

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：16301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15563

研究課題名(和文)エクソーム解析と遺伝子発現解析を利用した精神障害の解析研究

研究課題名(英文) Exome and Expression analyses of mental disorders.

研究代表者

上野 修一 (Ueno, Shuichi)

愛媛大学・医学系研究科・教授

研究者番号：80232768

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：2つの家系解析を行った。1つめの家系は、7名の発症者があり、知的障害、筋力低下、幻覚妄想を認めた。2つめの家系は、4人同胞のうち2名が二次性徴がなく知的障害を認めた。双方の病因遺伝子の決定のため、倫理委員会で承認されたインフォームドコンセントの後、血液を採取し解析した。その結果、最初の家系では7遺伝子まで絞り込めたものの決め手がなく病因遺伝子は決定できていない。次の家系では、1遺伝子変異を確認したが、劣性遺伝と考えられるものの発症者はヘテロ接合性であり、末梢血白血球mRNA発現解析でも変化していなかった。以上から、新たな症例や家系の追加やモデル動物を用いた研究を追加する必要があると思われる。

研究成果の概要(英文)：To study the genes of mental disorders, I studied 2 families by exome and expression analyses. One family had 7 members with mental retardation, muscle weakness, and psychosis. Another family had mental retardation without secondary sexual development. With informed consents, exome analyses were held in these two family members. In the first family, I addressed 7 genes but did not decide the responsible gene yet. In the second family, one gene might have a disease specific mutation. Although the disease is suggested as an autosomal recessive one, two affected members were heterozygotes, so we studied the mRNA expression of the gene in their leukocytes but there were no expressional changes in either affected members. Further studies should be needed to understand their pathogeneses by adding other family members or other families diagnosed as the same disease and/or by studying the disorders with knockout animal models.

研究分野：精神医学

キーワード：エクソーム解析 家系解析 精神障害 遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

最近の医学研究の進展により、次世代シーケンサーを利用した遺伝性精神神経疾患の病因遺伝子の探索が可能となった。私は全遺伝子のエクソン部分を解読するエクソーム解析法を用い、症例から稀な遺伝病を診断し、その遺伝子の性質から一般的な精神障害の解析に利用することにより精神障害に接近することを考え、報告してきた。

2. 研究の目的

今回、私が実地臨床で経験した診断が未確定の濃厚な家族歴を持つ家系症例の診断に、1) エクソーム解析法を利用し遺伝子解析を行い、2) 候補となる病因遺伝子の末梢血白血球での遺伝子発現変化を調べることで病因遺伝子を明らかにする手法を確立することとした。そして、遺伝性疾患と同様の病態を呈する精神障害の病態診断に生かせるバイオマーカーを発見することを目的とする。このように、エクソーム解析と遺伝子発現解析を組み合わせれば、原因不明の精神障害の新たな切り口が発見できると思われる。

3. 研究の方法

私が、精神神経疾患の診断、治療に携わる中、診断未確定の遺伝性精神神経疾患患者の家系例を経験しており、これらの患者さんの中で、本研究の意義を説明し、了解いただいた発症者、非発症者のボランティアから末梢血血液の試料の提供をいただく。この研究は、愛媛大学倫理委員会承認されており、書面を用いたインフォームドコンセントを使用している。これらの試料から、常法に基づき遺伝子DNAを回収後、エクソーム解析により遺伝子をコードしている部分の遺伝子配列を決定する。この中から、常染色体優性や常染色体劣性遺伝など遺伝情報に基づき、ソフトウエアを用いて疾患特異的遺伝子群に特異的な多型を確認し、候補遺伝子を決定する。病因遺伝子の選択については、遺伝子オンロジー解析も必要に応じて行う。

これらの候補遺伝子のうち、病因遺伝子の可能性が高いものについて、家系内の発症者と非発症者の末梢血白血球中で発現している遺伝子に注目し、白血球中の遺伝子中間産物 mRNA 量を、末梢血白血球から RNA 分画を情報に基づき抽出後、逆転写し相補的 DNA を作成後、Taqman probe を用いた real time PCR 法を用いて定量し、比較する。変化があった遺伝子については、我々の持つ精神障害患者および健常対照群データベースを用いて、遺伝子 mRNA 発現量を調べる。

