

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K10049

研究課題名（和文）エピゲノムワイド関連分析による疾患予防のための精神ストレスマーカーの探索

研究課題名（英文）Epigenome-wide association studies for common human diseases related with mental stress

研究代表者

島ノ江 千里（Shimano, Chisato）

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：10734064

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、日本多施設共同コホート研究のデータを利用して、精神健康と身体的健康に關するメカニズムの解明に向けたゲノムワイド関連解析と網羅的DNAメチル化解析と關連するバイオマーカーについて検討した。その結果、感情表出と關連する遺伝子多型は見つかったが、精神ストレス、および5つの対処行動と有意に關連するDNAメチル化部位は検出できなかった。一方、我々が注目してきた11 HSDの活性を反映するバイオマーカーと精神ストレスとの關連を見つけたことから、11 HSDの活性に關する遺伝子のメチル化解析を行ったところ、HbA1cと有意に關連するメチル化部位を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

精神健康と身体的疾患の關連メカニズムについてのエビデンスは不十分なままである。GWASやEWASにより、精神ストレスに關する新たな遺伝子多型やDNAのメチル化部位を検討することは、これまで未解明であった精神ストレスが疾患発症につながるメカニズムに寄与するエビデンスを提供できる。本研究で示唆された感情表出に關連する新規の遺伝子多型、精神ストレスと關連する新規マーカー、本バイオマーカーに關連するメチル化部位のHbA1cのレベルとの關連は、次世代の個別化医療に資するモニタリングマーカーの開発、予防対策、創薬の開発につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：Using data from a Japan Multi-institutional Collaborative Cohort study, Genome-Wide Association Studies (GWAS), Epigenome-Wide Association Studies (EWAS), and biomarkers discovery research aimed at elucidating the mechanisms involved in mental and physical health were performed. As a result, gene-based analysis using GWAS data suggests that genetic variations in FBX045 are associated with emotional expression. However, we could not detect DNA methylation sites significantly associated with mental stress and five coping behaviors. On the other hand, we found a relationship between the biomarker that reflects the activity of 11 HSD and mental stress, and some methylation sites associated with HbA1c levels among the methylation of six CpG islands of CYP11B1 were detected.

研究分野：疫学

キーワード：網羅的エピゲノムワイド関連解析 11 HSD 精神ストレス HbA1c コホート研究 ストレス対処行動 DNAメチル化

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

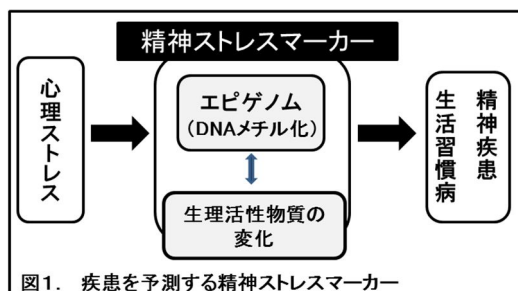
## 1. 研究開始当初の背景

### 1) 精神ストレスに関連する DNA メチル化の網羅的解析の意義

精神ストレスの過剰な負荷や長期的な暴露は、精神的不健康だけではなく、循環器疾患などの身体的不健康にも関与していることが疫学研究で示されてきたが、その生物学的メカニズムについては不明なままである。DNA 中のシトシンの 5 - メチル化 (DNA メチル化) はエピゲノム修飾のひとつであり、ストレスなどの環境要因が、このようなエピゲノム変化による遺伝子の発現制御を介して疾患の発症と関連することが明らかになってきた。興味深いことに、末梢血や唾液中のグルココルチコイド活性に関与する NR3C1 遺伝子、ドーパミン作動性伝達に関与するチロシンヒドロキラーゼ遺伝子などの DNA メチル化が精神ストレスと関連しており (Bakusic et al., 2017)、精神ストレスが末梢組織の DNA メチル化を介してグルココルチコイド活性に影響し、インスリン分泌抑制などの身体的健康に関与する可能性を示唆する。

