

うつ病患者とうつ病モデルマウスにおける
長鎖非コード RNA の発現変化

氏名 關 友恵

所属 山口大学大学院医学系研究科医学専攻 高次脳機能病態学
講座

令和1年12月

目次

1. 要旨	3
2. 研究の背景	4
3. 目的	7
4. 方法	
実験 1	8
実験 2	9
統計解析	11
5. 結果	12
6. 考察	14
7. 参考文献	20
8. 図表	25

1. 要旨

大うつ病性障害（MDD）は多大な機能障害をきたす世界中で問題となっている疾患のひとつであるが、その病態生理は未だ解明されていない。うつ病発症の分子メカニズムのひとつとして、神経可塑性異常が想定されており、神経可塑性異常には、環境要因などから起こる遺伝子発現変化の関与が示唆されている。

非コード RNA（ncRNA）は、タンパク質をコードしない領域の RNA であり、遺伝子発現や翻訳の調節を行うことで生物の多様性や複雑さを生み出す基盤と考えられており、広義のエピジェネティクス機構として注目されている。ncRNA の中でも、200 塩基以上の長鎖非コード RNA (lncRNAs) の働きは、エピジェネティクスなプロセスの制御が主で、中枢神経系においても、クロマチン構造、遺伝子発現の調整など重要な機能を担っている。しかし、うつ病と lncRNAs の関連は未だ不明確である。

このため、本研究は lncRNA がエピジェネティックな機能を介して、うつ病の病態に関与し、白血球における lncRNA の発現変化がうつ病のバイオマーカーになりうるかを検証した。定量的逆転写リアルタイム PCR（RT-qPCR）分析を用いて、MDD 患者 29 名と健常者 29 名の末梢血白血球における種々の lncRNA 発現解析を行った。健常者と比較して MDD 患者では RMRP の発現が減少しており、Y5、MER11C、PCAT1、PCAT29 の発現が増加していた。RMRP の発現レベルは、ハミルトンうつ病評価尺度（HAM-D）によって測定されるうつ症状の重症度と負の相関を認めた。さらに、コ

ルチコステロンを投与したうつ病モデルマウスの末梢血白血球においても RMRP 発現は減少していた。本研究により、5種の lncRNA の発現変化は MDD の診断バイオマーカーになる可能性があり、特に RMRP は重症度を反映するバイオマーカーになりうることが示唆された。

2. 研究の背景

うつ病の診断には、現在、the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems-10 (ICD-10) や the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-5 (DSM-5) といった症状の組み合わせによる操作型の診断方法が用いられている。身体的な疾患とは異なり、症候学的方法に依存しており、その症候を裏付ける生物学的なマーカーとなるものが無いことが大きな問題である。客観的で予測的なバイオマーカーの開発は喫緊の課題で、これまでも長らく研究が続けられてきたが、直接診断ツールとなるようなバイオマーカーは未だに無い。これまでの研究から、エピジェネティクスとうつ病の関連が報告されており、エピジェネティックな遺伝子発現変化が、うつ病診断の新しいバイオマーカーとなる可能性が示唆されている (Abe et al., 2011; Hobara et al., 2010)。エピジェネティクスとは、DNA配列の変化を伴わない遺伝子発現の変化を意味しており、エピジェネティックなメカニズムには、さまざまなヒストン修飾によるクロマチン構造の変化やDNAメチル化などが含まれる (Kouzarides, 2007; Suzuki and Bird, 2008)。いくつかの研究は、MDD患者のこれらの後天的なメカニズムに関与する遺伝子発現変化を報告している。たとえば、うつ病

患者の末梢血白血球を用いた解析で、ヒストン脱アセチル化酵素の発現異常や (Abe et al., 2011; Hobara et al., 2010; Iga et al., 2007; Luo and Zhang, 2016; Rey et al., 2018)、DNAメチル基転移酵素の発現異常が報告されている(Higuchi et al., 2011; Numata et al., 2015)。さらに、エピジェネティックなメカニズムの遺伝子発現変化は、MDD患者の死後脳およびうつ病のマウスモデルの脳でも観察されている (Covington et al., 2009; Lepack et al., 2016)。これらの知見は、エピジェネティクス制御因子の発現異常がうつ病の病態生理に関与しており、ひいてはうつ病のバイオマーカーとなりうる可能性を示唆している。

DNAメチル化とヒストン修飾の他に、最近注目されているエピジェネティックプロセスに、非コードRNA (ncRNA) によって媒介されるプロセスがある。ncRNAは細胞分化を制御するために、遺伝子レベルと染色体レベルの両方でエピジェネティックな修飾と発現調節に重要な役割を果たすことが示されている(Costa, 2008; Ghildiyal and Zamore, 2009; Peschansky and Wahlestedt, 2014)。中枢神経系においては、脳の発達、恒常性、ストレス反応、可塑性におけるncRNAの重要な役割が報告されている(Bian and Sun, 2011; Cui et al., 2016; Ng et al., 2013; Salta and De Strooper, 2017)。

一般に、ncRNAは200ヌクレオチドを超える長鎖ncRNA (lncRNA) と、200ヌクレオチド未満のマイクロRNA (miRNA) を含むスモールRNAに分けられる (Bian and Sun, 2011)。MiRNAは、エピジェネティックなプロセスを通して転写調節因子として機能することが報告されており、MDDを含む精神疾患にも関連があると言われてい

る (Fregeac ,2016; Uchida et al, 2017; Belzeaux et al., 2012; Fries et al., 2019; Kocerha et al., 2015; Lopez et al., 2014; Roy et al., 2017; Torres-Berrio et al., 2017)。例えば、miR-135a-5pの発現レベルは、MDD患者の血液および自殺者の死後脳で低かったと報告がある (Issler et al., 2014)。他の報告では、うつ病の動物モデル (Higuchi et al.,2016) およびMDD患者の末梢血単核球 (He et al.,2016) でmiRNA-124-3pの発現変化が認められている。これらの結果は、ncRNAがうつ病のバイオマーカーになり、またMDDの病態生理に関与している可能性があることを示唆している。

miRNAの精神疾患における働きが徐々に解明されている一方で、lncRNAの精神疾患における役割は未だにほとんど知られていない。lncRNAは、クロマチンと遺伝子活性調節、エピジェネティックな変化の媒介、染色体の刷り込み、アポトーシスなど、さまざまな生物学的機能に関与していると言われている (Ma et al.,2013)。miRNAとは異なり、lncRNAは進化の後期に生じる生物種で特異的に発現するため、精神活動などの高次機能に関与すると考えられており、エピジェネティックなプロセスを支配する細胞の維持に極めて重要な役割を果たしている (Barry,2014; Tsankova,2007)。

lncRNAがMDDのバイオマーカーとして作用する可能性があることを示した報告もいくつかある。例えば、健常者との比較でMDD患者の末梢血細胞でLINC01108の発現が有意に高く、LINC00998が有意に低かった (Ye et al,2017)。別の研究では、健常対照者と比較してMDD患者で1556個のlncRNAの発現上昇、および441個の発現減少が確認され、発現上昇を認めたlncRNAのうち4つがRT-qPCRによる定量解析によって

