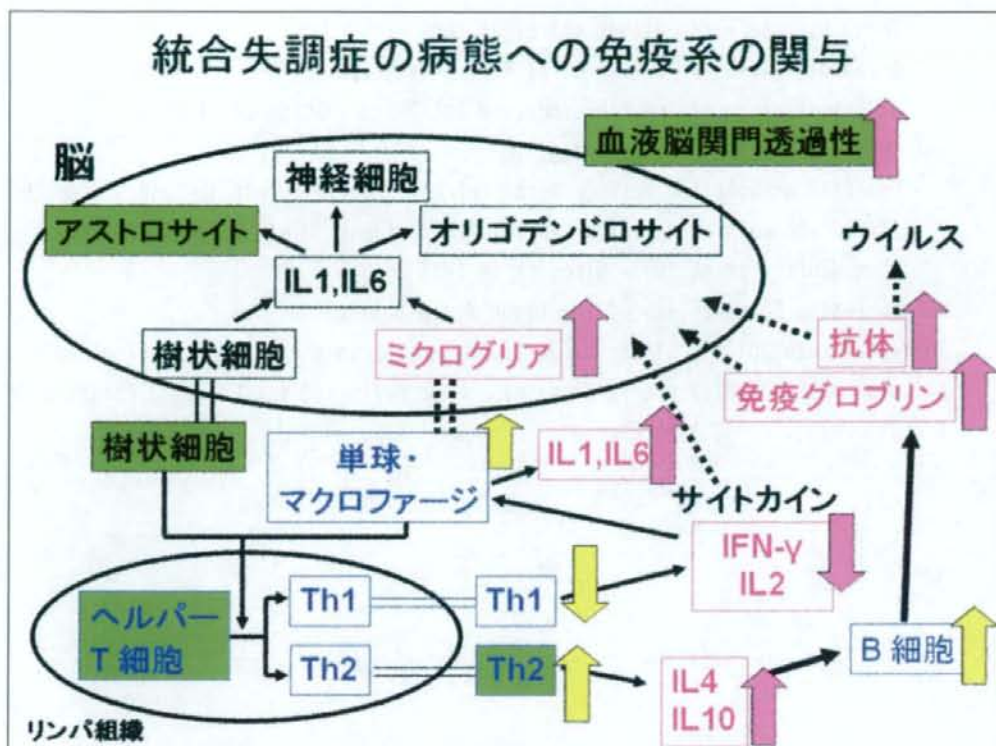


資料

(資料1：統合失調症への免疫系の関与)



統合失調症への免疫系の関与を示す証拠に下記の相互に関連する現象があげられる。

(1) Activated Microglia

Activated microglia in a subset of schizophrenic patients based on postmortem studies (Kreutzberg et al 1996 etc)

(2) Imbalanced Subpopulation of Helper T Cell

A shift from Th1 to Th-2 helper T cell-immune reactivity in schizophrenic patients, especially with predominant negative symptom and/or poor therapy outcome, based on measurements of Th1- and Th2-relevant cytokines (Schwarz et al 2001 etc)

(3) Increased Immunoglobulins

Increased serum Immunoglobulin E and cerebral spinal fluid Immunoglobulin G in schizophrenic patients with predominant negative symptom and/or poor therapy outcome

(4) Frequent Detection of Antibodies against Viruses and Brain Structures in schizophrenic sera or cerebrospinal fluid

Herpes Simplex Virus (Bartova et al 1987 etc), Cytomegalovirus

(Torrey et al 1978 etc), Epstein Barr Virus (De Lisi et al 1986 etc),

Borna Disease Virus (Yamaguchi et al 1999 etc)

Antibrain Antibody (DeLisi et al 1985), Ganglioside (Stevens 1992)

MI Muscarinic acetylcholine receptor antibodies (Borda et al 2004)

(5) Immune Response to Viral Infection

Positive association between viral infection during pregnancy and susceptibility to schizophrenia, which can involve dysfunction of the immature immune system (Torrey et al 1997, Kirch et al 1993 etc)

(6) Increased Permeability of the Blood-Brain Barrier

Increased permeability of the blood-brain barrier in a subset of schizophrenic patients, which enables penetrations of immune cells and cytokines (Schwarz et al 1998, Muller et al 1995 etc)

(資料2：研究の流れ)



