



Ribosomal DNA gene copies are increased in blood and brain of Japanese schizophrenia patients

李, 森

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2023-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8729号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100485913>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



Ribosomal DNA gene copies are increased in blood and brain of Japanese schizophrenia patients

日本人統合失調症患者の血液・脳試料におけるリボソーマル DNA 遺伝子コピー数の増加

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

精神医学

(指導教員：菱本 明豊教授)

李 森

< Abstract >

Background

Ribosomes are essential structures in all living organisms that synthesize proteins, composed of RNA and proteins encoded by multi-copy genes in humans. Several lines of evidence have indicated that ribosomal DNA transcriptional activity may play a key role in neuronal plasticity. Dysfunctional neural plasticity has been proposed as a key pathophysiological mechanism in schizophrenia (SCZ), which is associated with genetic factors. Past evidence has indicated increased ribosomal DNA copy number (rDNAcn) in the blood of patients with SCZ among European populations. Here, for the first time, we investigated rDNAcn of SCZ in East Asian populations as well as in blood and brain tissues.

Materials and methods

The study design and related procedures were performed in accordance with the Declaration of Helsinki. This study was approved by the Ethical Committee for Genetic Studies of Kobe University Graduate School of Medicine. Written informed consent was obtained from all living participants and the families of deceased individuals.

Blood samples were taken from 81 living patients with SCZ and 98 healthy controls, while brain tissue samples were obtained from autopsies conducted on 10 SCZ patients and 23 non-psychiatric control individuals. All participants were of Japanese descent, and patients with SCZ were diagnosed based on the DSM-IV criteria by a psychiatrist. Autopsies were conducted at Kobe University Graduate School of Medicine, and DNA was extracted from the dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC).

Measurement of rDNAcn was done by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using standard curve base analysis. To estimate rDNAcn, amplicons targeting 18S and 28S coding regions of rDNA were used, with amplicons corresponding to the coding regions of the albumin gene (ALB) as an endogenous control. The ratio of ribosomal DNA to that of the reference endogenous control gene in each sample was determined as the 18S or 28S / ALB ratio.

The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess the normality of the data. Regression analyses using generalized linear models or multiple linear regression were applied to analyze between-group comparisons of rDNAcn, with covariates (age and sex), as needed. Spearman's rho tests were performed to assess the relationship between 18S rDNAcn and 28S rDNAcn. Statistical significance was defined as a two-tailed $p < 0.05$.

Results

The correlation between the individual values of 18S and 28S rDNAcn was strong in healthy controls (Spearman's rho = 0.76, $p < 0.001$) and moderate in patients with SCZ (Spearman's rho = 0.57, $p < 0.001$). The correlation between the individual values of 18S and 28S rDNAcn was strong in both non-psychiatric controls ($p < 0.001$) and patients with SCZ ($p = 0.002$) for DLPFCs. The distribution of

18S/28S rDNAcn in blood samples was skewed ($p < 0.05$), patients with SCZ had significantly increased rDNAcn compared to controls for both 18S ($p = 0.034$) and 28S rDNAcn ($p = 0.004$). The distribution of 18S/28S rDNAcn in DLPFC samples was normalized ($p = 0.43$), patients with SCZ had a significant increase in 18S rDNAcn ($p = 0.047$) compared to controls, but not in 28S rDNAcn ($p = 0.203$).

Discussion

This study successfully replicated previous findings of increased rDNAcn in the blood of European patients with SCZ using an East Asian cohort, suggesting a potential link between increased rDNA content and the global and basic pathophysiology of SCZ. We also provided the first evidence of increased rDNAcn in the DLPFC of SCZ patients, a region associated with SCZ vulnerability. Meanwhile, the study acknowledged several limitations, including the use of post-mortem brain samples, technical limitations of the qPCR method, small sample sizes, and the need for further research on other brain regions and rRNA synthesis in SCZ. In conclusion, our findings shed light on further research into rDNA towards an improved understanding of SCZ-related pathophysiology.

