

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19748

研究課題名(和文)精神疾患の診断におけるepigenetic biomarkerの開発

研究課題名(英文)Identifying common and distinctive epigenetic biomarkers for schizophrenia and bipolar disorder

研究代表者

菅原 裕子 (Sugawara, Hiroko)

熊本大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90610692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症のメチル化関連解析でいずれもメチル化率の低下が検出された上位5ヶ所の候補領域に関して、多数例の双極性障害患者末梢試料を用いてメチル化率の定量を行った。5か所のうち、染色体16番 intergenic領域では男女ともに双極性障害において有意なメチル化率の低下が認められたが、FAM63Bでは男性のみで有意なメチル化率の低下が認められた。TBC1D22Aでは、統合失調症ではメチル化率の低下が報告されているのに対し、女性の双極性障害患者において有意にメチル化率が高かった。本研究において、統合失調症と双極性障害において共通ならびに特有のエピゲノム要因が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We analyzed DNA methylation levels of the top five regions, which showed hypomethylation in methylome-wide association study in schizophrenia(SZ), using the large sample consisted of peripheral blood of bipolar disorder(BD) patients and healthy controls(CT). Among the five regions, significant differences of DNA methylation level between BD and CT were detected in the three regions; FAM63B, TBC1D22A and intergenic region in ch16. Detailed analysis focusing on sex revealed the hypomethylation in intergenic region in ch16 in both male and female BD, and hypomethylation in FAM63B in male BD. On the other hand, we identified hypermethylation of the CpG sites in TBC1D22A in female BD. We identified common and distinctive epigenetic alterations between BD and SZ. These findings help to understand the pathophysiology of mental disorders and may contribute to develop the epigenetic-based biomarker using peripheral blood samples.

研究分野：医歯薬学

キーワード：エピジェネティクス DNAメチル化 MWAS 統合失調症 双極性障害

## 1. 研究開始当初の背景

双生児研究などの疫学研究によって統合失調症や双極性障害の遺伝率は 60~80% と高いことが知られている。ゲノム解析技術の向上に伴い、数十万ヶ所の一塩基多型 (SNP) をマーカーとし、数千~数万人を対象とした大規模な genome-wide association study (GWAS) が盛んに行われている。しかし統合失調症や双極性障害において、多数の候補遺伝子が同定されているものの、オッズ比が 2 を超えるような効果の大きい遺伝因子は同定されていない。一方で、様々な精神疾患は共通の遺伝要因をもつこと、特に統合失調症と双極性障害は遺伝要因の重なりが大きいことが明らかにされている。

エピジェネティクスの分子基盤の 1 つである DNA メチル化は環境要因の影響を受けて変化し、遺伝子の長期的な発現調節に寄与することから、環境要因の作用メカニズムに関する知見を得ることができる。近年まで、BDNF や神経伝達物質受容体遺伝子など、神経機能に重要な役割を持つ遺伝子のエピジェネティックな状態に焦点をあてたケースコントロール研究が盛んに行われてきており、これまでに申請者らもセロトニントランスポーターを中心とした解析を行ってきており、双極性障害患者でのメチル化差異を見出している (Sugawara et al., *Transl Psychiatry* 2012)。

しかし近年、DNA メチル化解析においても、全ゲノムを対象とし大規模なサンプルを用いた methylome-wide association study (MWAS) が行われるようになりつつある。Aberg らの研究では、統合失調症患者 759 名と健常者 738 名の末梢血由来の DNA を用い、メチル化領域を MBD 蛋白質で濃縮し次世代シーケンサーによる解析を行っている。その結果、合計 5 領域 (FAM63B, ARHGAP26, CTAGE11P, TBC1D22A, 染色体 16 番 intergenic 領域) の DNA メチル化差異が同定されている (Aberg et al., *JAMA Psychiatry* 2014)。これらの領域に関しては、2 つの独立したサンプルセット (統合失調症患者 178 名と健常者 182 名、統合失調症患者 561 名と健常者 582 名) でも同様のメチル化差異が確認されていることから、MWAS のアプローチにより初めて同定された確実なエピジェネティック因子とすることができる。

これまで遺伝要因が精神疾患間である程度共通しているという知見は得られているが、エピジェネティックな要因が疾患間で共通しているかどうかの検討はなされていない。以上のような経緯から、統合失調症の MWAS で同定された 5 カ所の候補領域に関して、大規模な双極性障害患者試料を用いて DNA メチル化解析を行い、統合失調症と双極性障害の共通のエピジェネティック要因の有無について検討を行う、本研