(資料3：臨床情報一般)

匿名化ID：\_\_\_\_\_ 性別：\_\_\_\_\_ 年齢：\_\_\_\_\_

診断名：

家族歴：何人兄弟の何番目：

精神疾患罹患者（診断名・関係）：

既往歴・合併症（診断名・発症年齢）：

アレルギー：

生育歴：

教育歴（最終学歴）：

職歴：

婚姻歴：

発症年齢：

初発症状：

病歴：

入院回数・期間（何回・何ヶ月）：

治療歴・抗精神病薬（一般名・最大容量・期間・効果）：

気分安定薬（一般名・最大容量・期間）：

抗パーキンソン薬（一般名・最大容量・期間）：

抗ヒスタミン剤（一般名・最大容量・期間）：

副作用・EPS：

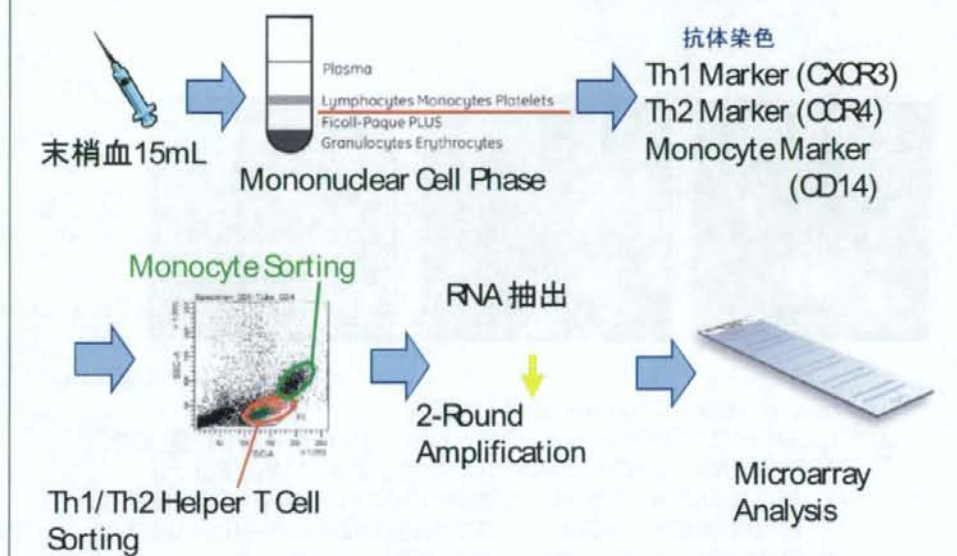
肥満：

多飲水：

その他：

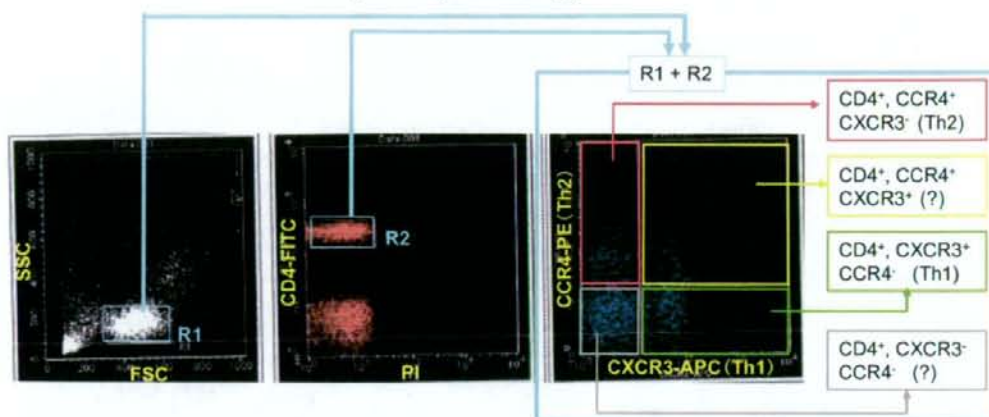
(資料4：統合失調症罹患者の免疫システムへの分子遺伝学的アプローチ)

## 統合失調症罹患者の免疫システムへの 分子遺伝学的アプローチ



(資料5：細胞ソーティング法によるTh1およびTh2ヘルパーT細胞の選別)

