

主論文の要旨

**Altered proteomic profile in umbilical arterial serum
from mothers with schizophrenia**

〔統合失調症をもつ妊婦における臍帯動脈血の血清プロテオーム変化〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
発育・加齢医学講座 産婦人科学分野

(指導：吉川 史隆 教授)

森山 佳則

【緒言】

統合失調症は遺伝因子と環境因子の両方が関与する多因子疾患とされているが、胎児期の炎症暴露がその発症に影響している可能性が指摘されている（胎児プログラミング仮説）。統合失調症患者では唾液中の免疫関連蛋白が活性化していると報告されている。そこで我々は、これらの知見に基づいて、母体の統合失調症は免疫活性化を介して児に影響を与える、という仮説を立てた。本研究では、統合失調症をもつ妊婦の臍帯動脈血及び母体末梢血の血清プロテオーム解析を行い、その仮説を立証することを目的とした。

【対象及び方法】

2013年4月から2016年4月の間に名古屋大学医学部附属病院で分娩管理を実施した妊産婦のうち、症例群として統合失調症をもつ妊婦6名、対照群として年齢・分娩時妊娠週数・分娩様式及び児の性別でマッチさせた正常妊婦6名を対象とした。症例群には妊娠中に統合失調症の悪化を認めた症例は含んでいない。対象の背景をスクエーデントのt検定およびカイ二乗検定で比較した。統計解析にはIBM SPSS Statistics for Windows, version 24.0 (IBM Corporation, Armonk, NY) を用いた。

妊娠後期に母体末梢血 (MS) を、分娩時に臍帯動脈血 (UA) をそれぞれ採取し、血清を遠心分離した。BCA Assay により標本間の蛋白濃度を一致させ、電気泳動—CBB染色で確認した。前処理の後、液体クロマトグラフ質量分析計 (Advance LC System, GL Sciences Inc., Tokyo, Japan; Q Exactive, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA) によりプロテオーム解析を行った。蛋白同定には Mascot program を用いた。症例—対照の少なくとも1組で2倍以上の発現強度差を認めるものを差次的発現蛋白 (DEPs) として同定し、遺伝子オントロジー (GO) 解析及びパスウェイ解析を行った。両解析には DAVID, version 6.8 (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery, <http://david.abcc.ncifcrf.gov>) を用いた。さらに、STRING, version 10 (<http://www.string-db.org/>) で蛋白間相互作用解析を、Reactome, version 59 (<http://www.reactome.org/>) でパスウェイデータベース解析を行った。

なお、本研究は本学の倫理委員会の承認を得ている（承認番号 2015-0471）。

【結果】

症例群及び対照群の背景を比較した結果は Table 1 の通りであった。

UA では分析の結果 348 種の蛋白が同定され、DEPs は 81 種であった (Figure 1; Table 2)。GO 解析では”complement activation, classical pathway”が最も有意な集積を認めた ($P = 1.1 \times 10^{-41}$; Figure 2A)。パスウェイ解析では”complement and coagulation cascades”が最も有意であった ($P = 5.9 \times 10^{-27}$; Figure 2B)。これを Proteomap に図示すると、免疫系・補体系への関与が視覚的に理解された (Figure 2C-E)。GO 解析では十分な coverage が得られていた (Figure 3)。蛋白間相互作用解析の結果、補体系を中心に免疫系に属する DEPs で強い相互作用が同定され、GO 解析の結果に矛盾しなかった

(Figure 4A)。Reactome map でも免疫系パスウェイへの集積が示された (Figure 4B)。両群間で統計的に有意な発現変化を認める蛋白として transthyretin が同定された ($P = 0.040$; Figure 5)。

MS では分析の結果 341 種の蛋白が同定され、DEPs は 83 種であった。GO 解析及びパスウェイ解析では臍帯血と同様に、それぞれ”complement activation, classical pathway” ($P = 1.5 \times 10^{-32}$; Figure 6A) 及び”complement and coagulation cascades” ($P = 5.1 \times 10^{-15}$; Figure 6B) が最も有意な集積を示した。UA と MS の DEPs は同一ではないものの (Table 3)、発現変化パターンは類似していた。UA と MS の測定結果は、R-I プロットによりその妥当性が評価された (Figure 7)。

【考察】

本研究は、統合失調症をもつ妊婦と正常妊婦とで UA と MS のプロテオームが異なることを示した最初の研究である。UA では古典的補体経路の活性化を認め、MS でも同様であった。このことは、統合失調症をもつ母に生まれた児が子宮内で補体経路の活性化を来していることを示し、動物モデルを用いた既報と一致する結果である。これまでの研究で、補体経路がシナプス形成・除去に関連し、また補体系の異常が統合失調症の病理に関連していることが示されている。ただし、このことは母体が統合失調症であることからくる遺伝因子である可能性はある。また、C4A のコピー数増加や血中濃度上昇が統合失調症の発症に関与していることが既報で示されており、今回の結果はこれに一致する。加えて、母体血清及び児の脳における C1q 濃度が児の統合失調症発症リスクに関連するという報告もあり、今回の我々の結果は、C1q が古典的補体経路の開始蛋白であることを鑑みるとこれに矛盾しない。ただし、UA における補体経路活性化は神経発達のみならず全身の発達に影響を及ぼす可能性があり、長期的な影響を確認する必要がある。

本研究の限界として、まず標本サイズが小さく、交絡因子の十分な評価ができていないことが挙げられる。また、プロテオームに影響を及ぼしうる交絡因子としての産科合併症や免疫疾患、母児間の血液型不適合等は除外したが、症例群では内服中の薬剤が症例間で異なっていた (Table 4)。薬剤が炎症に及ぼしうる影響については確立されていないが、プロテオームに影響する可能性はあるため、追加で検討する必要がある。

【結語】

統合失調症をもつ妊婦の UA を正常妊婦と比較すると、その DEPs は補体活性化への集積を認めた。この変化が統合失調症の発症に寄与しているかどうかについて、今後検討していく必要がある。