragments per kilobase of exon per million fragments mapped (FPKM)で行った(Trapnell et al. 2010)。

まず、診断間の遺伝子発現の差異を EdgeR を用いて調べた。次に、診断間で遺伝子発現の違いを認めた遺伝子を用いて($p < 0.05$)、Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID)による Gene-ontology 解析を行った。

【結 果】

うつ病群と健常者群で遺伝子発現の違いを 289 遺伝子で認めた($p < 0.05$)。Gene-ontology 解析では、免疫反応や ATP 合成関連を含む 23 の pathway がうつ病との関連を認めた($p < 0.05$)。

【考 察】

本研究で同定されたうつ病関連遺伝子と大規模なサンプル(MDD463 名と CTRL459 名)で RNA-sequencing 解析を行った既報論文の結果を比較したが(FDR $q < 0.25$) (Mostafavi et al. 2014)、共通する遺伝子は認めなかった。これには、抗うつ薬服薬の有無、サンプル数の違い、うつ病の異種性が関与しているのかもしれない。しかしながら、うつ病において免疫反応遺伝子群が関わるという結果は、既報の脳や末梢白血球を用いたうつ病の RNA-sequencing 論文の結果と一致していた(Mostafavi et al. 2014, Pantazatos et al. 2016)。今後、別方法で本研究結果の確認を行うとともに、同サンプルを用いた解析した DNA メチル化データとの関連を調べる予定である(Numata et al. 2016)。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

限られたサンプル数ではあるが、RNA-sequencing を行い、抗うつ薬を内服していないうつ病患者の遺伝子発現の特徴を明らかにした。本研究成果は、新規のうつ病の診断マーカーの開発や、DNA メチル化データと組み合わせることによりうつ病の病態解明に寄与できると思われる。