

令和元年6月11日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2016～2018

課題番号：16KT0198

研究課題名(和文) パーソナリティに基づく健康-疾患連続性の検討：遺伝子発現プロファイルとの関連

研究課題名(英文) A personality-based examination of the health-illness continuum: association with gene expression profiles

研究代表者

堀 弘明 (Hori, Hiroaki)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 行動医学研究部・室長

研究者番号：10554397

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)：うつ病やその主要リスク因子とされるストレス脆弱性の本態は不明である。本研究では、はじめに一般人口を対象に、各個人の心理特性プロフィールに基づいて行ったストレス脆弱性分類と、末梢血の遺伝子発現プロファイルの関連を検討した。詳細なデータ解析により、ストレス脆弱性に関与する少数の遺伝子を選定した。選定した遺伝子はうつ病患者においても同様の発現変動を示した。これらの結果から、ストレス脆弱性とうつ病の病態の連続性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代はストレス社会ともいわれ、うつ病患者も増加しており、メンタルヘルスの向上は喫緊の課題となっている。昨今導入されたストレスチェック制度には一定の意義が認められるものの、本人の主観的報告に依拠しているという問題があり、客観的なストレス評価法およびうつ病診断法の開発が待たれる。本研究の成果は、ストレス脆弱性およびうつ病のバイオマーカー候補を同定し、うつ病の発症予測法や個別化予防法の創出へと寄与しているものである。

研究成果の概要(英文)：Etiology of depression or its putative major risk factor, i.e., stress vulnerability, is not clear. In this study we first targeted a general population and examined an association between stress vulnerability classification determined based on an individual's psychological profile and blood-based gene expression profiles. A few genes involved in stress vulnerability were selected through detailed data analyses. These selected genes showed similar expression patterns in depressed patients as well. These findings suggest a continuum of etiology between stress vulnerability and depression.

研究分野：精神神経科学

キーワード：遺伝子発現プロファイル パーソナリティ ストレス 潜在プロフィール分析 バイオインフォマティクス うつ病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

うつ病をはじめとする精神疾患の主要リスク因子であるストレス脆弱性は、心理学的な視点と生物学的な視点から捉えることができる。心理学的なレベルでのストレス脆弱性は、パーソナリティ特性やストレス対処方略によって規定されると考えられるが、単一の特性によって決定されるというより、複数の心理特性によって形成される各個人のプロフィールが重要である可能性がある。一方、生物学的なレベルでは、一つひとつは効果の小さな多数の感受性遺伝子が環境要因と複雑な様式で相互作用することによってストレス脆弱性が形成されるものと想定され、そういったゲノムと環境の相互作用の全体像は遺伝子発現プロファイルにスナップショットとして現れうる。また、こういった特性を有するストレス脆弱性は、健常者からうつ病患者へと連続的に分布していると推定される。

## 2. 研究の目的

本研究では、ストレス脆弱性の表現型と分子基盤を統合的に解析し、さらにストレス脆弱性とうつ病の連続性を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施し、各被験者に研究の内容を十分説明した上で文書にて同意を得た。

研究全体の流れを図1に示す。本研究は以下の2つの主要パートから構成される。

前半部分である第1パートでは、健常者を対象に、各個人の心理特性プロフィールに基づいて行ったストレス脆弱性分類と、末梢血 RNA を用いて測定したトランスクリプトームの関連を検討した。われわれは既報論文において、個人志向型の統計的分類手法である潜在プロフィール分析を用い、一般人口から募集した455名の健常成人が2つの適応的グループ(ストレスからの回復力を持つ「Resilient」群、ストレスの影響を受けにくい「Resistant」群)と1つの非適応的グループ(ストレス脆弱性を有する「Vulnerable」群)に分類されることを見出した(Hori et al., 2014)。研究プロジェクトの一部として、同意の得られた同一被験者において採血を行い、末梢血 RNA サンプルを保存していたため、本研究ではこの保存検体を利用した。すなわち、上述の455名のうち Resilient, Vulnerable, Resistant 各群20名ずつ合計60名を、年齢・性別を3群間で揃えて抽出し、RNA 検体をマイクロアレイ解析に供した。本パートにおけるマイクロアレイは、Agilent 社の SurePrint G3 v3 human GE 8×60K microarray を用いた。群間で発現が変動する遺伝子群を同定し、この遺伝子群に対してバイオインフォマティクス解析を適用することにより、ストレス脆弱性に関連する分子システムを探索した。