### FACSによるヘルパーT細胞 Th1+細胞およびTh2+細胞の選別 (4 Way Sorting)



- ① FSC、SSCによりリンパ球分画 (R1) を選別
- ② PI、CD4-FITCによりPI陰性のCD4<sup>+</sup>ヘルパーリンパ球分画 (R2) を選別
- ③ R1、R2を展開し、CXCR3-APC、CCR4-PEにより、4 Way Sorting
  - (1) PI陰性のCD4<sup>+</sup>、CXCR3<sup>+</sup>、CCR4<sup>-</sup>分画 (Th1ヘルパーリンパ球細胞)
  - (2) PI陰性のCD4<sup>+</sup>、CCR4<sup>+</sup>、CXCR3<sup>-</sup>分画 (Th2ヘルパーリンパ球細胞)
  - (3) PI陰性のCD4<sup>+</sup>、CCR4<sup>+</sup>、CXCR3<sup>+</sup>分画
  - (4) PI陰性のCD4<sup>+</sup>、CCR4<sup>-</sup>、CXCR3<sup>-</sup>分画

(資料6：細胞数の再現性実験)

Sample	採血量 [mL]	リンパ球 [個]	分画	%cell	Sorting cell
健常者1-1	17	$2.6 \times 10^7$	Th1	0.3	217300
			Th2	0.3	165073
			Th1/Th2		1.32
			WP	0.2	125522
			WN	0.9	521596
健常者1-2	13	$3.4 \times 10^7$	Th1	0.9	267171
			Th2	0.6	207677
			Th1/Th2		1.29
			WP	0.4	131528
			WN	2.5	710538
健常者2-1	12	$3.5 \times 10^7$	Th1	0.9	275834
			Th2	0.8	260448
			Th1/Th2		1.06
			WP	0.4	149658
			WN	4	1175080
健常者2-2	12.5	$3.0 \times 10^7$	Th1	0.9	116011
			Th2	0.7	100212
			Th1/Th2		1.16
			WP	0.3	55079
			WN	3.7	609961
健常者3-1	10	$3.5 \times 10^7$	Th1	0.3	89931
			Th2	0.3	90141
			Th1/Th2		1.00
			WP	0.1	44599
			WN	2.3	622728
健常者3-2	12	$2.6 \times 10^7$	Th1	0.5	50104
			Th2	0.4	58497
			Th1/Th2		0.86
			WP	0.2	15160
			WN	2.8	277718

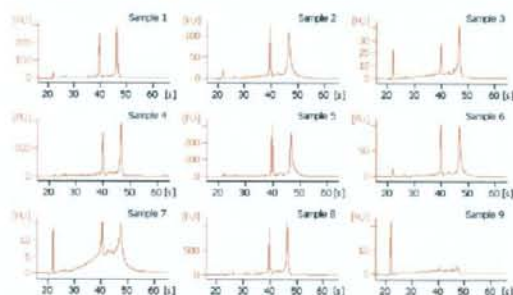
健常者3名から異なる採取日に採血した血液から細胞ソーティングを行い、Th1ヘルパーT細胞(Th1)、Th2ヘルパーT細胞(Th2)、Th1およびTh2マーカー共陽性細胞(Double Positive, WP)、Th1・Th2陰性ヘルパーT細胞(Double Negative, WN)の採取し、再現性を確認した。



(資料7: RNAの収量とクオリティーコントロール)

