

気分障害の病態生理の解明につながるエクソソームの機能解析

富永香菜

山口大学大学院医学系研究科 高次脳機能病態学講座

【研究の背景】

気分障害は精神的、身体的ストレスなどを背景に、ストレス関連症状や不眠、自殺企図等が発生するリスクが高まる重篤な疾患である。症状は抗うつ薬などの薬物治療法や精神療法等で改善されるが、治療が長期化する難治性のももあり病態は複雑である。したがって、気分障害の病態生理を反映した診断法や治療法の開発が喫緊の課題である。

ニューロンやグリア細胞などの脳内に存在する細胞から放出される細胞外小胞(エクソソーム, 以下、EV)は、精神神経系疾患の病態を反映している可能性が示唆されている¹⁾。EV は、DNA、マイクロ RNA(miRNA)、タンパク質などのさまざまな分子が含まれており、血中を循環し、分泌元の細胞の特徴を反映していることから様々なバイオマーカーとして応用が期待されている²⁾。EV は脳組織と血液の間も循環している可能性が高く、例えば、統合失調症患者の末梢血に含まれる EV では、脳由来神経栄養因子(BDNF)の発現を制御する miRNA である hsa-miR-206 が減少していることが報告されており、EV が統合失調症の病態へ関与していることが示唆されている³⁾。このように末梢血中の EV が精神疾患の病態を反映している可能性があるが、うつ病等気分障害の病態における EV の役割は十分に解明されていない。また、気分障害の病態生理の理解や診断、治療のために、患者体内の変化を反映したバイオマーカーは有力なツールとなり得るが現在有用なものは見つかっていない。

【目 的】

本研究では、気分障害のひとつであるうつ病について、健常者とうつ病患者の末梢血 EV の表面に存在する糖鎖やタンパク質の種類を比較し、うつ病診断を補助するバイオマーカーを見つけることを目的とする。

【方 法】

本研究では山口大学臨床研究センターで承認を得て集められたうつ病患者(11人、平均年齢 56.5 ± 5.5 歳)と健常者(10人、平均年齢 54.5 ± 7.3 歳)の血漿を使用した。(1)ヒト末梢血 0.5mL からクロマトグラフィー法にて EV を高純度で濃縮した。ウエスタンブロッティングにて EV マーカー(CD63,CD9)を確認し、ナノ粒子トラッキング解析により粒子径と粒子数を、電子顕微鏡にて粒子の形状を観察した。(2)うつ病患者と健常対照者の血漿 EV の糖鎖構造を比較するためにレクチンブロットを行った。本研究では N 型と O 型糖鎖を認識するものを計 9 種類使用した。(3)うつ病患者に特有の糖鎖をもつタンパク質を同定するために質量分析を行った。血漿 EV を電気泳動し銀染色を行った。レクチンブロットにおいて変化したスポットを取り出しトリプシン消化後、質量分析によりタンパク質の同定を行った。複数の種類のタンパク質が得られる可能性があるため、その中から脳組織や疾患との関連が深いと考えられるものを選出した。

【結 果】

(1)クロマトグラフィー法で抽出した末梢血 EV にて EV マーカーの発現を確認できた。健常者とうつ病患者(同一患者の急性期および寛解期)の末梢血 EV の粒子径、粒子数、粒子の形状に有意な差はなかった。(2)健常者とうつ病患者の末梢

血 EV をレクチンブロットにより比較した結果、N-acetyl glucosamine (GlcNAc)とシアル酸を認識するレクチン WGA がうつ病患者の急性期で約 20%に減少し、寛解期で約 70%に回復することがわかった。(3)WGA が結合する糖タンパク質を質量分析にて探索した結果、von Willebrand factor (vWF)を同定した。vWF と WGA の両方を検出するサンドイッチ ELISA を構築し健常者とうつ病患者の末梢血 EV の WGA が結合する vWF を測定したところ、うつ病急性期に対して高い診断能を有した(うつ病急性期vs健常者(AUC0.99 (95%CI 0.96 - 1.00)、うつ病急性期vs寛解期 (AUC0.98 (95% CI 0.93 - 1.00))。

【考 察】

シアル酸が修飾された vWF は主に血管内皮細胞が生合成し、創傷部位に集積する血小板とともに止血に関与している。EV は分泌元の細胞の特徴を反映していることから、本研究結果であるうつ病急性期患者の末梢血由来 EV の vWF 低下により、うつ病急性期患者の血管内皮細胞の vWF が減少していることが予測される。加えて、血管内皮細胞は、脳内に血液中の有害な物質を通過させない働きをもつ血液脳関門(BBB)を構成する細胞のひとつであることから、血管内皮細胞の vWF の減少が BBB の維持と関連している可能性もある。今後、うつ病急性期患者の末梢血 EV の糖タンパク質や糖鎖構造の生物学的意義を明らかにし、気分障害の発症メカニズムを解明する。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

気分障害患者の内約 90%は初診で内科など非精神科を受診していたとの報告があり、潜在的な患者ははるかに多いとも推定されている。うつ病等精神疾患やメンタルヘルスの不調を抱える患者の多くがかかりつけ医等の非精神科医を初診時に訪れるにも関わらず、非精神科医では診断が難しくそれが見逃されている可能性がある。精神疾患やメンタルヘルスは早期発見・早期介入を行うことで治療の長期化や悪化を防ぐことができるため、初診時の非精神科医による精度の高い診察が重要となる。このような背景から、気分障害を簡易に診断できる客観性、定量性のあるバイオマーカーの開発は社会的にみても重要な課題であり、本研究課題の遂行によって解決できると考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Tavakolizadeh J., Roshanaei K., Salmaninejad A., Yari R., Nahand JS., Sarkarizi KH., Mousavi SM., Salarinia R., Rahmati M., Mousavi SF., Mokhtari R., Mirzaei H.: MicroRNAs and exosomes in depression: Potential diagnostic biomarkers. *J Cell Biochem.*, 119(5):3783-3797. 2018
- 2) Tominaga N., Yoshioka Y., Ochiya T.: A novel platform for cancer therapy using extracellular vesicles. *Adv Drug Deliv Rev.* 95:50-5. 2015
- 3) Du Y., Yu Y., Hu Y., Li X., Wei Z., Pan P., Li X., Zheng G., Qin X., Liu Q., Cheng Y.: Genome-Wide, Integrative Analysis Implicates Exosome-Derived MicroRNA Dysregulation in Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 45(6):1257-1266. 2019