後半部分の第2パートでは、第1パートの結果に基づいてストレス脆弱性との関連における最重要遺伝子を少数選定し、われわれの先行研究で取得したマイクロアレイデータセットおよび逆転写定量 PCR (qPCR) を用いて、うつ病患者における発現変動を検討した。まず、既取得マイクロアレイデータ(第1パートとは独立のサンプルセット)を用い、うつ病患者54名(平均年齢40.4歳、女性の割合50.0%)、うつ病が寛解状態にある患者14名(平均年齢41.3歳、女性の割合50.0%)、健常対照者54名(平均年齢39.7歳、女性の割合50.0%)の間で選定遺伝子の発現レベルを比較した。次にqPCRにより、上述のいずれのマイクロアレイデータセットとも独立のサンプルセットであるうつ病患者106名(平均年齢37.1歳、女性の割合50.0%)と健常対照者60名(平均年齢37.8歳、女性の割合55.0%)の間で、選定遺伝子の発現レベルを比較した。また向精神薬服用の影響を調べるために、服薬中のうつ病患者116名、服薬してい

なうつ病患者 24 名、健常対照者 91 名の 3 群で選定遺伝子の発現量を比較した。さらに、疾患特異性を検討するために、同じ選定遺伝子について qPCR を行い、年齢・性別を揃えた大うつ病性障害患者 59 名、双極性障害患者 47 名、統合失調症患者 43 名、健常対照者 60 名の 4 群で発現量を比較した。

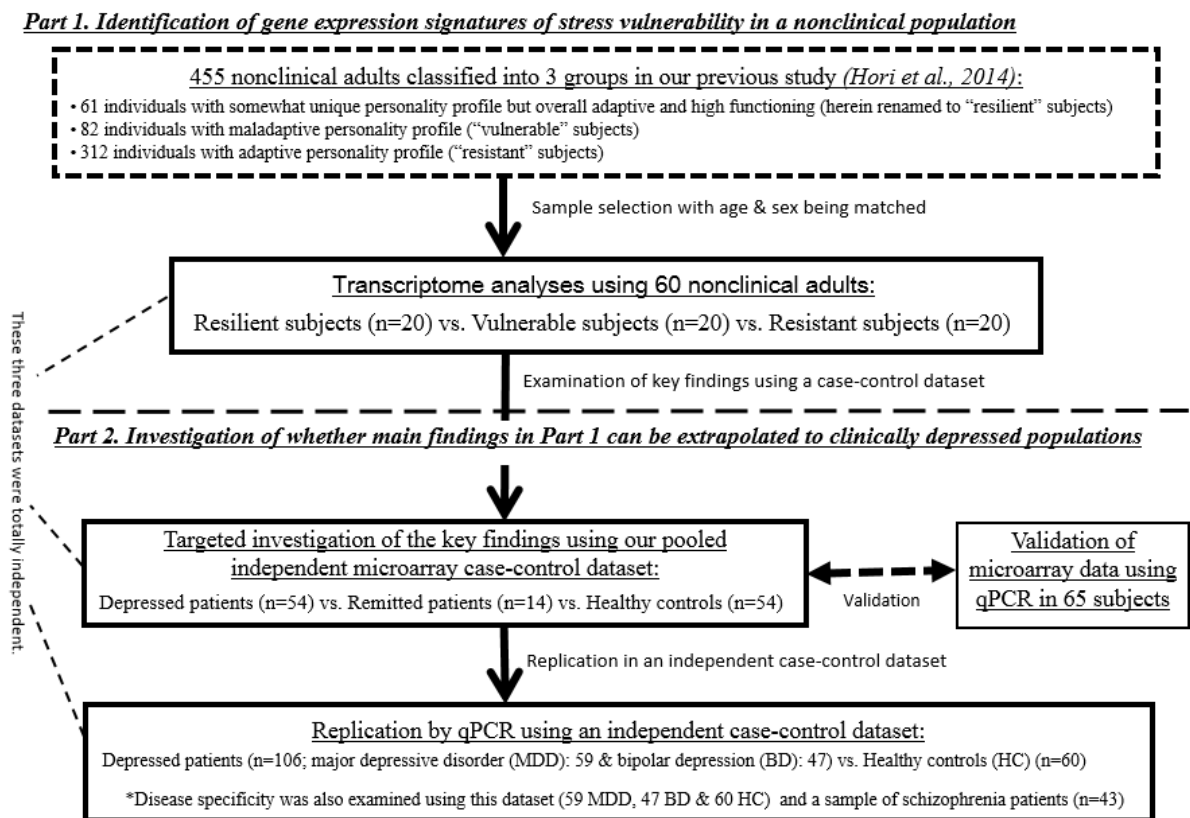


図 1 . 研究手順とデータ解析の流れ

本研究は 2 つのパートから構成される。第 1 パートは、ストレス脆弱性に関連する遺伝子発現変化についての部分であり、3 群（「Resilient」群、「Vulnerable」群、「Resistant」群）に分類された 60 名の健常成人においてトランスクリプトーム解析を実施した。第 2 パートでは、第 1 パートにおける主要な結果について、うつ病患者を対象に検討した。