分画	Sample	採血量 [mL]	リンパ球 [個]	%cell	Sorting cell	totalRNA 溶出量[ $\mu$ L]	RNA Area	RNA濃度 ( $\mu$ g/ $\mu$ l)	rRNA比 [28S/18S]	RIN値
Th1	健康者1-1	17	$2.6 \times 10^7$	0.3	217300	30	963.2	2559.6	1.5682	9.8 (B.02.02)
	健康者1-2	13	$3.4 \times 10^7$	0.9	267171	30	1330.9	3536.5	1.8749	9.7 (B.02.02)
	健康者2-1	12	$3.5 \times 10^7$	0.9	275834	30	742.8	2996.9	1.8654	9.6 (B.02.02)
	健康者2-2	12.5	$3.0 \times 10^7$	0.9	116011	30	192.0	774.6	2.7857	8.1 (B.02.02)
	健康者3-1	10	$3.5 \times 10^7$	0.3	89931	30	274.0	1674.8	1.0236	5.3 (B.02.02)
	健康者3-2	12	$2.6 \times 10^7$	0.5	50104	30	274.0	1674.8	1.0236	5.3 (B.02.02)
Th2	健康者1-1	17	$2.6 \times 10^7$	0.3	165073	30	737.8	1960.5	2.1725	9.3 (B.02.02)
	健康者1-2	13	$3.4 \times 10^7$	0.6	207677	30	548.0	1456.2	1.6528	9.1 (B.02.02)
	健康者2-1	12	$3.5 \times 10^7$	0.8	260448	30	688.9	2779.4	2.4421	10.0 (B.02.02)
	健康者2-2	12.5	$3.0 \times 10^7$	0.7	100212	30	150.4	607.0	2.179	8.0 (B.02.02)
	健康者3-1	10	$3.5 \times 10^7$	0.3	90141	30	227.4	1390.1	2.6666	9.2 (B.02.02)
	健康者3-2	12	$2.6 \times 10^7$	0.4	58497	30	227.4	1390.1	2.6666	9.2 (B.02.02)
WN	健康者1-1	17	$2.6 \times 10^7$	0.9	521596	30	3569.1	9484.1	1.518	9.4 (B.02.02)
	健康者1-2	13	$3.4 \times 10^7$	2.5	710538	30	4408.8	11715.4	1.4489	9.2 (B.02.02)
	健康者2-1	12	$3.5 \times 10^7$	4	1175080	30	7782.1	31398.2	1.991	9.8 (B.02.02)
	健康者2-2	12.5	$3.0 \times 10^7$	3.7	609961	30	2327.7	9391.6	2.1019	9.8 (B.02.02)
	健康者3-1	10	$3.5 \times 10^7$	2.3	622728	30	812.8	4969.0	0.2213	8.0 (B.02.02)
	健康者3-2	12	$2.6 \times 10^7$	2.8	277718	30	812.8	4969.0	0.2213	8.0 (B.02.02)
WP	健康者1-1	17	$2.6 \times 10^7$	0.2	125522	30	255.6	679.2	2.0105	8.0 (B.02.02)
	健康者1-2	13	$3.4 \times 10^7$	0.4	131528	30	279.1	741.6	1.6428	7.3 (B.02.02)
	健康者2-1	12	$3.5 \times 10^7$	0.4	149658	30	235.9	951.8	2.3477	10.0 (B.02.02)
	健康者2-2	12.5	$3.0 \times 10^7$	0.3	55079	30	41.6	167.7	2.3923	6.6 (B.02.02)
	健康者3-1	10	$3.5 \times 10^7$	0.1	44599	30	13.5	82.6	1.7426	7.5 (B.02.02)
	健康者3-2	12	$2.6 \times 10^7$	0.2	15160	30	13.5	82.6	1.7426	7.5 (B.02.02)

Agilent BioAnalyzer 2100 泳動パターン (代表サンプル)



健康者3名から細胞ソーティングにより回収した、Th1ヘルパーT細胞(Th1)、Th2ヘルパーT細胞(Th2)、Th1およびTh2マーカー共陽性細胞(Double Positive, WP)、Th1・Th2陰性ヘルパーT細胞(Double Negative, WN)から総RNAを抽出し、総RNAのクオリティー・コントロールを行った。Agilent BioAnalyzer 2100にAgilent RNA Picoキットを用いて総RNAサンプルの泳動実験を行い、リボソームRNAの18Sと28Sの比(28S/18S比)やRIN(RNA Integrity Number)等の総RNAのクオリティー・コントロールの指標を確認した。総じて28S/18S比は1.5以上、RIN値は8以上あることが確認でき、総RNAの質は良好であることが確認された。28S/18S比1.5未満、RIN値7未満の検体は以降の実験には使用しない。