結果の再現性が確かめられている (Liu et al,2014)。また他の研究者らは、マイクロアレイ分析後のRT-qPCRによる検証により、健常対照63人と比較して138人のMDD患者の血液サンプルで発現変化した6つのlncRNAを報告した (Cui et al,2016)。しかしながら、これらの報告にあるlncRNAはその生理学的機能すらもわかっておらず、MDDの病態生理学的な関与は依然として不明のままである。そこで、我々は、既に生理学的機能が知られているlncRNAに焦点をあててうつ病のバイオマーカーとしての可能性を検討する必要があると考えた。いくつかのlncRNAは中枢神経系における病態生理学的な関与が示唆されているものもある(Ng et al., 2013; Salta and De Strooper, 2017)。例えば、Gomafuとして知られるlncRNAでは、マウスのmPFCにおけるノックダウンにより、統合失調症関連のcrystalline遺伝子の発現を調節しているBMI1との相互作用によると考えられる不安行動の増加が報告された (Spadaro et al,2015)。また、MIATはアルツハイマー病遺伝子改変マウスの脳実質で有意に発現抑制されており、そのノックダウンは脳微小血管変性、進行性神経変性、および行動障害を引き起こすことが報告された (He et al,2016)。こういった、過去に報告のある中枢神経系関連疾患に関与するlncRNAは、MDDのバイオマーカー候補になりうると考えた。

3. 目的

これらの知見を踏まえ、本研究では、中枢神経系の疾患を含む他の疾患や病態で、その機能が既に報告されている83個のlncRNAを選択し、MDD患者と健常者の末梢白血球における発現を比較検討した。焦点を絞ったターゲットを分析することで、う

うつ病の病態生理に特有のlncRNAを検索し、以前の研究から得られた知見に基づいてその機能の洞察を深めることを目指した。

4. 方法

4.1. 実験1

4.1.1 参加者

参加者は2012年2月～2015年6月に山口大学医学部附属病院に受診し、DSM-IV改訂版の診断基準を用いて精神科医が大うつ病性障害と診断した患者である。うつ状態の重症度は、ハミルトンうつ病評価尺度 (HAM-D) の構造化インタビューガイドを用いて精神科医によって評価され、18点以上の患者を参加の対象とした。また、現在の不安症状の重症度はState-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いて評価した。患者は、熟練した精神科医による臨床面接、複数名の精神科医らによるケースカンファレンス、およびthe Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.、日本語版5.0.0;大坪ら、2005) によって鑑別診断が行われ、最終的な診断を決定された。薬物乱用/依存症や他の精神病性疾患の既往のある患者は、除外された。対象群の健常者は、地域のコミュニティから集められ、M.I.N.I.を用いて精神疾患の既往が無いことを確認された。また、精神疾患のある近親者のいる者は除外された。すべての参加者から午前8時～12時の間で末梢血より採血を行った。血液データで肝機能障害、腎機能障害、甲状腺機能異常等が無いことを確認し、血清コルチゾール濃度を収集した。本研究は、山口大学医学部附属病院の倫理委員会によって承認され、ヘルシンキ宣言に従って実施され

た。尚、研究説明を行った後、すべての参加者から書面によるインフォームドコンセントを得ている。

4.1.2 定量的逆転写リアルタイムPCR（ヒトサンプル）

末梢血白血球からのトータルRNA単離は、以前に報告された方法（Yamagata et al.,2017）に従って実施した。その後、QuantiTect Reverse Transcription Kit（Qiagen）を使用して、1 μ gのトータルRNAをcDNAに逆転写した。そして、SYBR®Green PCR Master Mix（Applied Biosystems / Thermo Fisher Scientific）を使用して、Applied Biosystems™Step OneリアルタイムPCR装置でリアルタイムPCRを実施した。PCR条件は、50°Cで2分間、95°Cで10分間、その後95°Cで15秒間、60°Cで1分間の40サイクルで行った。The Disease Related Human LncRNA profiler Cat # RA920A-D-1（System Biosciences）をプライマープレートとして使用した。これには、83個のlncRNAと8個のハウスキーピング遺伝子と3個のsmall RNA転写物を含む11個の内在性コントロールが含まれている。83個のlncRNAは、神経変性疾患から癌に至るまで何らかの疾患で報告のあるlncRNAが選択されている。

4.2 実験 2

4.2.1 実験動物

実験1でMDD患者において発現レベルが変化した5つのlncRNAのうち、RMRPはヒトとマウスの両方に共通して発現している。そこで、うつ病モデルマウスでもRMRPの発現の変化が見られるかどうかを調べた。実験開始時に8週齢のBALB / c（BALB）

成獣雄マウスを用いた。コントロール群を13匹、ストレス群を10匹とし、コルチコステロン投与によるストレス負荷を行った。24±2° Cに管理された部屋で、12時間毎の明暗サイクル下で飼育した。すべての実験は、山口大学医学部動物実験指針 (the Guidelines for Animal Care and Use of Yamaguchi University Graduate School of Medicine) を遵守して行った。

4.2.2 ストレス負荷 (コルチコステロン投与)

CORTの長期間服用がげっ歯類のうつ様行動および不安行動を増加させると言われている(David et al., 2009; Gourley et al., 2008; Murray et al., 2008)。上記マウスにコルチコステロン[CORT (250 µg / mL)]または溶媒液 (0.45%2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン) を、飲料水として計4週間free accessにより投与し、下記の強制水泳試験を行った。化合物の劣化を防ぐため遮光ボトルを使用した。

4.2.3 行動解析 (強制水泳試験 (FST))

ストレス負荷によるうつ症状の出現を評価するために、両群のマウス (コントロール群13匹、ストレス群10匹) でFSTを実施した。FSTは、過去の報告 (Uchida et al.,2011a; Uchida et al.,2011b) を参考に、午前9時から午前12時に実施した。両群のマウスを水槽 (高さ20 cm、直径14 cm、深さ13 cmまで水を満たした、水温は23~24°C) に5分間入れ、無動時間を計測した。

4.2.4 定量的逆転写リアルタイムPCR (マウスサンプル)

両群のマウス (コントロール群13匹、ストレス群10匹) から採血をおこなった。手

順としては、吸入麻酔し、さらに腹腔麻酔をかけた後に心臓穿刺（500～1000 μ L）にてヘパリン処理チューブに血液を採取した。GeneJET全血RNA精製ミニキット（Thermo Fisher Scientific）を使用して、トータルRNAを抽出した。RNAの量と品質は、NanoDropTMND-1000分光光度計（Thermo Fisher Scientific）を使用して計測し、OD 260/280比は、すべての精製RNAで1.5以上であり、解析に使用可能な純度と判断した。実験1と同じ装置を使用してリアルタイムPCRを行った。PCR条件は、95 $^{\circ}$ Cで10分、その後95 $^{\circ}$ Cで15秒、60 $^{\circ}$ Cで30秒、95 $^{\circ}$ Cで15秒を50サイクル、続いて60 $^{\circ}$ Cで1分、最後に95 $^{\circ}$ Cで15秒というプロトコールを使用した。使用したプライマーの塩基配列は、RMRP, forward (5' -CACTGTTAGCCCGCCAAGAA-3') and reverse (5'-CACTGCCTGCGTCACTATGT-3'); GAPDH, forward (5'-TGCACCACCAACTGCTTAG-3') and reverse (5'-GGATGCAGGGATGATGTTC-3'); β actin, forward (5'-GACGGCCAGGTCATCACTAT-3') and reverse (5'-CGGATGTCAACGTCACACTT-3'); U6, forward (5'-ATACAGAGAAGATTAGCATGGCC-3') and reverse (5'-CGAATTTGCGTGTTCATCCTTG-3')である。GAPDH、 β -actin、およびU6で、RMRPの相対発現レベルを標準化した。

4.3 統計解析

SPSS 16.0を統計解析に使用した。 χ^2 検定と独立サンプルt検定を使用して、MDD患者と健常者の人口統計学的（デモグラフィック）変数を比較した。各遺伝子の発現レベルの四分位範囲（IQR）を使用してノンパラメトリックな外れ値検定を実行し、