#### 4 . 研究成果

第 1 パートでは、トランスクリプトーム解析を以下の手順で行った。低発現プローブを除外するなどのフィルタを通過した 58,072 プローブのうち、7,108 プローブにおいて 3 群間での有意な発現変動が認められた。これらのプローブに対し、Tukey HSD 法を用いた分散分析の事後検定と fold change の絶対値>1.5 という 2 重基準によるペアごとの比較を行い、遺伝子名のアノテーションが付された 469 個の mRNA プローブと 419 個の non-coding RNA (ncRNA) プローブを発現変動遺伝子/ncRNA として同定した。Resilient 群と Vulnerable 群で有意な発現変動を示したのは、267 個の mRNA プローブと 246 個の ncRNA プローブであった。Resilient 群と Resistant 群で有意な発現変動を示したのは、119 個の mRNA プローブと 131 個の ncRNA プローブであった。Vulnerable 群と Resistant 群で有意な発現変動を示したのは、148 個の mRNA プローブと 98 個の ncRNA プローブであった。各ペアでの発現変動遺伝子リストを用いたパスウェイ解析により、発現変動遺伝子群が有意に濃縮されたパスウェイがそれぞれの比較ごとに複数同定された。中でも顕著な濃縮を示したパスウェイは「Peptide chain elongation」(p = 0.000018) と「Ribosome」(p = 0.000042)であった。これらの 2 つのパスウェイは本質的に同一であり、い

ずれも、発現変動遺伝子としてパスウェイ解析に投入した8個のリボソーム遺伝子、すなわち *RPL17*, *RPL21*, *RPL34*, *RPL36A*, *RPL36AL*, *RPL39*, *RPS15A*, *RPS27* を含んでいた。これら8個のリボソーム遺伝子について、マイクロアレイで測定した発現レベルを3群間で比較したところ、いずれの遺伝子についても、平均発現レベルはVulnerable群が最も高くResistant群が最も低いという結果であり、この2群間に有意差が認められた(図2)。タンパク質間相互作用解析の結果、Resilient群とVulnerable群の間の発現変動遺伝子267個を用いて描いたタンパク質間相互作用ネットワークは、有意な濃縮が認められた( $p = 0.0033$ )。Resilient群とResistant群の間の発現変動遺伝子119個を用いて描いたタンパク質間相互作用ネットワークは、有意な濃縮を示さなかった( $p = 0.085$ )。Vulnerable群とResistant群の間の発現変動遺伝子148個を用いて描いたタンパク質間相互作用ネットワークは、有意な濃縮が認められ( $p = 0.0000054$ )、このネットワークではRPL17はHSP90AA1を介してIL-6やERBB3などのストレス応答に参与する分子との間に相互作用を有していた。発現変動がみられた遺伝子469個とncRNA419個の共発現解析において、Resilient群とResistant群ではリボソーム遺伝子間の共発現ネットワークが見出されたが、これはVulnerable群ではみられなかった。

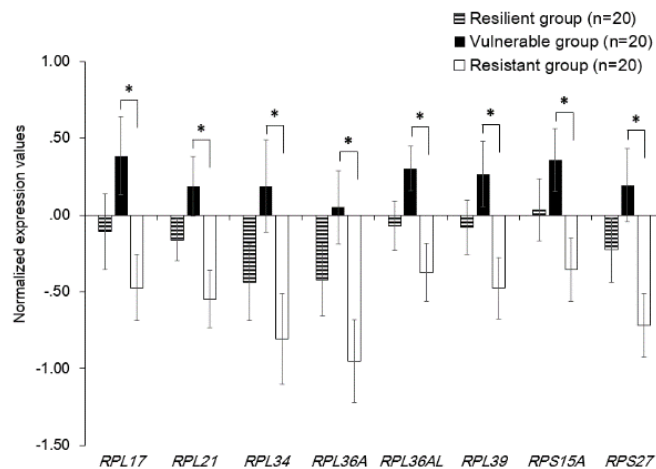


図2. マイクロアレイで測定したリボソーム遺伝子発現についてのResilient, Vulnerable, Resistant群の比較

8個のリボソーム遺伝子、すなわち *RPL17*, *RPL21*, *RPL34*, *RPL36A*, *RPL36AL*, *RPL39*, *RPS15A*, *RPS27* の発現量を3群間で比較した。群間比較には分散分析を用い、事後検定におけるペアごとの比較はTukeyのHSD法を用いて行った。\*:  $p < 0.05$ 。エラーバーは標準誤差を示す。