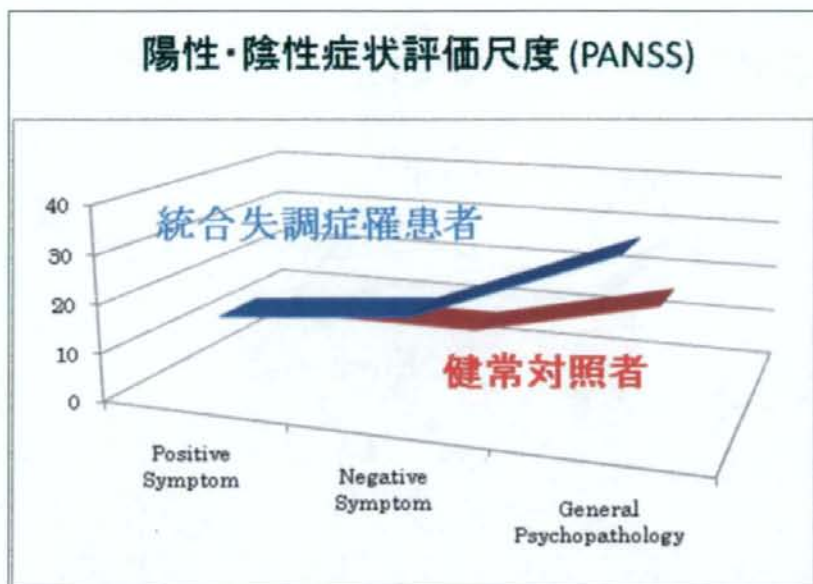
## (資料8 : Th1ヘルパーT細胞遺伝子発現プロファイル)

Gene Category	List Hits	List Total	Population Hits	Population Total	EASE score
response to biotic stimulus	35	182	755	9445	0.000002
defense response	31	182	698	9445	0.0000219
immune response	28	182	628	9445	0.0000593
response to pest/pathogen/parasite	21	182	393	9445	0.0000615
response to stress	26	182	689	9445	0.00144
antigen presentation	5	182	28	9445	0.00186
response to external stimulus	38	182	1209	9445	0.00236
antigen presentation, exogenous antigen	4	182	15	9445	0.00266
antigen processing, exogenous antigen via MHC class II	4	182	15	9445	0.00266
cytokine binding	6	187	53	9638	0.00344
MHC class II receptor activity	4	187	17	9638	0.00394
catabolism	25	182	734	9445	0.00676
cell proliferation	28	182	900	9445	0.0124
cytoplasm	84	180	3578	9342	0.0159
antigen processing	4	182	28	9445	0.0159
intracellular	124	180	5701	9342	0.019
cell death	14	182	360	9445	0.0209

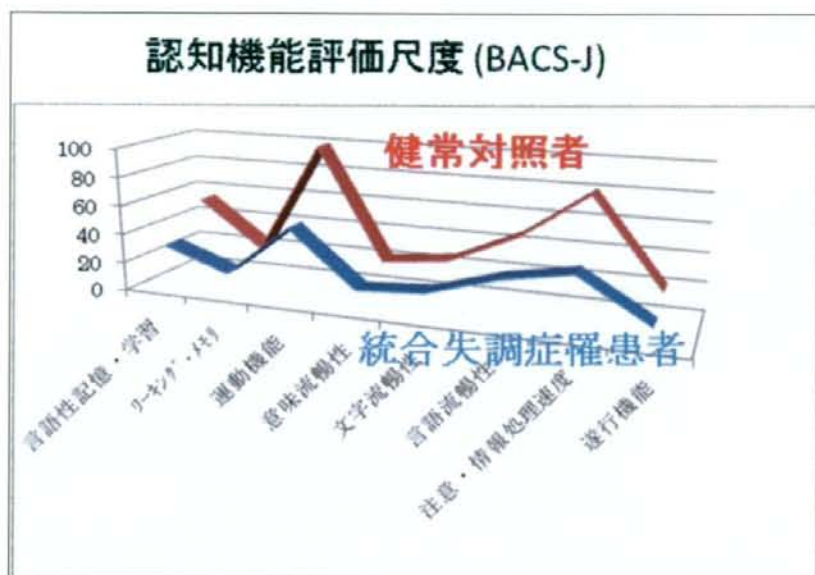
(資料9 : Th2ヘルパーT細胞遺伝子発現プロファイル)

Gene Category	List Hits	List Total	Population Hits	Population Total	EASE score
cell death	13	128	360	9445	0.00326
death	13	128	364	9445	0.00357
RNA binding	13	131	380	9638	0.00517
apoptosis	12	128	335	9445	0.00538
programmed cell death	12	128	336	9445	0.0055
regulation of apoptosis	8	128	185	9445	0.0123
isomerase activity	5	131	91	9638	0.0344
mRNA splicing	3	128	22	9445	0.0348
intramolecular isomerase activity	3	131	24	9638	0.0411