外れ値を除外した。データポイントが第一四分位より1.5IQRを下回る場合、また第三四分位の1.5IQRを上回る場合に外れ値と見なす、Tukey法をもちいた (Tukey, 1977)。

83個のlncRNAと11個の内在性コントロールの発現については増幅曲線を確認し、増幅していないと判断したものは除外した。その後、全サンプルの平均Ct値が35以上であるものは、プライマープロトコルに従って除外した。11個の内在性コントロール遺伝子の平均Ct値 ($Ct^{AVG \text{ Internal Control}}$) を計算した。次に、各lncRNAの ΔCt を、 $\Delta Ct = Ct^{lncRNA} - Ct^{AVG \text{ Internal Control}}$ で計算し、 $\Delta\Delta CT$ を、 $\Delta\Delta CT = \Delta CT (\text{MDD sample}) - \Delta CT (\text{HC sample})$ で計算した。各遺伝子の発現レベルをFold Changeとして $2^{-\Delta\Delta CT}$ で求めた。Mann-Whitney U検定で、MDD患者と健常者の間のlncRNAの発現レベルを比較した。多重比較の有意水準の補正には、ボンフェローニ検定を用いた。スピアマン相関分析で、lncRNA発現レベルと、全参加者の年齢、MDD患者の発症年齢、疾患期間、HAM-Dスコア、状態不安スコア (STAI-Sスコア)、抗うつ薬量との相関関係を検討した。性別と診断の関係性については、2因子単変量分散分析 (ANOVA) を実施した。実験2のデータについては、独立サンプルt検定を行った。

5. 結果

5.1 実験 1

全参加者の背景・臨床データを表1に示した。HAM-D得点($p = 1.8E-40, t = 36.1$)を除いて、MDD群と健常者群での有意な差はなかった。

検討した83のlncRNAと11の内在性コントロールのうち、43のlncRNAとすべての内

在性コントロールが発現していると判断できた(表2、表3)。MER11C、PCAT1、PCAT29、RMRP、およびY5の5つのlncRNA発現レベルが、健常者と比較してMDD患者で有意な変化を認めた(図1、表4)。MDD患者のRMRP発現レベルは健常者よりも有意に低く($p = 0.000227$ 、 $U = 175$)、MER11C、PCAT1、PCAT29、およびY5の発現レベルは健常者よりも有意に高かった(MER11C : $p = 0.0215$ 、 $U = 262$; PCAT1 : $p = 0.0183$ 、 $U = 199$; PCAT29 : $p = 0.00693$ 、 $U = 165$; Y5 : $p = 0.00665$ 、 $U = 226$)。各遺伝子のROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線下面積は、MER11C 0.6773; PCAT1 0.6929; PCAT29 0.725; RMRP 0.7845; Y5 0.7114であった(図2)。ボンフェローニ検定による修正後のp値(q値)は、RMRP $q = 0.00972$; MER11C $q = 0.946$; PCAT1 $q = 0.787$; PCAT29 $q = 0.298$; Y5 $q = 0.286$ であった。診断と性別の影響や交互作用はなかった。また、RMRPの発現レベルのみがMDD患者のHAM-D得点と有意な相関が認められた(表4、図3)。一方、疾患の罹患期間やSTAI-S得点との相関は見られなかった(表4)。PCAT1とY5の発現レベルは、MDD患者の発症年齢(表4)およびすべての参加者の年齢と相関が認められた(PCAT1 : 相関係数 = -0.484 、 $p = 0.00032$; Y5 : 相関係数 = -0.271 、 $p = 0.043$)。

MER11C、PCAT1、およびY5の発現レベルは抗うつ薬のイミプラミン換算量と有意な相関が見られたが、RMRPとPCAT29には認められなかった(表4)。さらにMER11c、PCAT1、およびY5の発現レベルと各種類の抗うつ薬(選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)、セロトニンおよびノルエピネフリン再取り込み阻害薬(SNRI)、SSRIとSNRIの合計量、三環系および四環系抗うつ薬、ノルアドレナリン作動性・特異的セ

ロトニン作動性抗うつ薬 (NaSSA) とセロトニン遮断再取り込み阻害薬 (SARI) の合計) との相関関係を調べたところ、MER11cの発現レベルとSSRIとSNRIの合計との間にのみ有意な相関関係を認めた (相関係数= 0.384、 $p = 0.040$ 、データ未掲載)。

RMRPの発現レベルは、MDD患者のコルチゾール濃度と相関はなかった (相関係数= 0.156、 $p = 0.428$ 、データ未掲載)。

3.2 実験 2

1か月間CORTを服用したマウスでは、強制水泳試験で無動時間が有意に延長し ($p = 0.000357$ 、 $t = 4.25$)、うつ病様行動を示した (Porsolt et al.,1977) (図 4 A)。次にこれらのマウスから得られた血中白血球サンプルを用いてRT-qPCRを行いGAPDH、 β -アクチン、及びU6を内在性コントロールとして用いてRMRPのmRNA発現を検討した。その結果、CORT服用群ではRMRPのmRNA発現はそれぞれのコントロールに比して有意に減少していた (GAPDH: $p = 0.0131$ 、 $t = 2.71$ 、 β -アクチン: $p = 0.00975$ 、 $t = 2.84$ 、U6 : $p = 0.00315$ 、 $t = 3.33$) (図 4 B)。

6. 考察

実験1では、健常者と比較しMDD患者の末梢白血球において5つのlncRNAの有意な発現変化を検出した。5つのうち、MDD患者でRMRPの発現は減少し、MER11C、PCAT1、PCAT29、Y5の発現は増加していた。さらに、RMRPの発現レベルはうつ病の重症度と相関を認めた。実験2では、うつ病モデルマウスの血液で、RMRP発現の減少を認めた。ヒトとモデル動物のデータに一貫性があることで、RMRPの発現変化がうつ状態

に依存している可能性がより強固に示唆される (Herve et al, 2017; Miyata et al, 2016; Pajer et al, 2012; Yamagata et al, 2017)。本研究は、MDD患者とうつ病モデルマウスの両方で共通の発現変化を示すlncRNAを同定した最初の報告である。MDDのバイオマーカーとして、これらのlncRNA (特にRMRP) が有用である可能性がある。

実験 1 で発現変化のあった5つのlncRNAについて概説する。まずRMRPは、核DNAでコードされたlncRNAであり、その変異により、短毛、薄毛を特徴とする常染色体劣性軟骨形成不全である軟骨毛髪低形成 (CHH) を引き起こす (Hermanns, 2006)。CHHに関連する所見には、免疫不全、貧血、胃腸機能不全および悪性腫瘍のリスク増加が含まれ、認知障害も併発しうる (Makitie et al, 1993[updated 2018])。RMRPは、複数の細胞機能において重要な役割がある。まず1つ目は、RMRPはリボソームRNAのプロセッシングにおいて重要な役割を担う、核のRNaseMRP複合体の成分として知られている (Goldfarb and Cech, 2017; Schmitt and Clayton, 1993)。うつ病モデルマウスの視床下部および海馬で、リボソーム遺伝子発現障害が認められており (Smagin et al, 2016)、RMRP発現レベルの異常と関連があるかもしれない。2つ目に、RMRPはエピジェネティックな機能において重要な働きを持っていることが報告されている。例えば、RNase MRPはクロマチンリモデリングに関与している (Jarrous, 2017)。また、RMRP由来のsmall RNAが遺伝子発現を調整していることが示されている (Rogler et al, 2014)。3つ目に、RMRPはテロメラーゼ逆転写酵素触媒サブユニット (TERT) と相互作用し、リボ核タンパク質複合体を形成する (Maida et al, 2009)。RMRPは、リンパ球テロメラ