4. 研究成果

まず、2つの濃厚な家系の解析を行った。1つめの家系は、7名の発症者があり、知的障害、筋力低下、幻覚妄想を認めるもので、常染色体優性遺伝が考えられる家系である。2つめの家系は、4人同胞のうち2名が二次

性徴がなく知的障害を認めた。おそらくは劣性遺伝と思われる症例であった。双方の病因遺伝子の決定のため、血液を採取し解析した。その結果、最初の家系では7遺伝子まで絞り込めたものの決め手がなく、病因遺伝子は決定できていない。次の家系では、1遺伝子変異を確認したが、劣性遺伝と考えられるものの発症者はヘテロ接合性であり、末梢血白血球 mRNA 発現解析を行ったが、発症者に特異的な変化を確認することはできなかった。以上から、これら2家系のさらなる解析には、新たな症例や家系の追加やモデル動物を用いた研究を追加する必要があると思われる。

しかしながら、これらの取り組みにより、浮かび上がった遺伝子について、ありふれた精神神経疾患を対象に、疾患：対照群を用いた遺伝子関連解析及び末梢血白血球 mRNA 遺伝子発現解析を行い、バイオマーカーとなる可能性を検討した。そうしたところ、遺伝子によっては、遺伝子発現が変化しており、遺伝子発現を調節する可能性のある機能性遺伝子多型がないものについては、エピジェネティックな解析として、遺伝子 DNA メチル化解析を行った。これらについては、一部学会や論文として発表している。

今後、薬物療法への反応など、治療前後で経過を追った縦断研究も検討している。以上のように、最終的には、診断、治療反応、再発予防などのバイオマーカーを発見することを目標として解析を続けている。

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 12件)

1. T. Sao, Y. Yoshino, K. Yamazaki, Y. Ozaki, Y. Mori, S. Ochi, T. Yoshida, T. Mori, J. Iga, S. Ueno. MEF2C mRNA expression and cognitive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Psychiat Clin Neurosci* 72, 160-167, 2018. DOI 29112298 査読あり
2. A. Mise, Y. Yoshino, K. Yamazaki, Y. Ozaki, T. Sao, T. Yoshida, T. Mori, Y. Mori, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. TOMM40 and APOE Gene Expression and Cognitive Decline in Japanese Alzheimer's Disease Subjects. *J Alzheimers Dis* 60, 1107-1117, 2017. DOI 28984592 査読あり
3. Y. Yoshino, Y. Ozaki, K. Yamazaki, T. Sao, Y. Mori, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. DNA methylation changes in intron 1 of triggering receptor expressed on myeloid cell 2 in Japanese schizophrenia subjects. *Front Neurosci* 11, 275, 2017. DOI

