

## わたしの研究

### 臨床医の視点から行う基礎研究～米国留学経験を踏まえて～

吉野 祐太

愛媛大学医学部附属病院

私は2018年6月から2020年3月まで University of Alabama at Birmingham, Department of Psychiatry and Behavioral Neurobiology, Yogesh Dwivedi lab で研究留学をしました。

私は愛媛大学大学院医学系研究科・精神神経科学にて大学院生として2012年から分子生物学的な研究を始め、2016年に博士号を取得しました。大学院時代のテーマとして愛媛大学精神科教室初代教授・柿本泰男先生が注目されていた AGXT2 遺伝子に注目し、4つの機能性多型、またそれらで構成される特定のハプロタイプが AGXT2 の機能を制御していることを見いだしました。AGXT2 遺伝子と精神疾患との関連は見いだせなかったものの、頸動脈肥厚と関連することを発表し学位を取得しました<sup>2)</sup>。その後、統合失調症、アルツハイマー型認知症といった精神神経疾患に罹患している患者さんの血液を用いて診断学的、病態を反映するマーカーを探索する研究をしました。具体的には末梢血から DNA, RNA を抽出しパイロマーク法にて DNA メチル化率、qPCR にて遺伝子発現を測定しました。その結果、各種疾患の病態にかかわる遺伝子の DNA メチル化率、遺伝子発現が健常対象者と比較して変化していることを報告し末梢血のバイオマーカーとなり得ることを報告しました。

しかし、これら末梢試料での変化は、中枢神経の病態を反映している二次的な変化である可能性はあるものの、中枢神経系とは独立している可能性もあると考え、精神神経疾患をもつヒト死後脳を用い解析し、病態に接近する目的で2018年6月から2020年3月まで客員研究員として米国アラバマ大学、Dwivedi 教授の主催する Dept of Psychiatry and Behavioral Neurobiology に留学し、主にうつ病患者のヒト死後脳を用いて microRNA (miRNA) をはじめとしたエピジェネティックな解析を行いました。

上野教授の助言もあり、日本人 PI ではない lab を探しアメリカの中でも治安が悪いとされるアラバ

マ州に単身で行ったため、今まで経験したことのない孤独や言語の壁を感じてははじめは帰りたくなることも多々ありました。幸いにも友人がすぐにでき、また研究を共に楽しむラボメンバーにも恵まれ問題なく生活を送れるようになりました。私はゲームをプレイすることが趣味なのですが、eSPORTS 鑑賞によくラスベガスに行ったりしました。研究に没頭できることと同じくらい、異文化での生活は学ぶことが多く現在の精神科臨床にも生かされているのではないかと思います。

1つのプロジェクトを紹介すると、うつ病患者の背外側前頭前野 (DLPFC) からシナプトソーム RNA を抽出し、シナプスに部位特異的な分子生物学的な変化を調べるために、miRNA-seq, RNA-seq に提出しました。in silico 解析の結果、うつ病患者で変化している miRNA が神経発生、分化に関連することを見だし、さらに miR-483-5p, miR-511-5p が ELK1 遺伝子を調節していることを細胞培養実験で証明しました。過去のマウスを用いた報告にて、ELK1 の過剰発現がうつ病様行動を示し、選択的に ELK1 の働きを抑制することでうつ病様行動が消失することが確認されており、RNA-seq の結果から ELK1 遺伝子はうつ病患者において上昇していたことより、うつ病患者のシナプスにおいて miRNA の発現変化が起き、それらが mRNA 発現の調節を介して病態に影響を与えていると仮説を立てました。以上より、うつ病患者死後脳 (DLPFC) のシナプスにおいて限局的に miRNA の発現が変化しており、遺伝子発現を制御することでうつ病の病態に影響を与えている可能性を報告しました<sup>3)</sup>。