一ゼ活性において重要な役割を果たすことが報告されており、CHHを有する患者だけでなくヘテロ接合体のRMRPキャリアにおいても、テロメア長の短縮が認められている(Aubert et al, 2017)。興味深いことに、うつ病患者の白血球のテロメア長も短いという報告がある(Karabatsiakakis et al, 2014)。さらに、Tert 遺伝子ノックアウトマウスは抑うつ行動を示し、レンチウイルスベクターを用いて海馬で部位特異的にTert遺伝子を再発現させると抑うつ行動を示さなくなる(Zhou et al, 2016)。これらの知見から、TERTにおけるRMRPの機能はうつ病の病態生理にとって重要な可能性がある。4つ目に、ミトコンドリアにおいて、RMRPはミトコンドリアDNA複製、RNAプロセッシングおよびミトコンドリア呼吸に関与するミトコンドリアRNase MRP複合体として働く(Noh et al, 2016)。前脳においてミトコンドリアDNAポリメラーゼサブユニットをコードするPolg1で機能不全がおこると、マウスでうつ様行動を示す(Kasahara et al, 2016)など、ミトコンドリアの機能不全は気分障害に寄与していると考えられている(Czarny et al, 2018; Kasahara and Kato, 2018)。まとめると、上述した多彩な機能により、RMRPは、核、リボソーム、ミトコンドリアを含む細胞内小器官を繋ぐ重要なハブとして働き、ストレスや気分の調整に関与している可能性が挙げられる。本研究の結果はMDD患者とうつ病モデルマウスの両方でRMRPの発現レベルの低下が認められ、MDD患者においてはRMRPの発現レベルが、HAM-D得点、つまりうつ症状の重症度との相関を認めた。今後、うつ病にRMRPがどのように関与しているのか、そのメカニズムを調べる必要がある。

次に、Y5は全身性エリテマトーデス（SLE）およびシェーグレン症候群で最初に報告された、自己抗体（Ro 60タンパク質、Laタンパク質）の複合体であるYRNAファミリーの1種である（Hendrick et al, 1981）。YRNAはステムループ構造を持ち、small RNAの品質管理、DNA複製、細胞のストレス反応や増殖に関与すると考えられている（Kohn et al, 2013; Kowalski and Krude, 2015）。他のYRNAとは異なり、Y5は、5SリボソームRNAの結合因子であるL5リボソームタンパク質との複合体、およびRoタンパク質とLaタンパク質との複合体を形成する。さらに、Y5は5S RNAバリエーションに結合するため、Y5は5SリボソームRNAの生合成に関与している可能性がある（Hogg and Collins, 2007）。前述したように、リボソーム生合成がうつ病に影響する可能性が示唆されており、Y5も、リボソーム生合成を介してうつ病に関与している可能性がある。

MER11Cは、RNAに結合するヒトポリピリミジントラクト結合タンパク質関連スプライシング因子（hPSF）の1つである。hPSFによるRNAの結合は、PSFによる癌原遺伝子翻訳の抑制を逆転させることにより、形質転換と腫瘍形成を促進する。hPSF結合RNA発現の調節不全は、癌の病因において重要な役割を果たす（Li et al, 2009）。

PCAT1は、特に前立腺癌において発癌性のlncRNAと定義されており、がん細胞の増殖、アポトーシス、移動、および侵入を制御している（Xiong et al, 2019）。PCAT1レベルは、HDAC阻害剤であるスベロイルアニリドヒドロキサム酸（SAHA）の発現とともに上昇することが報告されており（Prensner et al, 2011）、SAHAはマウスのうつ様行動を改善すると報告がある（Covington et al, 2009）。本研究では、PCAT1は抗うつ薬の

投与量と相関があったことから、その発現は抗うつ薬の影響が関与している可能性がある。

PCAT29は、癌抑制表現型（細胞増殖、遊走、腫瘍成長、転移の阻害等）を示し、アンドロゲンシグナル伝達によって抑制される（Malik et al, 2014）。PCAT29の発現が低下すると、腫瘍の増大や転移により臨床転帰が増悪したという報告がある（Malik et al, 2014）。

本研究でMER11C、PCAT1、およびPCAT29の発現の増加が見られており、うつ病の病態生理における各遺伝子の特定の機能の解明のため更なる研究が必要である。

現在までMDDにおけるlncRNAに関する研究は少なく、それらは包括的なゲノムワイドな分析が主流である。本研究で有意な発現変化を示したlncRNAの中で、RMRPは健常対照者と比較してMDD患者で発現減少を認めたが、これはBelzeauxらが公開しているマイクロアレイデータセットにおける結果（Belzeaux et al, 2012）と同様であった。他の4つのlncRNAについては、既報のいずれも、我々の結果と一致する報告はなかった。本研究では83のlncRNAにターゲットを絞ることにより、これまで報告されていないうつ病に関連するlncRNAを特定した。ただし、ボンフェローニ法で多重比較の補正を行ったところ、有意な変化と判断されたのがRMRPのみであったことから、MER11C、PCAT1、PCAT29、およびY5は偽陽性の可能性はある。

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、被験者の数が少ないことがあげられる。統計的検出力を高めるために、今後、より大きなサンプルサイズでの研究が必要であ

る。第二に、過去に報告のあるlncRNAを含むプライマープレートを使用して83種類のlncRNAに標的を絞ったため、他のlncRNAについては検討していない。第三に、本研究では、末梢血サンプルを使用して発現レベルの解析を行っており、末梢血白血球での発現レベルが低いため、うつ病に関与する中枢神経系の遺伝子が解析の対象とならなかった可能性は考えられる。第三に、喫煙・飲酒の習慣に関する詳細な情報を収集しなかったという点で、これらの影響を排除できなかった。第四に、実験2では雄マウスのみを使用し、雌マウスを用いた解析を行わなかった。最後に、これらの遺伝子の発現レベルに対する抗うつ薬の潜在的な影響を排除することはできなかった。しかしながら、RMRPに関しては、うつ病モデルマウスでもヒトと同様の発現変化が観察されたことから、うつ病の病態生理にRMRPが関与している可能性が強く示唆される。

ヒトとマウスの両方を対象とした本研究の結果から、うつ病のバイオマーカーとして、5つのlncRNA、特にRMRPが有用であることが示唆される。今後の展望として、これらのlncRNAが疾患特異的なものか、それともうつ状態に特異的なものなのか、また、どのようにうつ病の病態生理に関与しているのか、などを明らかにする必要がある。

