

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09809

研究課題名(和文) うつ病における幼少期の環境ストレス・自殺・病期と末梢血メチル化の関連研究

研究課題名(英文) Association of DNA methylation with child abuse, suicidal behavior, and stage of illness in major depressive disorder

研究代表者

沼田 周助 (NUMATA, Shusuke)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・准教授

研究者番号：10403726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、うつ病患者において、幼少期のストレスが白血球のDNAメチル化に関与するかどうか、自殺企図の有無で白血球のDNAメチル化に違いがあるかどうか、の検討を行った。結果、幼少期のストレスが特定の遺伝子のメチル化レベルに影響を与える可能性とセロトントランスポーター遺伝子のプロモータ領域における特定のCpGサイトのメチル化レベルが自殺企図を予測する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The main aim of the present study is to examine whether childhood abuse experiences and suicidal behaviors are involved in DNA methylation of peripheral leukocytes from major depressive disorder. Our results suggest that childhood abuse experiences are associated with methylation levels in the specific genes and suicidal behaviors are linked to altered methylation in the promoter region of the serotonin transporter gene.

研究分野：エビジェネティクス

キーワード：depression DNA methylation blood child abuse suicidal behavior

1. 研究開始当初の背景

DNA メチル化はエピジェネティクス機構の1つで、哺乳類のほとんどのDNAメチル化はシトシン塩基(C)とグアニン塩基(G)の順に並んだ CpG 配列上のシトシンで起こる。動物実験では、幼少期のストレスなどの環境要因が特定の遺伝子のDNAメチル化に影響を与え、遺伝子発現や行動を変えることが報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、うつ病患者において、幼少期のストレスが白血球のDNAメチル化に関与するかどうか、自殺企図の有無で白血球のDNAメチル化に違いがあるかどうか、の検討を行った。

3. 研究の方法

うつ病患者56名について、採血後にゲノミックDNAを抽出し、バイサルファイト処理し、イルミナ社製の Infinium Human Methylation450 Beadchip を用いてゲノムワイドにメチル化レベルを測定し(485764 CpG サイト)、child abuse and trauma scale (CATS)で評価した幼少期の環境ストレスの程度との関連を、メチル化率を従属変数、年齢、性別、Hamilton Depressive Rating Scale (HAM-D)、CATS を独立変数として、回帰分析で調べた。自殺とのメチル化との関連では、うつ病の患者28名の白血球から抽出したゲノミックDNAを使用し、バイサルファイト処理を行った後、Qiagen の PyroMarkQ24 でセロトニントランスポーター遺伝子のプロモータ領域の9 CpG サイトのメチル化レベルを測定し、自殺企図有り群と無し群を比較した。

4. 研究成果

解析対象とした366216サイトの内、22のサイトにおいてメチル化レベルとHEQスコアの間に関連を認めた($p < 0.0001$)。うつ病患者の自殺企図有り群と無し群での比較では、測定した9のサイトの内、2つのサイトにおいて2群間に有意なメチル化レベルの違いを認めた($p < 0.05$)。これらの結果から、幼少期のストレスが特定の遺伝子のメチル化レベルに影響を与える可能性とセロトニントランスポーター遺伝子のプロモータ領域における特定の CpG サイトのメチル化レベルが自殺企図を予測する可能性が示唆された。今後、サンプル数を増やしての検討が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計16件)

1. Umehara H, Numata S, Watanabe SY, Hatakeyama Y, Kinoshita M, Tomioka Y, Nakahara K, Nikawa T, Ohmori T. Altered KYN/TRP, Gln/Glu, and Met/methionine sulfoxide ratios in the blood plasma of medication-free patients with major depressive disorder. *Sci Rep.* 2017 Jul 7;7(1):4855.doi:10.1038/s41598-017-05121-6. 査読有
2. Nishi A, Numata S, Tajima A, Zhu X, Ito K, Saito A, Kato Y, Kinoshita M, Shimodera S, Ono S, Ochi S, Imamura A, Kurotaki N, Ueno SI, Iwata N, Fukui K, Imoto I, Kamiya A, Ohmori T. De novo non-synonymous TBL1XR1 mutation alters Wnt signaling activity. *Sci Rep.* 2017 Jun 6;7(1):2887.doi:10.1038/s41598-017-02792-z. 査読有
3. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Watanabe S, Umehara H, Shimodera S, Nakazawa T, Kikuchi M, Nakaya A, Hashimoto H, Imoto I, Hashimoto R, Ohmori T. Effect of Clozapine on DNA Methylation in Peripheral Leukocytes from Patients with Treatment-Resistant Schizophrenia. *Int J Mol Sci.* 2017 Mar 14;18(3).doi:10.3390/ijms18030632. 査読有
4. Watanabe SY, Numata S, Iga JI, Kinoshita M, Umehara H, Ishii K, Ohmori T. Gene expression-based biological test for major depressive disorder: an advanced study. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2017 Feb 21;13:535-541.doi:10.2147/NDT.S120038. 査読有