第2パートでは、第1パートの結果に基づき、リボソーム遺伝子を焦点とした検討を行った。まず、既存マイクロアレイデータにおいて、上述の8個のリボソーム遺伝子のうちクオリティコントロールを通過した6個のリボソーム遺伝子である *RPL17*, *RPL21*, *RPL34*, *RPL36AL*, *RPL39*, *RPS27* の発現レベルをうつ病患者、寛解うつ病患者、健常対照者の間で比較した。いずれの遺伝子についても、発現レベルの平均値はうつ病患者において最も高く、健常対照者において最も低く、寛解うつ病患者はその中間であった。分散分析により、*RPL17* ( $p = 0.006$ )、*RPL34* ( $p = 0.013$ )、*RPL36AL* ( $p = 0.023$ )において、うつ病患者と健常対照者の間で有意差が見いだされた。マイクロアレイ結果の確認のために、上述のマイクロアレイ解析を行った合計122名の被験者のうち65名において、qPCRにより *RPL17* と *RPL34* の発現レベルを定量し、マイクロアレイデータとの相関を調べたところ、*RPL17* ( $r = 0.86$ ,  $p < 0.001$ ) と *RPL34* ( $r = 0.89$ ,  $p < 0.001$ ) の両方で強い相関が認められた。うつ病患者106名と健常対照者60名の独立サンプルセットを

用いた qPCR による replication 実験において、*RPL17* ( $p < 0.001$ ; t-test による)、*RPL34* ( $p = 0.001$ )ともうつ病患者で有意な発現亢進が再現された。服薬の影響については、健常対照者と比較して、服薬中のうつ病患者、服薬していないうつ病患者のいずれにおいても、*RPL17* (それぞれ、 $p < 0.001$ 、 $p = 0.004$ )、*RPL34* (それぞれ、 $p < 0.001$ 、 $p = 0.009$ )の有意な発現亢進が認められた。疾患特異性については、qPCR により定量した *RPL17*と *RPL34*の発現量を大うつ病性障害患者、双極性障害患者、統合失調症患者、健常対照者で比較したところ、健常対照者に比較して、*RPL17* ( $p < 0.001$ )、*RPL34* ( $p = 0.007$ )とも大うつ病性障害患者において有意な発現亢進が認められ、*RPL17* ( $p = 0.002$ )は双極性障害患者においても有意な発現亢進が認められた(図3)。以上の結果から、リボソーム遺伝子、とりわけ *RPL17*と *RPL34*が、ストレス脆弱性およびうつ病に共通に関与する可能性が示唆された。

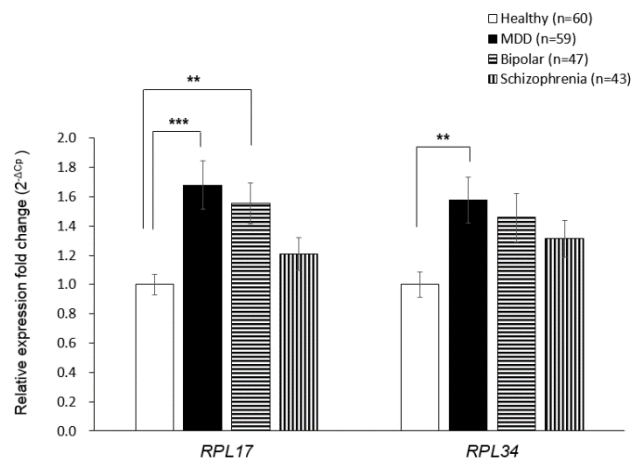


図3. qPCR で測定した *RPL17*と *RPL34*の遺伝子発現についての群間比較

視認性を考慮し、qPCR で測定した相対発現量 ( $- \Delta C_p$ )を  $2^{-\Delta C_p}$ に変換した上で、健常者の平均値が「1」になるよう変換することにより、データが fold change を表すようにした。群間比較には分散分析を用い、ペアごとの事後検定は Tukey の HSD 法を用いて行った。\*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ 。エラーバーは標準誤差を示す。