7 参考文献

- Abe, N., Uchida, S., Otsuki, K., Hobara, T., Yamagata, H., Higuchi, F., Shibata, T., Watanabe, Y., 2011. Altered sirtuin deacetylase gene expression in patients with a mood disorder. *J Psychiatr Res* 45(8), 1106-1112.
- Aubert, G., Strauss, K.A., Lansdorp, P.M., Rider, N.L., 2017. Defects in lymphocyte telomere homeostasis contribute to cellular immune phenotype in patients with cartilage-hair hypoplasia. *J Allergy Clin Immunol* 140(4), 1120-1129 e1121.
- Barry, G., 2014. Integrating the roles of long and small non-coding RNA in brain function and disease. *Mol Psychiatry* 19(4), 410-416.
- Belzeaux, R., Bergon, A., Jeanjean, V., Loriod, B., Formisano-Treziny, C., Verrier, L., Loundou, A., Baumstarck-Barrau, K., Boyer, L., Gall, V., Gabert, J., Nguyen, C., Azorin, J.M., Naudin, J., Ibrahim, E.C., 2012. Responder and nonresponder patients exhibit different peripheral transcriptional signatures during major depressive episode. *Transl Psychiatry* 2, e185.
- Beveridge, N.J., Cairns, M.J., 2012. MicroRNA dysregulation in schizophrenia. *Neurobiol Dis* 46(2), 263-271.
- Bian, S., Sun, T., 2011. Functions of noncoding RNAs in neural development and neurological diseases. *Mol Neurobiol* 44(3), 359-373.
- Costa, F.F., 2008. Non-coding RNAs, epigenetics and complexity. *Gene* 410(1), 9-17.
- Covington, H.E., 3rd, Maze, I., LaPlant, Q.C., Vialou, V.F., Ohnishi, Y.N., Berton, O., Fass, D.M., Renthal, W., Rush, A.J., 3rd, Wu, E.Y., Ghose, S., Krishnan, V., Russo, S.J., Tamminga, C., Haggarty, S.J., Nestler, E.J., 2009. Antidepressant actions of histone deacetylase inhibitors. *J Neurosci* 29(37), 11451-11460.
- Cui, X., Sun, X., Niu, W., Kong, L., He, M., Zhong, A., Chen, S., Jiang, K., Zhang, L., Cheng, Z., 2016. Long Non-Coding RNA: Potential Diagnostic and Therapeutic Biomarker for Major Depressive Disorder. *Medical Science Monitor* 22, 5240-5248.
- Czarny, P., Wigner, P., Galecki, P., Sliwinski, T., 2018. The interplay between inflammation, oxidative stress, DNA damage, DNA repair and mitochondrial dysfunction in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 80(Pt C), 309-321.
- David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guiard, B.P., Guilloux, J.P., Artymyshyn, R.P., Gardier, A.M., Gerald, C., Antonijevic, I.A., Leonardo, E.D., Hen, R., 2009. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 62(4), 479-493.
- Fregeac, J., Colleaux, L., Nguyen, L.S., 2016. The emerging roles of MicroRNAs in autism spectrum disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 71, 729-738.
- Fries, G.R., Zhang, W., Benevenuto, D., Quevedo, J., 2019. MicroRNAs in Major Depressive Disorder. *Adv Exp Med Biol* 1118, 175-190.
- Ghildiyal, M., Zamore, P.D., 2009. Small silencing RNAs: an expanding universe. *Nature Reviews Genetics* 10, 94.

- Goldfarb, K.C., Cech, T.R., 2017. Targeted CRISPR disruption reveals a role for RNase MRP RNA in human preribosomal RNA processing. *Genes Dev* 31(1), 59-71.
- Gourley, S.L., Wu, F.J., Kiraly, D.D., Ploski, J.E., Kedves, A.T., Duman, R.S., Taylor, J.R., 2008. Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. *Biol Psychiatry* 63(4), 353-359.
- He, S., Liu, X., Jiang, K., Peng, D., Hong, W., Fang, Y., Qian, Y., Yu, S., Li, H., 2016. Alterations of microRNA-124 expression in peripheral blood mononuclear cells in pre- and post-treatment patients with major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 78, 65-71.
- Hendrick, J.P., Wolin, S.L., Rinke, J., Lerner, M.R., Steitz, J.A., 1981. Ro small cytoplasmic ribonucleoproteins are a subclass of La ribonucleoproteins: further characterization of the Ro and La small ribonucleoproteins from uninfected mammalian cells. *Mol Cell Biol* 1(12), 1138-1149.
- Hermanns, P., Tran, A., Munivez, E., Carter, S., Zabel, B., Lee, B., Leroy, J.G., 2006. RMRP mutations in cartilage-hair hypoplasia. *Am J Med Genet A* 140(19), 2121-2130.
- Herve, M., Bergon, A., Le Guisquet, A.M., Leman, S., Consoloni, J.L., Fernandez-Nunez, N., Lefebvre, M.N., El-Hage, W., Belzeaux, R., Belzung, C., Ibrahim, E.C., 2017. Translational Identification of Transcriptional Signatures of Major Depression and Antidepressant Response. *Front Mol Neurosci* 10, 248.
- Higuchi, F., Uchida, S., Yamagata, H., Abe-Higuchi, N., Hobara, T., Hara, K., Kobayashi, A., Shintaku, T., Itoh, Y., Suzuki, T., Watanabe, Y., 2016. Hippocampal MicroRNA-124 Enhances Chronic Stress Resilience in Mice. *J Neurosci* 36(27), 7253-7267.
- Higuchi, F., Uchida, S., Yamagata, H., Otsuki, K., Hobara, T., Abe, N., Shibata, T., Watanabe, Y., 2011. State-dependent changes in the expression of DNA methyltransferases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res* 45(10), 1295-1300.
- Hobara, T., Uchida, S., Otsuki, K., Matsubara, T., Funato, H., Matsuo, K., Suetsugi, M., Watanabe, Y., 2010. Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res* 44(5), 263-270.
- Hogg, J.R., Collins, K., 2007. Human Y5 RNA specializes a Ro ribonucleoprotein for 5S ribosomal RNA quality control. *Genes Dev* 21(23), 3067-3072.
- Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., Numata, S., Kinouchi, S., Tayoshi-Shibuya, S., Song, H., Ohmori, T., 2007. Altered HDAC5 and CREB mRNA expressions in the peripheral leukocytes of major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31(3), 628-632.
- Issler, O., Haramati, S., Paul, E.D., Maeno, H., Navon, I., Zwang, R., Gil, S., Mayberg, H.S., Dunlop, B.W., Menke, A., Awatramani, R., Binder, E.B., Deneris, E.S., Lowry, C.A., Chen, A., 2014. MicroRNA 135 is essential for chronic stress resiliency, antidepressant efficacy, and intact serotonergic activity. *Neuron* 83(2), 344-360.
- Jarrous, N., 2017. Roles of RNase P and Its Subunits. *Trends Genet* 33(9), 594-603.
- Karabatsiakos, A., Kolassa, I.T., Kolassa, S., Rudolph, K.L., Dietrich, D.E., 2014. Telomere