5. Kubo H, Nakataki M, Sumitani S, Iga JI, Numata S, Kameoka N, Watanabe SY, Umehara H, Kinoshita M, Inoshita M, Tamaru M, Ohta M, Nakayama-Yamauchi C, Funakoshi Y, Harada M, Ohmori T. 1H-magnetic resonance spectroscopy study of glutamate-related abnormality in bipolar disorder. *J Affect Disord.* 2017 Jan 15;208:139-144.doi:10.1016/j.jad.2016.08.046. 査読有
6. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Nishi A, Muraki S, Tsuchiya A, Umehara H, Watanabe SY, Imoto I, Ohmori T. Cumulative effect of the plasma total homocysteine-related genetic variants on schizophrenia risk. *Psychiatry Res.* 2016 Dec 30;246:833-837.doi:10.1016/j.psychres.2016.10.017. 査読有
7. Yoshino Y, Kawabe K, Mori T, Mori Y, Yamazaki K, Numata S, Nakata S, Yoshida T, Iga J, Ohmori T, Ueno S. Low methylation rates of dopamine receptor D2 gene promoter sites in Japanese schizophrenia subjects. *World J Biol Psychiatry.* 2016 Sep;17(6):449-456.doi:10.1080/15622975.2016.1197424. 査読有
8. Umehara H, Numata S, Tajima A, Nishi A, Nakataki M, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. Calcium Signaling Pathway Is Associated with the Long-Term Clinical Response to Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI) and SSRI with Antipsychotics in Patients with Obsessive-Compulsive Disorder. *PLoS One.* 2016 Jun 9;11(6):e0157232.doi:10.1371/journal.pone.0157232. 査読有
9. Umehara H, Numata S, Kinoshita M, Watanabe S, Nakaaki S, Sumitani S, Ohmori T. No association between BDNF Val66Met polymorphism and treatment response in obsessive-compulsive disorder in the Japanese population. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016 Mar 11;12:611-615.doi:10.2147/NDT.S102100. 査読有
10. Nakazawa T, Hashimoto R, Sakoori K, Sugaya Y, Tanimura A, Hashimotodani Y, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Umeda-Yano S, Kiyama Y, Konno K, Inoue T, Yokoyama K, Inoue T, Numata S, Ohnuma T, Iwata N, Ozaki N, Hashimoto H, Watanabe M, Manabe T, Yamamoto T, Takeda M, Kano M. Emerging roles of ARHGAP33 in intracellular trafficking of TrkB and pathophysiology of neuropsychiatric disorders. *Nat Commun.* 2016 Feb 3;7:10594.doi:10.1038/ncomms10594. 査読有
11. Umehara H, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Nakaaki S, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. No association between the COMT Val158Met polymorphism and the long-term clinical response in obsessive-compulsive disorder in the Japanese population. *Hum Psychopharmacol.* 2015 Sep;30(5):372-376.doi:10.1002/hup.2485. 査読有
12. Mori Y, Yoshino Y, Ochi S, Yamazaki K, Kawabe K, Abe M, Kitano T, Ozaki Y, Yoshida T, Numata S, Mori T, Iga J, Kuroda N, Ohmori T, Ueno S. TREM2 mRNA Expression in Leukocytes Is Increased in Alzheimer's Disease and