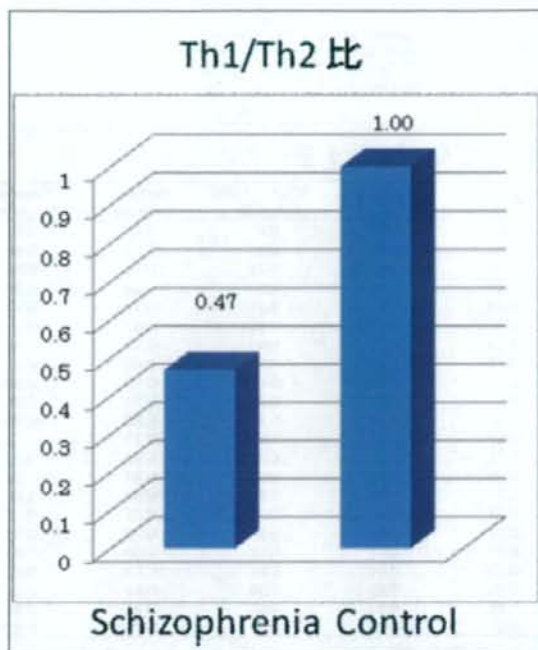
(資料 10 : 統合失調症陽性・陰性症状評価尺度)



(資料 1 1 : 統合失調症認知機能評価尺度)



(資料 1 2 : ヘルパーT細胞サブクラスTh1/Th2の細胞数比)



(資料13: 統合失調症に関連してTh1細胞で発現異常を認める遺伝子群)

Th1に発現する遺伝子	21427
統合失調症のTh1細胞で増えている遺伝子	51
統合失調症のTh1細胞で減っている遺伝子	402
合計 (FC>1.2, p<0.05)	453

Th1細胞で陰性症状に顕著に関連して発現変化を受ける遺伝子群

Th1		FC	P	Th1/Th2	ワキング・メモ	注意・情報処理速度	Positive Symptom	Negative Symptom
ACTR10	6650698	0.32	0.00	0.65	0.62	0.90	-0.62	-0.82
C6ORF72	4560474	0.22	0.00	0.41	0.98	0.88	-0.80	-0.87
CDK2AP1	60575	0.19	0.00	0.56	0.65	0.74	-0.74	-0.88
CERK	2070634	0.53	0.00	0.42	0.85	0.95	-0.40	-0.82
GLE1L	7570746	0.27	0.00	0.62	0.64	0.87	-0.77	-0.82
HS.561747	4900064	0.18	0.00	0.55	0.87	0.95	-0.63	-0.86
IL10RA	5220536	0.58	0.00	0.31	0.79	0.80	-0.72	-0.92
INFS1	7400238	0.46	0.01	0.37	0.75	0.92	-0.67	-0.81
KCTD2	1190300	0.36	0.00	0.53	0.68	0.86	-0.60	-0.83
LSMZ	4280138	0.37	0.00	0.57	0.59	0.78	-0.54	-0.88
MTMR2	4830561	0.24	0.00	0.12	0.76	0.70	-0.83	-0.80
MYADM	1340086	0.22	0.00	0.43	0.79	0.80	-0.73	-0.87
PHYDHL1	6650373	0.49	0.00	0.31	0.92	0.95	-0.87	-0.83
PLEKHG3	3420193	0.31	0.00	0.50	0.55	0.67	-0.70	-0.84
PPP1R7	2640588	0.31	0.00	0.31	0.83	0.67	-0.60	-0.81
RPL36AL	7000682	0.21	0.00	0.58	0.57	0.76	-0.63	-0.81
SLC25A20	6840017	0.30	0.00	0.51	0.91	0.90	-0.68	-0.80
SLC35A5	6370467	0.19	0.00	0.42	0.81	0.82	-0.80	-0.86
SLC8A6	4070671	0.36	0.01	0.57	0.64	0.89	-0.53	-0.81
TADA3L	7550618	0.50	0.00	0.68	0.53	0.80	-0.64	-0.81
USP4	3370437	0.46	0.00	0.28	0.83	0.83	-0.71	-0.84
ZNF46	4730085	0.27	0.00	0.51	0.69	0.94	-0.72	-0.82