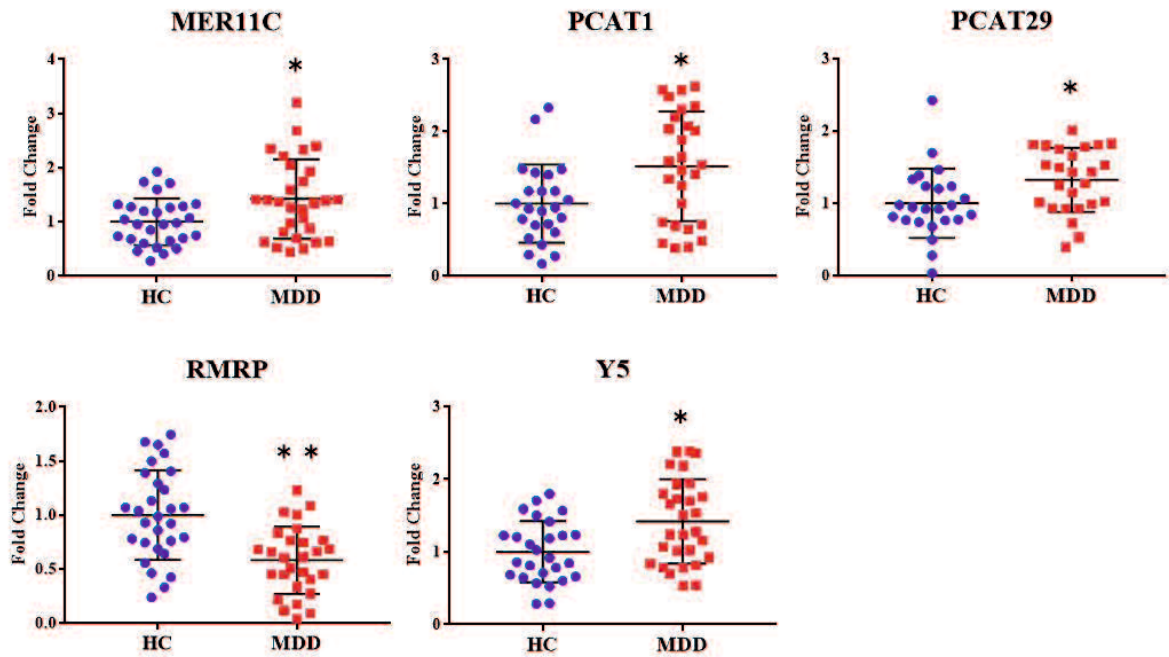
- shortening in leukocyte subpopulations in depression. *BMC Psychiatry* 14, 192.
- Kasahara, T., Kato, T., 2018. What Can Mitochondrial DNA Analysis Tell Us About Mood Disorders? *Biol Psychiatry* 83(9), 731-738.
- Kasahara, T., Takata, A., Kato, T.M., Kubota-Sakashita, M., Sawada, T., Kakita, A., Mizukami, H., Kaneda, D., Ozawa, K., Kato, T., 2016. Depression-like episodes in mice harboring mtDNA deletions in paraventricular thalamus. *Mol Psychiatry* 21(1), 39-48.
- Kocerha, J., Dwivedi, Y., Brennand, K.J., 2015. Noncoding RNAs and neurobehavioral mechanisms in psychiatric disease. *Mol Psychiatry* 20(6), 677-684.
- Kohn, M., Pazaitis, N., Huttelmaier, S., 2013. Why YRNAs? About Versatile RNAs and Their Functions. *Biomolecules* 3(1), 143-156.
- Kouzarides, T., 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell* 128(4), 693-705.
- Kowalski, M.P., Krude, T., 2015. Functional roles of non-coding Y RNAs. *Int J Biochem Cell Biol* 66, 20-29.
- Lepack, A.E., Bagot, R.C., Pena, C.J., Loh, Y.E., Farrelly, L.A., Lu, Y., Powell, S.K., Lorsch, Z.S., Issler, O., Cates, H.M., Tamminga, C.A., Molina, H., Shen, L., Nestler, E.J., Allis, C.D., Maze, I., 2016. Aberrant H3.3 dynamics in NAc promote vulnerability to depressive-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(44), 12562-12567.
- Li, L., Feng, T., Lian, Y., Zhang, G., Garen, A., Song, X., 2009. Role of human noncoding RNAs in the control of tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(31), 12956-12961.
- Liu, Z., Li, X., Sun, N., Xu, Y., Meng, Y., Yang, C., Wang, Y., Zhang, K., 2014. Microarray profiling and co-expression network analysis of circulating lncRNAs and mRNAs associated with major depressive disorder. *PLoS One* 9(3), e93388.
- Lopez, J.P., Lim, R., Cruceanu, C., Crapper, L., Fasano, C., Labonte, B., Maussion, G., Yang, J.P., Yerko, V., Vigneault, E., El Mestikawy, S., Mechawar, N., Pavlidis, P., Turecki, G., 2014. miR-1202 is a primate-specific and brain-enriched microRNA involved in major depression and antidepressant treatment. *Nat Med* 20(7), 764-768.
- Luo, X.J., Zhang, C., 2016. Down-Regulation of SIRT1 Gene Expression in Major Depressive Disorder. *Am J Psychiatry* 173(10), 1046.
- Ma, L., Bajic, V.B., Zhang, Z., 2013. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol* 10(6), 925-933.
- Maida, Y., Yasukawa, M., Furuuchi, M., Lassmann, T., Possemato, R., Okamoto, N., Kasim, V., Hayashizaki, Y., Hahn, W.C., Masutomi, K., 2009. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA. *Nature* 461(7261), 230-235.
- Makitie, O., Vakkilainen, S., 1993, [updated 2018 May 24]. Cartilage-Hair Hypoplasia - Anauxetic Dysplasia Spectrum Disorders, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J.H., Stephens, K., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews*((R)). Seattle (WA).
- Malik, R., Patel, L., Prensner, J.R., Shi, Y., Iyer, M.K., Subramaniyan, S., Carley, A., Niknafs,

- Y.S., Sahu, A., Han, S., Ma, T., Liu, M., Asangani, I.A., Jing, X., Cao, X., Dhanasekaran, S.M., Robinson, D.R., Feng, F.Y., Chinnaiyan, A.M., 2014. The lncRNA PCAT29 inhibits oncogenic phenotypes in prostate cancer. *Mol Cancer Res* 12(8), 1081-1087.
- Miyata, S., Kurachi, M., Okano, Y., Sakurai, N., Kobayashi, A., Harada, K., Yamagata, H., Matsuo, K., Takahashi, K., Narita, K., Fukuda, M., Ishizaki, Y., Mikuni, M., 2016. Blood Transcriptomic Markers in Patients with Late-Onset Major Depressive Disorder. *PLoS One* 11(2), e0150262.
- Murray, F., Smith, D.W., Hutson, P.H., 2008. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol* 583(1), 115-127.
- Ng, S.Y., Lin, L., Soh, B.S., Stanton, L.W., 2013. Long noncoding RNAs in development and disease of the central nervous system. *Trends Genet* 29(8), 461-468.
- Noh, J.H., Kim, K.M., Abdelmohsen, K., Yoon, J.H., Panda, A.C., Munk, R., Kim, J., Curtis, J., Moad, C.A., Wohler, C.M., Indig, F.E., de Paula, W., Dudekula, D.B., De, S., Piao, Y., Yang, X., Martindale, J.L., de Cabo, R., Gorospe, M., 2016. HuR and GRSF1 modulate the nuclear export and mitochondrial localization of the lncRNA RMRP. *Genes Dev* 30(10), 1224-1239.
- Numata, S., Ishii, K., Tajima, A., Iga, J., Kinoshita, M., Watanabe, S., Umehara, H., Fuchikami, M., Okada, S., Boku, S., Hishimoto, A., Shimodera, S., Imoto, I., Morinobu, S., Ohmori, T., 2015. Blood diagnostic biomarkers for major depressive disorder using multiplex DNA methylation profiles: discovery and validation. *Epigenetics* 10(2), 135-141.
- Pajer, K., Andrus, B.M., Gardner, W., Lourie, A., Strange, B., Campo, J., Bridge, J., Blizinsky, K., Dennis, K., Vedell, P., Churchill, G.A., Redei, E.E., 2012. Discovery of blood transcriptomic markers for depression in animal models and pilot validation in subjects with early-onset major depression. *Transl Psychiatry* 2, e101.
- Peschansky, V.J., Wahlestedt, C., 2014. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. *Epigenetics* 9(1), 3-12.
- Porsolt, R.D., Bertin, A., Jalfre, M., 1977. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 229(2), 327-336.
- Rey, R., Chauvet-Gelinier, J.C., Suaud-Chagny, M.F., Ragot, S., Bonin, B., d'Amato, T., Teyssier, J.R., 2018. Distinct Expression Pattern of Epigenetic Machinery Genes in Blood Leucocytes and Brain Cortex of Depressive Patients. *Mol Neurobiol*.
- Rogler, L.E., Kosmyna, B., Moskowitz, D., Bebawee, R., Rahimzadeh, J., Kutchko, K., Laederach, A., Notarangelo, L.D., Giliani, S., Bouhassira, E., Frenette, P., Roy-Chowdhury, J., Rogler, C.E., 2014. Small RNAs derived from lncRNA RNase MRP have gene-silencing activity relevant to human cartilage-hair hypoplasia. *Hum Mol Genet* 23(2), 368-382.
- Roy, B., Dunbar, M., Shelton, R.C., Dwivedi, Y., 2017. Identification of MicroRNA-124-3p as a Putative Epigenetic Signature of Major Depressive Disorder. *Neuropsychopharmacology* 42(4), 864-875.

