



Serum microRNA profiles in children with autism

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2015-05-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Mundalil, Vasu Mahesh メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2815

博士(医学) Mahesh Mundalil Vasu

論文題目

Serum microRNA profiles in children with autism

(自閉症児の血清中マイクロ RNA プロフィール)

論文の内容の要旨

[はじめに]

マイクロ RNA (miRNA) は発達期の脳における転写ネットワークにおいて遺伝子発現の調節因子として重要な役割を果たしている。血清および血漿中の miRNA はきわめて安定に検出されるため、精神神経疾患や発達障害の早期診断における非侵襲的バイオマーカーとして有望であることが示唆される。本研究では、自閉症スペクトラム障害 (ASD) 者を対象に、神経系に関連する miRNA の血清中におけるプロフィールを網羅的に検討した。

[対象と方法]

本研究は浜松医科大学医の倫理委員会とヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会、および、NPO 法人アスペ・エルデの会倫理委員会の承認を得て実施した。

① 対象

精神疾患の診断・統計マニュアル第 4 版新訂版 (DSM-IV-TR) の診断基準を満たす ASD 者 55 名 (男性 48 名、女性 7 名、平均年齢 11.3 歳 [標準偏差 2.5])、および、対照として ASD 者と性別・年齢を適合させた定型発達者 55 名 (男性 41 名、女性 14 名、平均年齢 11.3 歳 [標準偏差 2.4]) を対象とした。他の精神神経疾患を有する者、および、何らかの薬物療法を受けている者は除外した。全ての対象者より、朝食前の午前 6 時~7 時に肘窩静脈より採血し、血清サンプルを得た。遠心分離後 200 μ L ずつ分注し、以下の解析に供するまで -80°C に保存した。

② 両群のプール血清を用いた miRNA 発現のスクリーニング

まず、男性 ASD 者 40 名と適合する男性対照者 40 名を選び、ASD 群と対照群の各々で血清サンプルをプールした。次いで、両群のプール血清より miRNA を含む総 RNA を抽出し、成熟した miRNA を選択的に cDNA に変換した。2 つの miRNA アレイ (miScript miRNA PCR array, Human Neurological Development & Disease, MIHS-107Z、および、384-Well Custom miScript miRNA PCR array, CMIHS02055E) を用い、125 個の miRNA 発現を網羅的に 2 群間で比較した。

③ 個々の血清サンプルを用いた miRNA 発現の検証

②のスクリーニングで統計学的に有意差が認められた miRNA について、ASD 者 55

名と対照者 55 名の各血清サンプルを用いて定量的 RT-PCR により計測し、スクリーニングの結果を検証した。

④ 受診者動作特性 (ROC) 解析と標的遺伝子経路解析

③の検証で ASD 群における有意な変化が確認された miRNA について、ASD 診断の有無を識別する感度および特異度を ROC 解析により評価するとともに、これらの miRNA の標的遺伝子経路を DIANA mirPath ソフトウェアにより予測した。

[結果と考察]

プール血清を用いた 125 個の miRNA のスクリーニングの結果、14 個の miRNA が ASD 群で有意な変化を示し、このうち 13 個が対照群と比較して ASD 群で有意な変化を示すことが定量的 RT-PCR により確認された： miR-151a-3p、miR-181b-5p、miR-320a、miR-328、miR-433、miR-489、miR-572、および、miR-663a の 8 個は発現が低下し、miR-101-3p、miR-106b-5p、miR-130-3p、miR-195-5p、および、miR-19b-3p の 5 個は発現が上昇していた。ROC 解析の結果、ASD で発現変化がみられた 13 個の miRNA はいずれも ASD の有無を有意に識別したが、とりわけ miR-181b-5p、miR-320a、miR-572、miR-130-3p、および、miR-19b-3p の 5 個は、感度と特異度がともに 70% 以上と高く、優れた予測力を有することが示唆された。標的遺伝子経路解析では、ASD で発現変化がみられた 13 個の miRNA の標的遺伝子は約 600 あり、それらは 18 個の神経学的経路に収斂し、axon guidance、TGF- β signaling、MAPK signaling、adherens junction、regulation of actin cytoskeleton、oxidative phosphorylation、hedgehog signaling、focal adhesion、mTOR signaling、Wnt signaling などが含まれていた。これらの神経学的経路と遺伝子群は、そのほとんどが遺伝研究により ASD との関連が示唆されているものであった。

[結論]

本研究の結果から、血清中 miRNA は ASD の早期診断のための非侵襲的バイオマーカーとして有用である可能性が示唆される。