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲 第 3318 号	氏 名	李 森
論 文 題 目 Title of Dissertation	<p>日本人統合失調症患者の血液・脳試料におけるリボソーマル DNA 遺伝子コピー数の増加</p> <p>Ribosomal DNA gene copies are increased in blood and brain of Japanese schizophrenia patients</p>		
審 査 委 員 Examiner	<p>主 査 古屋敷 智之 Chief Examiner</p> <p>副 査 野津 寛之 Vice-examiner</p> <p>副 査 矢野 育子 Vice-examiner</p>		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

【目的】

リボソームは細胞内でのタンパク質やペプチド鎖の合成において必須の器官である。真核生物のリボソームは 28S、18S、5.8S、5S という 4 つのリボソーム RNA と 82 種のタンパク質で構成され、このうちリボソーム RNA をコードするマルチコピー遺伝子がリボソーマル DNA である。先行研究より、リボソーマル DNA 転写活性がニューロンの可塑性に重要な役割を担う可能性が示唆されている。神経可塑性異常は、統合失調症における重要な病態メカニズムとしても提唱されている。一方で、リボソーマル DNA コピー数 (ribosomal DNA copy number; rDNAcn) と統合失調症との遺伝的関連を探索した論文は、白人集団において統合失調症患者血液中の rDNAcn の増加を示した 1 グループの研究報告のみである (Chestkov et al., 2018; Ershova et al., 2020)。本研究は初めて、東アジア人集団の統合失調症患者における血液及び死後脳組織の rDNAcn を測定し、異なる人種でも統合失調症における血液 rDNAcn 増加の異常が確認できるか、さらには血液だけでなく死後脳組織 rDNAcn の異常も同定できるか、を世界に先駆けて検討した。

【方法・結果】

方法

本研究は、神戸大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を受け実施された。すべての対象者（故人の場合は遺族より）、書面によるインフォームドコンセントを得た。

統合失調症患者 81 名と健常対照者 98 名から血液試料が、統合失調症患者 10 名と精神疾患に罹患していない対照者 23 名から死後脳組織試料が、それぞれ採取された。対象者は全員日本人で、統合失調症の診断は DSM-IV 基準に基づいて精神科医によって行われた。死後脳組織については、背外側前頭前野 (dorsolateral prefrontal cortex; DLPFC) から DNA を抽出された。

先行研究に倣って、定量的 PCR を用いた rDNAcn の測定が行われた。rDNAcn を推定するために、rDNA の 18S および 28S コード領域をターゲットとするプライマー及び、内在性コントロールとしてアルブミン遺伝子 (Albumin; ALB) のプライマーを用いて定量的 PCR が行われ、各サンプル中の 18S または 28S / ALB 比を元に、18S rDNAcn または 28S rDNAcn として算出された。

データの正規性は Kolmogorov-Smirnov test にて評価された。rDNAcn の群間比較について、一般化線形モデルまたは多重線形回帰を使用した回帰分析が、必要に応じて共変量（年齢および性別）とともに適用された。

結果

血液の 18S rDNAcn、28S rDNAcn はともに非正規分布であった。健常対照群と比較して統合失調症患者群の血液では、18S と 28S rDNAcn がともに有意に増加していた ($p < 0.05$)。DLPFC の 18S rDNAcn、28S rDNAcn はともに非正規分布であった。対照群と比較して統合失調症患者 DLPFC では、18S rDNAcn が有意に増加していた ($p < 0.05$) 一方、28S rDNAcn の増加は有意ではなかった ($p = 0.203$)。

【結論】

本研究は、これまで白人集団の研究においてのみ見出されていた統合失調症患者の血

液 rDNAcn の増加という知見を、初めて東アジア人集団のコホートで再現したものである。これは、rDNA コピー数の増加と統合失調症の関連が、人種を越えた普遍的で基礎的なものである可能性を示唆している。本研究ではまた、かねてより統合失調症との関連が深いとされている DLPFC 領域の試料を用いて、初めて統合失調症患者死後脳組織における rDNAcn の増加の知見が見出された。

以上、本研究は、東アジア人集団における統合失調症とリボソーマル DNA の関連を、末梢血のみならず死後脳組織を含めて明らかにしたものであり、統合失調症の生物学的機序を理解する上で重要な貢献をしたものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。