- 28588439 査読あり
4. Y. Ozaki, Y. Yoshino, K. Yamazaki, T. Sao, Y. Mori, S. Ochi, T. Yoshida, T. Mori, J. Iga, S. Ueno. DNA methylation changes at TREM2 intron 1 and TREM2 mRNA expression in patients with Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 92, 74-80, 2017. DOI 28412600 査読あり
 5. Y. Yoshino, K. Yamazaki, Y. Ozaki, T. Sao, T. Yoshida, T. Mori, Y. Mori, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. INPP5D mRNA expression and cognitive decline in Japanese Alzheimer's disease subjects. *J Alzheim Dis* 58, 687-694, 2017. DOI 28482637 査読あり
 6. M. Okita, Y. Yoshino, J. Iga, S. Ueno. Elevated mRNA expression of CASPR3 in patients with schizophrenia. *Nordic J Psychiatry* 71, 312-314, 2017. DOI 28413940 査読あり
 7. K. Yamazaki, Y. Yoshino, T. Mori, T. Yoshida, Y. Ozaki, T. Sao, Y. Mori, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. Gene expression and methylation analysis of ABCA7 in patients with Alzheimer's disease. *J Alzheim Dis* 57, 171-181, 2017. DOI 27414430 査読あり
 8. Y. Funahashi, Y. Yoshino, K. Yamazaki, J. Iga, S. Ueno. Low methylation rates of SNCA gene intron 1 in dementia with Lewy bodies patients. *Psychiatry Clin Neurosci* 71, 28-35, 2017. DOI 27685250 査読あり
 9. Y. Yoshino, T. Mori, T. Yoshida, K. Yamazaki, Y. Ozaki, T. Sao, Y. Funahashi, J. Iga, S. Ueno. Elevated mRNA Expression and Low Methylation of SNCA in Japanese Alzheimer's Disease Subjects. *J Alzheimers Dis* 54, 1349-1357, 2016. DOI 27567856 査読あり
 10. K. Yamazaki, J. Iga, Y. Yoshino¹, M. Okita, Y. Ozaki, T. Yoshida, T. Mori, S. Ueno. Association study and meta-analysis of polymorphisms, methylation profiles, and peripheral mRNA expression of the serotonin transporter gene in patients with Alzheimer disease. *Dement Geriatr Cogn Dis* 41, 334-347, 2016. DOI 27414430 査読あり
 11. Y. Yoshino, K. Kawabe, T. Mori, Y. Mori, K. Yamazaki, S. Numata, S. Nakata, T. Yoshida, J. Iga, T. Ohmori, S. Ueno. Low methylation rates of dopamine receptor D2 gene promoter sites in Japanese schizophrenia subjects. *World J Biol Psychiatry* 17, 449-456, 2016. DOI 27269479 査読あり
 12. Y. Yoshino, K. Kawabe, K. Yamazaki, S. Watanabe, S. Numata, Y. Mori, T. Yoshida, J. Iga, T. Ohmori, S. Ueno. Elevated TREM2 mRNA Expression in Leukocytes in Schizophrenia but not Major Depressive Disorder. *J Neur Trans* 123, 637-641, 2016. DOI 27130565 査読あり
- 〔学会発表〕(計 7件)
- 国際学会
1. Y. Yoshino, K. kawabe, Y. Mori, K. Yamazaki, J. Iga, S. Ueno. Low methylation rates of dopamine receptor D2 gene promoter sites in Japanese schizophrenia subjects. 13th World Congress of Biological Psychiatry. 6/18-22. 2017 Copenhagen, Denmark
 2. K. Yamazaki, Y. Yoshino, T. Mori, T. Yoshida, Y. Ozaki, T. Sao, Y. Mori, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. Gene Expression and Methylation Analysis of ABCA7 in Patients with Alzheimer's Disease. SfN's 47th annual meeting. 11/11-15, 2017 Washington DC, USA
 3. Y. Yoshino, Y. Ozaki, K. Yamazaki, S. Ochi, J. Iga, S. Ueno. DNA Methylation Changes in Intron 1 of Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cell 2 in Japanese Schizophrenia Subjects. SfN's 47th annual meeting. 11/11-15, 2017 Washington DC, USA
 4. J. Iga, Y. Yoshino, Y. Funahashi, K. Yamazaki, Y. Mori, T. Mori, S. Ueno. Low methylation rates of SNCA gene intron 1 in dementia with Lewy bodies patients. SfN's 47th annual meeting. 11/11-15, 2017 Washington DC, USA
 5. S. Ochi, T. Nishihara, Y. Yoshino, K. Yamazaki, J. Iga, T. Yorozuya, S. Ueno. Nicotinic acetylcholine receptor beta 2 may be involved in pain pathways: Pilot study from CCI rat model. SfN's 47th annual meeting. 11/11-15, 2017 Washington DC, USA
- 国内学会
6. 吉野祐太、中田俊輔、三瀬綾乃、山崎聖広、尾崎優樹、越智紳一郎、伊賀淳一、上野修一 アルツハイマー型認知症患者の末梢血白血球 MBOAT4、GHSR mRNA 発現変化 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会 9/28-30 2017 北海道
 7. 山崎聖広、吉野祐太、森崇明、吉田卓、尾崎優樹、佐尾知子、森蓉子、越智紳一郎、伊賀淳一、上野修一 アルツハイマー

型認知症患者の血液における ABCA7 遺伝子の DNA メチル化率および mRNA 発現量の解析 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会 9/28-30 2017 北海道

〔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〕

ホームページ等

<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/neuropsychiatry/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 修一 (Ueno, Shuichi)

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80232768