究課題の着想に至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、統合失調症のメチローム解析で同定された候補領域に関して、多数例の双極性障害患者および健常者の末梢血試料を用いて DNA メチル化測定を行う。これにより、遺伝要因の一部を共有する両疾患における共通のメチル化変化の存在について、大規模な検討を行うことができる。

統合失調症と双極性障害において共通のメチル化変化が同定された場合、遺伝要因に加えてエピジェネティックな要因も両疾患の病因・病態と深く関与していることが示唆される。この場合、精神疾患における共通の脆弱性や発症の閾値決定に関係していると考えられ、精神疾患の病因・病態解明に大きく貢献すると期待される。また、精神疾患全般を検出するマーカーとして将来的な利用が期待される。両疾患において共通のメチル化変化が同定されなかった場合、エピジェネティックなアプローチにより統合失調症と双極性障害の鑑別に応用できる可能性がある。

## 3. 研究の方法

年齢・性別をマッチさせた双極性障害患者ならびに健常者 (各 500 名) の末梢血由来 DNA を用いて、統合失調症のメチローム解析でメチル化差異が同定された 5 つの候補領域 (FAM63B, ARHGAP26, CTAGE11P, TBC1D22A, 染色体 16 番 intergenic 領域) に関して pyrosequencing 法によるメチル化率の定量を行い、双極性障害患者と健常者の比較を行う。

## 4. 研究成果

5 ヶ所の候補領域のうち 3 ヶ所 (FAM63B、TBC1D22A、染色体 16 番 intergenic 領域) において、双極性障害患者と健常者間で有意なメチル化率の差異が検出された。染色体 16 番 intergenic 領域の 2 つの CpG 部位では男女ともに双極性障害において有意なメチル化率の低下が認められた (図 1) が、FAM63B の 3 つの CpG 部位では男性のみで有意なメチル化率の低下が認められた (図 2)。TBC1D22A の 3 つの CpG 部位では、統合失調症ではメチル化率の低下が報告されているのに対し、女性の双極性障害患者において有意にメチル化率が高かった (図 3)。