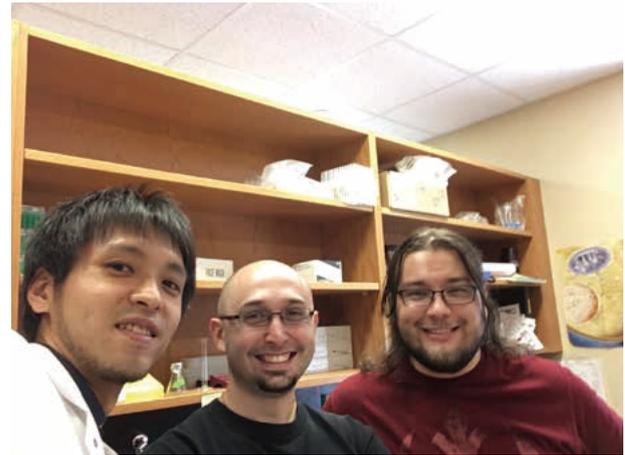
現在、筆者らの教室には分子生物学グループ、児童思春期グループ、神経心理 (認知症) グループがあり、お互いに協力し研究をしています。自閉症スペクトラム障害 (ASD) を対象とした研究として、血液と比較して小児でも容易に取得できる口腔粘膜を用いて ASD のより早期の診断バイオマーカーを探索する研究を進めています。また、ASD 患者に



左が Dwivedi 教授, 右が筆者

において免疫学的な異常が出生時より認められること、末梢血の炎症サイトカインが上昇していることより、ASD 患者の末梢血 RNA を RNA-seq に提出し、どのような機序で末梢血のサイトカインが変化しているかを調べた結果、自然免疫、獲得免疫双方の機序から炎症性サイトカインが変化している可能性を示し論文発表しました<sup>1)</sup>。神経心理グループとの研究として、愛媛県伊予市中山町の高齢者を対象とした悉皆調査を定期的に行っており、現在行っている第 5 回調査は「健康長寿社会の実現を目指した大規模認知症コホート研究」の一施設として組み込まれています。この研究では血漿中の神経由来エクソソームを健常対照者、軽度認知障害、アルツハイマー型認知症 (AD) 群それぞれ抽出し、脳の病態を把握するためにタンパク質および核酸の測定を進めています。

我々は、臨床医学に所属する教室として、臨床で得られた疑問を基礎研究に、そして基礎研究で得られた成果を臨床に生かすトランスレーショナルな研究をめざしています。今、我々の教室ではヒト血液、尿、口腔粘膜、動物モデル、細胞培養を用いた研究ができるようになり、私が大学院在籍時と比べると、多方面からのアプローチで研究を進めることが可能となりました。しかし、我々のサンプルだけでは不可能なこともあり、試料の数、種類ともに増やす必要があります。近年遺伝子を対象とした研究において、次世代シーケンサーなど遺伝子を網羅的に調べることができるようになっており、我々も積極的

ラボメンバーと筆者  
左から筆者, Kevin, Matthew

にこの技術を取り入れて研究を行っていますが、今ある技術に固縮することなく、研究目的を達成するために新たな技術を積極的に取り入れたいと考えています。そして、常に研究の原点に戻り、さまざまな手法を用いたうえでも自分の研究仮説 (ストーリー) をもって研究に挑み、我々の研究がどのように臨床へとつながるか、また世界的にどのような意義のある研究かを常に問いながら研究を続けていきたいと考えています。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。本研究の一部は JSPS 研究費 JP20K16628 の助成を受けたものです。

## 文 献

- 1) Horiuchi F, Yoshino Y, Kumon H, et al (2021) Identification of aberrant innate and adaptive immunity based on changes in global gene expression in the blood of adults with autism spectrum disorder. *J Neuroinflammation*, 18 (1) : 102.
- 2) Yoshino Y, Kohara K, Abe M, et al (2014) Missense variants of the alanine : glyoxylate aminotransferase 2 gene correlated with carotid atherosclerosis in the Japanese population. *J Biol Regul Homeost Agents*, 28 (4) : 605-614.
- 3) Yoshino Y, Roy B and Dwivedi Y (2021) Differential and unique patterns of synaptic miRNA expression in dorsolateral prefrontal cortex of depressed subjects. *Neuropsychopharmacology*, 46 (5) : 900-910.