本研究の成果は、ストレス脆弱性とうつ病の病態の連続性を示唆するとともに、ストレス脆弱性およびうつ病のバイオマーカー候補を同定し、うつ病の発症予測法や個別化予防法の創出へと寄与しているものである。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Hori H<sup>\*</sup>, Kim Y. Inflammation and post-traumatic stress disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2019; 73: 143-153.
2. Itoh M, Hori H<sup>\*</sup>, Lin M, Niwa M, Ino K, Imai R, Ogawa S, Matsui M, Kamo T, Kim Y. Memory bias and its association with memory function in women with posttraumatic stress disorder. *J Affect Disord*. 2019; 245: 461-467.
3. Imai R, Hori H<sup>\*</sup>, Itoh M, Lin M, Niwa M, Ino K, Ogawa S, Ishida M, Sekiguchi A, Matsui M, Kunugi H, Akechi T, Kamo T, Kim Y. Inflammatory markers and their possible effects on cognitive function in women with posttraumatic stress disorder. *J Psychiatr Res*. 2018; 102: 192-200.
4. Narita-Ohtaki R, Hori H<sup>\*</sup>, Itoh M, Lin M, Niwa M, Ino K, Imai R, Ogawa S, Sekiguchi A, Matsui M, Kunugi H, Kamo T, Kim Y. Cognitive function in Japanese women with posttraumatic stress disorder: Association with exercise habits. *J Affect Disord*. 2018; 236: 306-312.

5. Hori H<sup>\*</sup>, Nakamura S, Yoshida F, Teraishi T, Sasayama D, Ota M, Hattori K, Kim Y, Higuchi T, Kunugi H. Integrated profiling of phenotype and blood transcriptome for stress vulnerability and depression. J Psychiatr Res. 2018; 104: 202-210.
6. Hori H<sup>\*</sup>, Teraishi T, Nagashima A, Koga N, Ota M, Hattori K, Kim Y, Higuchi T, Kunugi H. A personality-based latent class typology of outpatients with major depressive disorder: Association with symptomatology, prescription pattern and social function. J Affect Disord. 2017; 217:8-15.

(\* : 責任著者)

〔学会発表〕(計7件)

1. Hori H: Cognitive dysfunction in schizophrenia and other psychiatric disorders: potential role of inflammation. WFSBP2018KOBE, Kobe, 2018.9.7-9. (シンポジウム)
2. 堀 弘明, 中村誠二, 吉田冬子, 寺石俊也, 篠山大明, 太田深秀, 服部功太郎, 金 吉晴, 樋口輝彦, 功刀 浩: ストレス脆弱性とうつ病についての表現型 - 末梢血トランスクリプトーム統合解析. 第15回日本うつ病学会総会 東京, 2018.7.27-28.
3. 堀 弘明: A multifaceted approach to understanding the pathogenesis of PTSD: from genes, biomarkers to phenotypes. 第60回日本神経化学学会大会, 仙台, 2017.9.7-9. (シンポジウム)
4. Hori H, Itoh M, Lin M, Niwa M, Ino K, Imai R, Ogawa S, Sekiguchi A, Kunugi H, Kamo T, Kim H: Inflammatory markers in adult women with Post-traumatic Stress Disorder (PTSD). 13th World Congress of Biological Psychiatry, Copenhagen, 2017.6.18-22.
5. Hori H: Hypothalamic-pituitary-adrenal Axis Function and Gene Expression Profiles as Useful Blood Biomarkers for Major Depressive Disorders. The 10th Annual Scientific Meeting of Hong Kong Society of Biological Psychiatry, Hong Kong, 2017.3.11. (招待講演).
6. Hori H, Sasayama D, Teraishi T, Yamamoto N, Nakamura S, Ota M, Hattori K, Kim Y, Higuchi T, Kunugi H: Involvement of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the mechanism of transcriptome-wide identified differentially expressed genes for depression. 29th ECNP Congress, Vienna, 2016.9.17-20.
7. 堀 弘明: うつ病バイオマーカーとしての視床下部-下垂体-副腎系. 第13回日本うつ病学会総会, 愛知, 2016.8.5-6. (シンポジウム)

〔その他〕

ホームページ等

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所行動医学研究部 web ページ  
<https://www.ncnp.go.jp/nimh/behavior/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 功刀 浩

ローマ字氏名: (KUNUGI, Hiroshi)

研究協力者氏名: 吉田 冬子

ローマ字氏名: (YOSHIDA, Fuyuko)

研究協力者氏名: 中村 誠二

ローマ字氏名: (NAKAMURA, Seiji)

研究協力者氏名: 金 吉晴

ローマ字氏名: (KIM, Yoshiharu)

研究協力者氏名: 樋口 輝彦

ローマ字氏名: (HIGUCHI, Teruhiko)