- Salta, E., De Strooper, B., 2017. Noncoding RNAs in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci* 18(10), 627-640.
- Schmitt, M.E., Clayton, D.A., 1993. Nuclear RNase MRP is required for correct processing of pre-5.8S rRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 13(12), 7935-7941.
- Smagin, D.A., Kovalenko, I.L., Galyamina, A.G., Bragin, A.O., Orlov, Y.L., Kudryavtseva, N.N., 2016. Dysfunction in Ribosomal Gene Expression in the Hypothalamus and Hippocampus following Chronic Social Defeat Stress in Male Mice as Revealed by RNA-Seq. *Neural Plast* 2016, 3289187.
- Spadaro, P.A., Flavell, C.R., Widagdo, J., Ratnu, V.S., Troup, M., Ragan, C., Mattick, J.S., Bredy, T.W., 2015. Long Noncoding RNA-Directed Epigenetic Regulation of Gene Expression Is Associated With Anxiety-like Behavior in Mice. *Biol Psychiatry* 78(12), 848-859.
- Suzuki, M.M., Bird, A., 2008. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat Rev Genet* 9(6), 465-476.
- Torres-Berrio, A., Lopez, J.P., Bagot, R.C., Nouel, D., Dal Bo, G., Cuesta, S., Zhu, L., Manitt, C., Eng, C., Cooper, H.M., Storch, K.F., Turecki, G., Nestler, E.J., Flores, C., 2017. DCC Confers Susceptibility to Depression-like Behaviors in Humans and Mice and Is Regulated by miR-218. *Biol Psychiatry* 81(4), 306-315.
- Tsankova, N., Renthal, W., Kumar, A., Nestler, E.J., 2007. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 8(5), 355-367.
- Tukey, J.W., 1977. *Exploratory data analysis*. Addison-Wesley Pub. Co., Reading, Mass.
- Uchida, S., Yamagata, H., Seki, T., Watanabe, Y., 2017. Epigenetic mechanisms of major depression: targeting neuronal plasticity. *Psychiatry Clin Neurosci*.
- Yamagata, H., Uchida, S., Matsuo, K., Harada, K., Kobayashi, A., Nakashima, M., Nakano, M., Otsuki, K., Abe-Higuchi, N., Higuchi, F., Watanuki, T., Matsubara, T., Miyata, S., Fukuda, M., Mikuni, M., Watanabe, Y., 2017. Identification of commonly altered genes between in major depressive disorder and a mouse model of depression. *Sci Rep* 7(1), 3044.
- Ye, N., Rao, S., Du, T., Hu, H., Liu, Z., Shen, Y., Xu, Q., 2017. Intergenic variants may predispose to major depression disorder through regulation of long non-coding RNA expression. *Gene* 601, 21-26.
- Zhou, Q.G., Wu, H.Y., Zhou, H., Liu, M.Y., Lee, H.W., Liu, X., Devkota, S., Ro, E.J., Zhu, D.Y., Suh, H., 2016. Reactivation of *Tert* in the medial prefrontal cortex and hippocampus rescues aggression and depression of *Tert*^(-/-) mice. *Transl Psychiatry* 6(6), e836.

8 図表

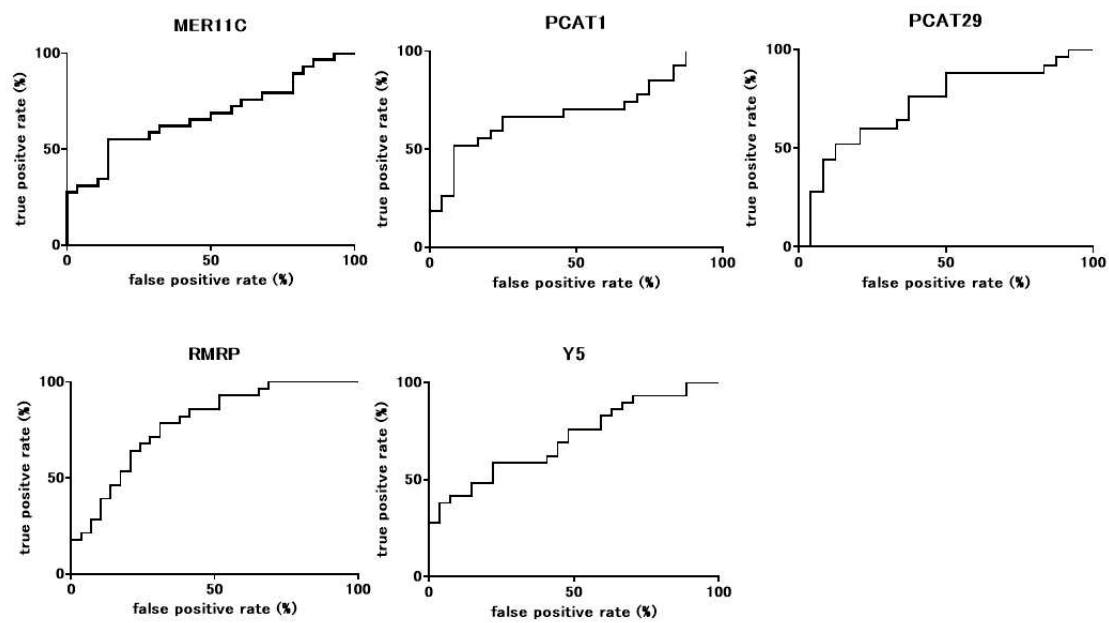
図 1. 健常者と MDD 患者で有意差のあった 5 種類の lncRNA (実験 1)