Th1細胞でTh1/Th2バランス変化に顕著に関連して発現変化を受ける遺伝子群

Th1		FC	P	Th1/Th2	ワキング・メモ	注意・情報処理速度	Positive Symptom	Negative Symptom
EIF3S12	5490445	0.68	0.01	0.83	0.75	0.97	-0.47	-0.67
ELF1	4250382	0.32	0.05	0.88	0.51	0.84	-0.38	-0.58
MRPS35	4670380	0.44	0.03	0.82	0.77	0.88	-0.21	-0.64
RP3S18	4540414	0.53	0.02	0.87	0.35	0.71	-0.40	-0.61

(資料 1 4 : 統合失調症に関連してTh2細胞で発現異常を認める遺伝子群)

Th2に発現する遺伝子	21601
統合失調症のTh2細胞で増えている遺伝子	92
統合失調症のTh2細胞で減っている遺伝子	90
合計 (FC>1.2, p<0.05)	182

Th2細胞で陰性症状に顕著に関連して発現変化を受ける遺伝子群

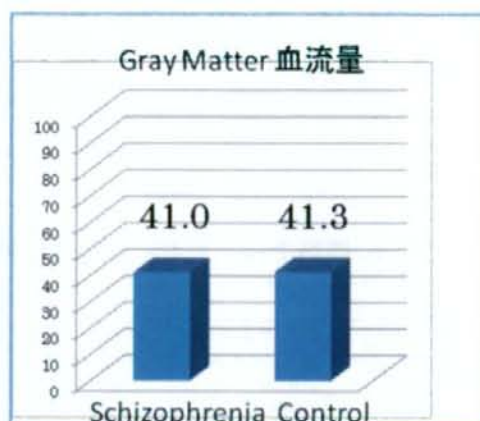
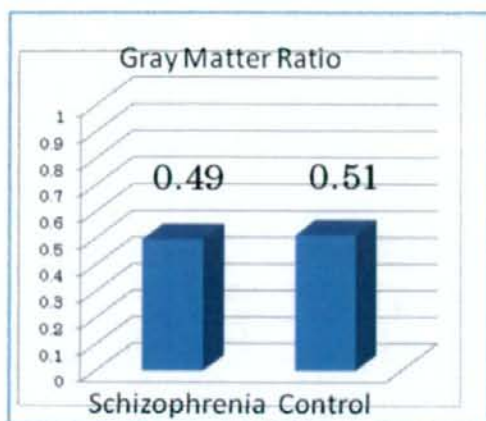
		FC	P	Th1/Th2	ワーキングメモリ	注意・情報処理速度	Positive Symptom	Negative Symptom
BCI2	1850278	2.95	0.00	-0.25	-0.46	-0.62	0.62	0.81
DTX3	580201	1.71	0.00	-0.64	-0.70	-0.82	0.79	0.83
KLKB1	4210388	3.56	0.00	-0.50	-0.65	-0.82	0.77	0.89
SNORD15B	2120528	14.71	0.00	-0.34	-0.58	-0.72	0.87	0.88
WHDG11.2	6220188	13.52	0.03	-0.34	-0.51	-0.62	0.66	0.81

Th2細胞でTh1/Th2バランス変化に顕著に関連して発現変化を受ける遺伝子群

		FC	P	Th1/Th2	ワーキングメモリ	注意・情報処理速度	Positive Symptom	Negative Symptom
GTF2IRD2	4480152	0.54	0.03	0.72	0.80	0.85	-0.31	-0.68
HERC3	4860138	0.30	0.04	0.71	0.81	0.82	-0.48	-0.58
LIMD1	270504	-0.13	0.01	0.71	0.84	0.80	-0.58	-0.75



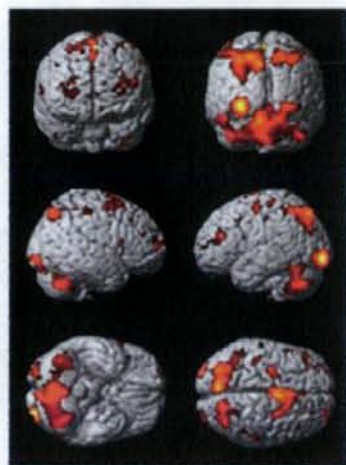
(資料15：構造MRI 灰白質の容積・血流と臨床症状との相関)