- Schizophrenia. *PLoS One*. 2015 Sep 2;10(9):e0136835.doi:10.1371/journal.pone.0136835. 査読有
13. Watanabe SY, Iga J, Numata S, Umehara H, Nishi A, Kinoshita M, Inoshita M, Ohmori T. Polymorphism in the promoter of the gene for the serotonin transporter affects the age of onset of major depressive disorder in the Japanese population. *J Affect Disord*. 2015 Sep 1;183:156-158.doi:10.1016/j.jad.2015.05.009. 査読有
 14. Watanabe SY, Iga J, Ishii K, Numata S, Shimodera S, Fujita H, Ohmori T. Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene expression assays. *J Psychiatr Res*. 2015 Jul-Aug;66-67:1-6.doi:10.1016/j.jpsychires.2015.03.004. 査読有
 15. Numata S, Kinoshita M, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Ohmori T. Evaluation of an association between plasma total homocysteine and schizophrenia by a Mendelian randomization analysis. *BMC Med Genet*. 2015 Jul 26;16:54.doi:10.1186/s12881-015-0197-7. 査読有
 16. Inoshita M, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Umehara H, Yamamori H, Hashimoto R, Imoto I, Ohmori T. Sex differences of leukocytes DNA methylation adjusted for estimated cellular proportions. *Biol Sex Differ*. 2015 Jun 25;6:11. doi:10.1186/s13293-015-0029-7. 査読有
- [学会発表](計 12 件)
1. 沼田周助、縦断研究から同定したうつ病の血漿バイオマーカー、第 10 回脳表
 - 現型の分子メカニズム研究会、2018 年 2 月 3 日、産業医科大学
 2. 沼田周助、うつ病の血漿バイオマーカー、cocoro うつ病客観的診断基準 meeting、2017 年 12 月 10 日、東京大学
 3. 沼田周助、梅原英裕、大森哲郎、DNA methylation of the serotonin transporter gene in obsessive-compulsive disorder、第 39 回日本生物学的精神医学会、2017 年 9 月 28 日、札幌コンベンションセンター
 4. Numata Shusuke, Blood Diagnostic Biomarkers for Major Depressive Disorder using Multiplex DNA Methylation Profiles、13th world congress of biological psychiatry、2017 年 6 月 18 日、Bella Center Copenhagen
 5. 沼田周助、治療抵抗性統合失調症治療薬クロザピン；治療反応関連因子と増強療法、第 12 回日本統合失調症学会、2017 年 3 月 24 日、米子コンベンションセンター
 6. 沼田周助、菊地正隆、中澤敬信、橋本亮太、治療抵抗性統合失調症における ips 細胞を用いたクロザピン反応性の DNA メチル化解析、第 26 回日本臨床精神神経薬理学会、2016 年 11 月 17 日、ホルトホール大分
 7. 沼田周助、*De novo* single-nucleotide variants in sporadic schizophrenia、第 38 回日本生物学的精神医学会、2016 年 9 月 8 日、福岡国際会議場
 8. 沼田周助、DNA メチル化修飾を利用したうつ病の診断マーカー開発の取り組み、第 13 回日本うつ病学会総会、2016 年 8 月 5 日、ウインクあいち
 9. 沼田周助、大森哲郎、うつ病の診断および治療反応性予測マーカーの検討、第 112 回日本精神神経学会学術総会、2016 年 6 月 2 日、幕張メッセ
 10. NUMATA S, KINOSHITA M, TAJIMA A, OHI K, HASHIMOTO R, SHIMODERA S, IMOTO I, TAKEDA M, OHMORI T. The effect of blood cellular heterogeneity on DNA methylation in schizophrenia. Society for Neuroscience 2015 annual Meeting、2015 年 10 月 17 日、McCormick

Place

11. 沼田周助、石井一夫、大森哲郎、気分障害の診断バイオマーカーの探索、第111回日本精神神経学会学術総会、2015年6月4日、大阪国際会議場
12. 沼田周助、木下誠、大森哲郎、One-Carbon Metabolism に着目した統合失調症の病態解明と治療法開発、第111回日本精神神経学会学術総会、2015年6月4日、大阪国際会議場

〔図書〕(計 8 件)

1. 沼田周助、大森哲郎、双極性障害の生物学的マーカー、加トテヒ、Vol.35, No5, p58-61, 2017
2. 沼田周助、大森哲郎、うつ病のメチレーションバイオマーカー、分子精神医学、先端医学社、Vol 17. No.3. p. 40-p.46. 2017
3. 沼田周助、大森哲郎、うつ病の血液バイオマーカー、日本臨床、第75巻・第10号、p1502-1507, 2017
4. 沼田周助、伊賀淳一、大森哲郎、うつ病の血液診断マーカー、うつ病臨床のこんな疑問に答える (Depression Frontier2) 分筆、医薬ジャーナル社、p.61-p.67. 2016
5. 沼田周助、統合失調症、抗精神病薬の副作用対応、精神科外来処方 navi、文筆、中外医学社、P3-9.2016
6. 沼田周助、木下誠、大森哲郎、統合失調症の DNA メチル化修飾異常、日本生物学的精神医学会誌、Vol 26. No.1. p. 7-p.14. 2015
7. 沼田周助、木下誠、ここまでわかった統合失調症の病態メカニズム、Mebio(メジカルビュー社)、Vol.32. No.10. p.4-p.10. 2015
8. 沼田周助、大森哲郎、うつ病のエピゲノム研究、認知症などの器質性疾患の前触れとしてのうつ病・うつ状態 (Depression Frontier 1) 分筆、医薬ジャーナル社、p.133-p.146. 2015

6. 研究組織

(1)研究代表者

沼田 周助 (NUMATA, Shusuke)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・准教授

研究者番号：10403726