各 lncRNA について、健常者と MDD 患者での発現レベルをドットで示した (平均値 ± 標準偏差)。

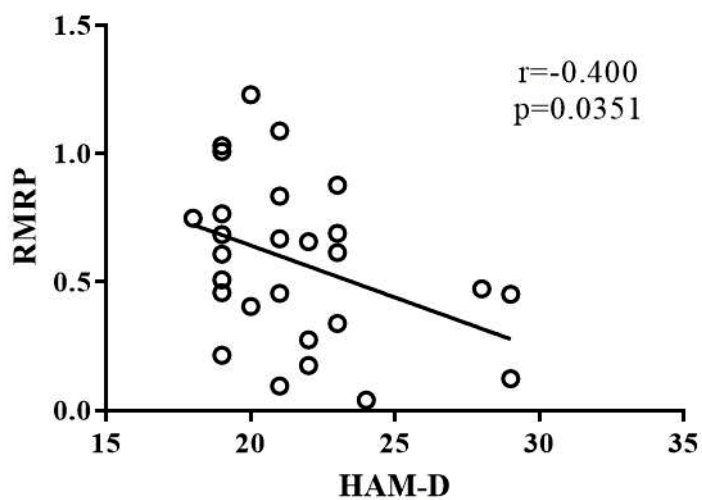
*は $p < 0.05$ 、**は $p < 0.001$

図2 実験1で健常者と患者の間に有意差のあった lncRNA の ROC 曲線



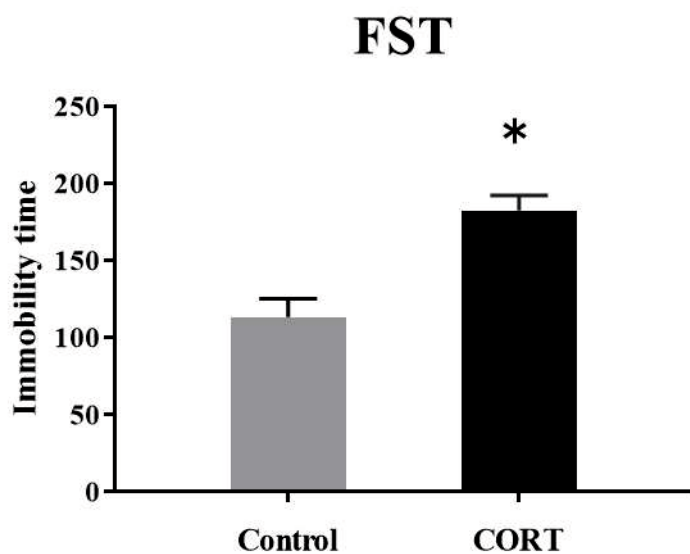
各遺伝子の ROC 曲線下面積は、MER11C 0.6773; PCAT1 0.6929; PCAT29 0.725; RMRP 0.7845; Y5 0.7114 であった。

図3 MDD患者でのRMRPの発現レベルとHAM-Dスコアの相関（実験1）

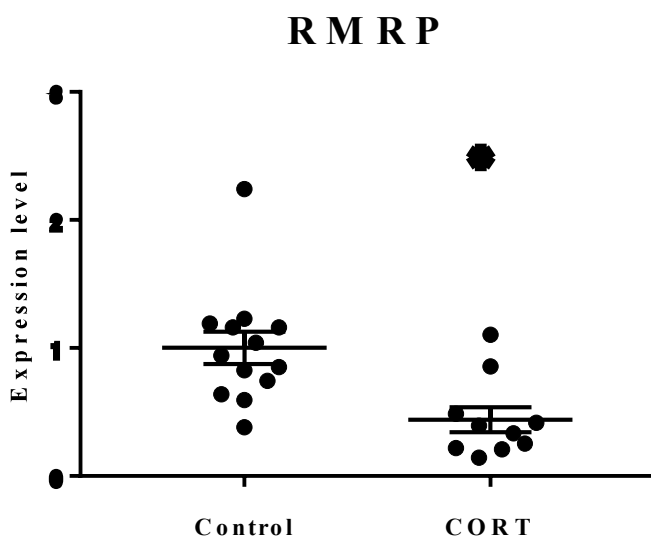


検定にはスピアマン相関分析を使用した（ $p = 0.0351$ 、 $r = -0.400$ ）。

図 4. うつ病モデルマウスのデータ (実験 2)



4A



4B

A. 強制水泳テスト (FST)

CORT 投与マウス (n = 10) は、強制水泳試験で、コントロールマウス (n = 13) よりも長い無動時間を示した。データは平均値±標準誤差で示している (*p < 0.001)。

B. RMRP の発現レベル

CORT 投与マウスの血液における RMRP の発現レベル (n = 10) は、コントロールマウスの発現レベル (n = 13) よりも有意に低かった (*p < 0.05)。

表 1. 実験 1 参加者の背景と臨床特徴

	健常者	うつ病患者
人数	29	29
性別 (男性/女性)	13/16	11/18
年齢 (歳)	47.0±16.3	48.5±12.9
HAM-D 得点 (点)	0.6±0.9	21.5±2.9*
STAI 得点 (点)	39.7±4.7	37.5±5.6
抗うつ薬総量 (mg) (イミプラミン換算)	-	212±140
薬物治療 (人数)		28
SSRI		14
SNRI		11
三環形抗うつ薬		7
四環形抗うつ薬		4
NaSSA		8
SARI		7

HAM-D得点はMDD患者と健常者の間で有意な差を認めた (* $p < 0.001$)。

表 2. 実験 1 参加者の末梢血白血球で発現のみられた lncRNA と Internal control

		LncRNA name						
Detected	aHIF	AK023948	BACE1AS	BCMS	BIC	DD3	DISC2	DLG2A
lncRNA	EGO	GAS5	GOMAFU	HAR1B	HOTAIRM1	IPW	IGF2AS	LIT1
	LUST	LincRNA-VLDLR	MALAT1	MER11C	NEAT1	NDM29	PAND A	PAR5
	PCAT1	PCAT29	PCAT43	PR-AT2	PTENP1	RMRP	Saf	SRA
	ST7OT1	TMEVPG1	TU_0017629	TUG	UCA1	Y1	Y3	Y4
	Y5	ZEB2NAT	7SK					
Internal control	7SL	5.8S	U6	ACTB	B2M	PGK	GAPDH	HPRT
	scRNA-5.1	rRNA-5.1	smRNA-5.1					
	RPL1A	RPL13A	U87					
			scaRNA-5.1					

表 3. 解析した lncRNA と Internal control (実験 1)

		LncRNA name						
検出された lncRNA	aHIF	AK0239 48	BACE1A S	BCMS	BIC	DD3	DISC2	DLG2AS
	EGO	GAS5	GOMAF U	HAR1B	HOTAIR M1	IPW	IGF2AS	LIT
	LUST	LincRN A- VLDLR	MALAT1	MER11C	NEAT1	NDM29	PANDA	PAR5
	PCAT1	PCAT29	PCAT43	PR-AT2	PTENP1	RMRP	Saf	SRA
	ST7OT1	TMEVP G1	TU_0017 629	TUG	UCA1	Y1	Y3	Y4
	Y5	ZEB2N AT	7SK					
検出されなかった lncRNA	21A	AAA1	ANRIL	Anti- NOS2A	BC01774 3	BC0434 30	BC200	CCND1A NCR
	CMPD	DGCR5	H19	H19-AS	HAR1A	HOTAIR	HOTTIP	HOXA1A S AA48950 5
	HOXA3A S	HOXA3A S	HOXA6A S	HOXA11 AS	HULC	KRASPI	l1pa16	LOC2851 94
	BI82315	BE87334 9	AK09215 4					
	LincRN A- SFMBT 2	MEG3	NCRMS	PCAT-14	PCAT-32	PCGEM 1	PRINS	PSF inhibiting RNA
	ROR	SCA8	SOX2OT	ST70T2	ST70T3	ST70T4	Telomeras e RNA	WT1-AS
Internal control	7SL scRNA- 5.1 RPL1A	5.8S rRNA- 5.1 RPL13A	U6 smRNA- 5.1 U87 scaRNA- 5.1	ACTB	B2M	PGK	GAPDH	HPRT

表 4. MDD 患者における 5 種類の lncRNA の発現レベルと、発症年齢・疾患期間・HAM-D 得点・STAI 得点・抗うつ薬総量との相関（実験 1）

	MER11C	PCAT1	PCAT29	RMRP	Y5
発症年齢	-0.228	-0.537* ²	-0.122	-0.070	-0.448* ⁵
罹病期間	0.189	-0.097	0.210	0.126	0.079
HAM-D 得点	0.036	-0.165	-0.106	-0.400* ⁴	-0.044
STAI 得点	0.034	0.325	-0.182	-0.180	0.014
抗うつ薬総量	0.414* ¹	0.393* ³	-0.064	-0.313	0.405* ⁶

*¹p = 0.026, *²p = 0.004, *³p = 0.043, *⁴p = 0.035, *⁵p = 0.015, *⁶p = 0.029