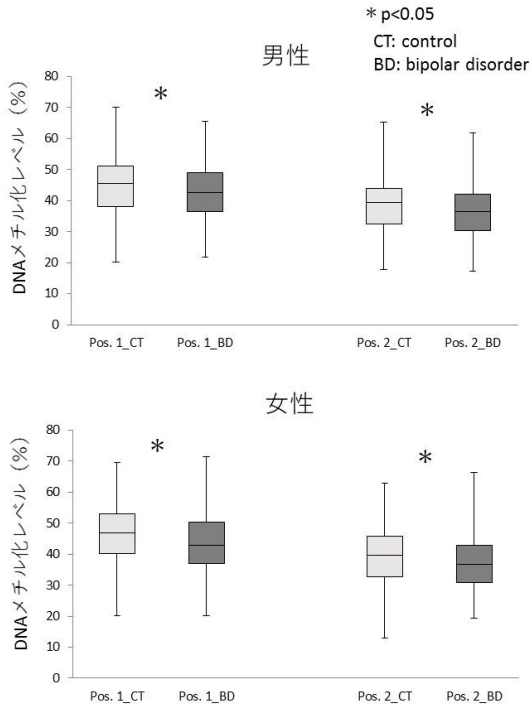


図 1 : 染色体 16 番 Intergenic 領域における DNA メチル化レベル

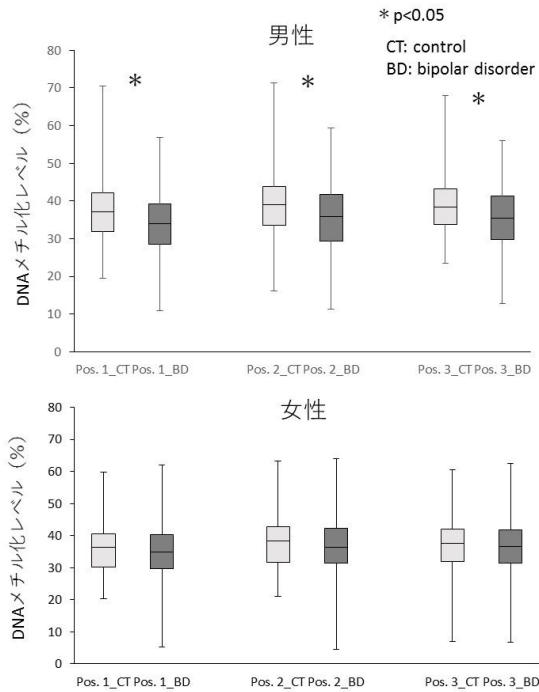


図 2 : FAM63B における DNA メチル化レベル

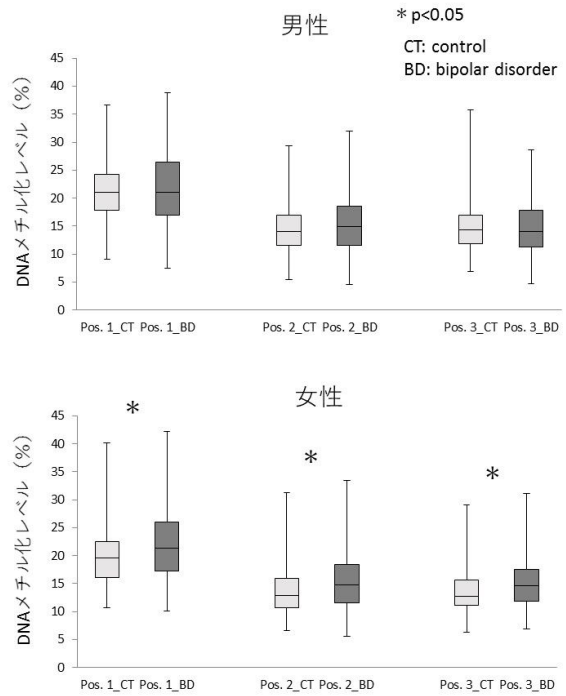


図 3 : TBC1D22A における DNA メチル化レベル

FAM63B と染色体 16 番の intergenic 領域のメチル化変化は統合失調症と双極性障害における共通のエピゲノム要因である可能性が考えられる一方で、TBC1D22A のメチル化変化は疾患特有のエピゲノム要因である可能性が示唆された。

今後は、未投薬の精神疾患患者（統合失調症、双極性障害、うつ病）から採取した末梢血を用いて候補領域のメチル化レベルを測定し、各疾患と健常者との比較を行い、精神疾患の診断における epigenetic biomarker としての有用性について検討を行っていく。

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 2件)

菅原裕子、日高洋介、文東美紀、岩本和也 精神ストレスとエピゲノム応答、最新医学、印刷中 (査読無)

Sugawara H, Bundo M, Asai T, Sunaga F, Ueda J, Ishigooka J, Kasai K, Kato T, Iwamoto K. Effects of quetiapine on DNA methylation in neuroblastoma cells. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 2015 56:117-121. (査読有)  
DOI: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.010

〔学会発表〕(計 4件)

Sugawara H, Bundo M, Ikegame T, Saida H, Kondo K, Ikeda M, Iwata N, Ishigooka J, Kasai K, Kato T, Iwamoto K. Identifying common and distinctive epigenetic alterations between bipolar disorder and schizophrenia. 30<sup>th</sup> CINP World Congress Neuropsychopharmacology, 2016/7/2-7/4, ソウル(韓国)

菅原裕子、文東美紀、池亀天平、才田晴美、近藤健治、池田匡志、岩田仲生、石郷岡純、加藤忠史、岩本和也。統合失調症と双極性障害における共通ならびに特有のエピジェネティック要因についての検討。第46回日本神経精神薬理学会 2016/7/2-7/3, ソウル(韓国)

菅原裕子、文東美紀、池亀天平、才田晴美、近藤健治、池田匡志、岩田仲生、石郷岡純、加藤忠史、岩本和也。統合失調症の双極性障害におけるエピジェネティック要因の重なりについて。第13回日本うつ病学会総会 2016/8/5-8/6, ウィンクあいち(愛知県・名古屋市)

菅原裕子、文東美紀、池亀天平、近藤健治、池田匡志、岩田仲生、石郷岡純、加藤忠史、岩本和也。統合失調症の双極性障害におけるエピゲノム要因の共通性と特異性についての検討。第38回日本生物学的精神医学会・第59回日本神経科学大会 2016/9/8-9/10, 福岡国際会議場(福岡県博多市)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

菅原 裕子 (SUGAWARA, Hiroko)

熊本大学医学部附属病院・神経精神科・医員

研究者番号: 90610692

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者

岩本 和也 (IWAMOTO, Kazuya)

熊本大学大学院生命科学研究部・分子脳科学分野・教授

研究者番号: 40342753

文東 美紀 (BUNDO, Miki)

熊本大学大学院生命科学研究部・分子脳科学分野・准教授

研究者番号: 00597221

(4)研究協力者 なし