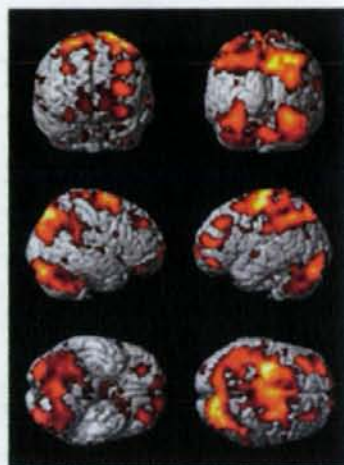
	GMR	GM CBF
Positive Symptom	-0.46	-0.27
Negative Symptom	-0.07	-0.09
General Psychopathology	-0.15	-0.15

(資料16：機能MRI 2-Back作業記憶課題による脳血流の賦活)

### 2-Back課題による脳血流の賦活



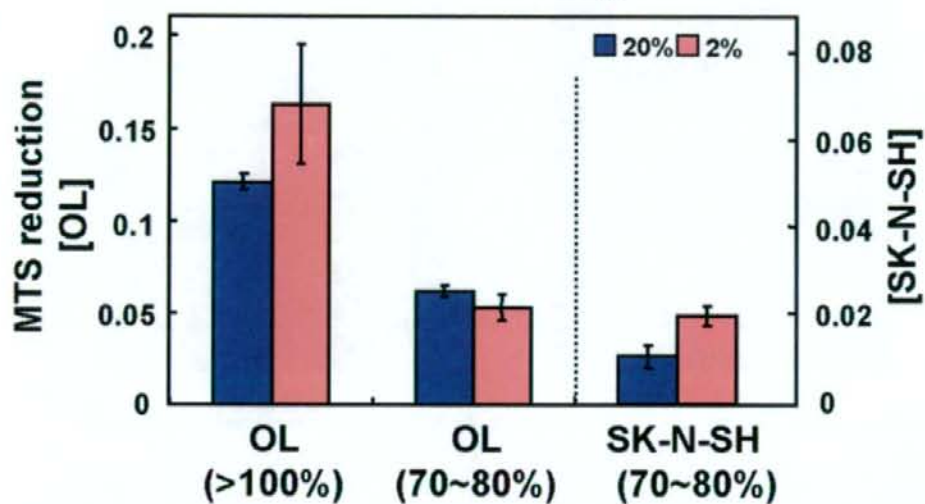
Schizophrenia



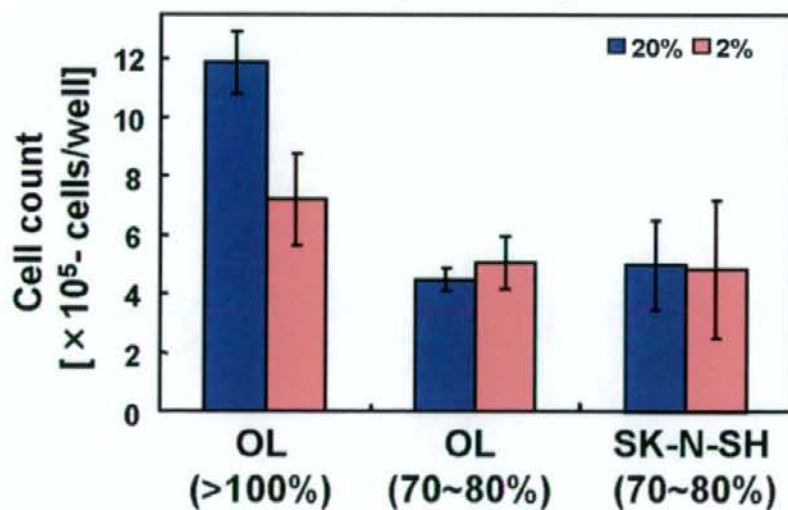
Control

(資料17: 低酸素状態下での神経細胞由来・オリゴデンドロサイト由来培養細胞の細胞増殖とミトコンドリア活性)

### MTS Assay



### Cytometry



(資料18：低酸素状態下培養におけるOL細胞培養液中の乳酸の濃度)