### 2) 精神ストレスに関連する DNA メチル化と生理活性物質の関連

炎症性サイトカインなどを介した炎症免疫系のメカニズムが生活習慣病と精神疾患の共通病態である可能性は、精神ストレスと炎症に関与する生理活性物質との関連によって示唆されてきた (Ranjit et al., 2007; Shivpuri et al., 2012; Shimano et al., 2014; Epel et al., 2004; Shimano et al., 2017)。しかしながら、このような生理活性物質と精神ストレスが関連するメカニズムは明確ではなく、DNA メチル化による生理活性物質の変化が疾患発症を予測するかについての検討は不十分である。(図 1)



## 2. 研究の目的

本研究は、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) や網羅的 DNA メチル化解析 (EWAS) により、精神ストレスやストレス対処行動に関与する未知の遺伝子多型、および DNA メチル化を検討し、精神ストレスと疾患の新たな経路、およびこれまで未解明であったメカニズムに寄与するエビデンスを見出す。

## 3. 研究の方法

母体となるコ-ホート研究は、日本多施設共同コ-ホート研究の 10 地区 (千葉、岡崎、静岡・大幸、高島、京都、静岡桜ヶ丘、愛知県がんセンター、佐賀、鹿児島、徳島) でのベースライン調査に 2004 ~ 2012 年に参加した、35 歳から 69 歳の 14,088 名と 40 ~ 69 歳の 12,068 人が参加する佐賀市民を対象したコ-ホート研究による 2010 ~ 2012 年にかけて実施した 8,454 人の参加者の罹患、および生活習慣調査、採尿した試料に基づいている。本研究は、2024 年までがん・糖尿病、循環器疾患などの罹患、および死亡状況を、対象者への郵送と電話による追跡調査、死亡票閲覧による死因同定、医療機関への照会・カルテ調査による疾病罹患同定により追跡していく予定である。

### 1) 心理的行動特性の Genome-Wide Association Studies (GWAS):

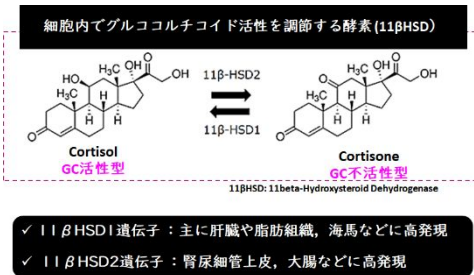
日本多施設共同コ-ホート研究の 10 地区 (千葉、岡崎、静岡・大幸、高島、京都、静岡桜ヶ丘、愛知県がんセンター、佐賀、鹿児島、徳島) でのベースライン調査に参加した 14,088 名を対象に、自覚ストレスを感じた頻度と 5 つのストレス対処行動 (感情表出、支援希求、肯定的解釈、積極的問題解決、なりゆきまかせ) を使用する頻度と関連する遺伝子多型について GWAS を用いて検討した。また、たんぱく質をコードする 16,017 の遺伝子群 (NCBI Gene database) との関連を検討するために、gene-based analysis を実施した。

### 2) 網羅的 DNA メチル化解析

日本多施設共同コ-ホート研究 (佐賀地区) に参加した対象者からランダムに選出した約 512 名 (EPIC) と脳梗塞の症例対象研究で使用した 392 名 (HM450) の保存 DNA を用いて epigenome-wide association study (EWAS) を実施した。具体的には、HM450 の EWAS については解析対象者が 392 名であり、性、年齢、脳梗塞の罹患の有無、細胞成分、コントロールプロブ強度上位 10 主成分を共変数として補正し、EPIC の EWAS については解析対象者数 512 名であり、性、年齢、細胞成分、コントロールプロブ強度上位 10 主成分を補正して、HM450 と EPIC 共通部位 (437782 CpG sites) について固定効果モデルを用いてメタ解析を行った。

### 3) 精神ストレスと 11 HSD 調節マーカーの関連解析:

グルココルチコイド活性や 11 HSD 2 の調節状況を反映することが示唆されているコルチゾール/コルチゾン比について 7000 人の尿を用いて測定し、自覚ストレスとの関連を検討した (図 2)。



4) 11 HSD メチル化と心理ストレスとの解析：  
CYP11B1 の 6 つの CpG アイランドのメチル化と、抑うつ、心理ストレス、対処行動、HbA1c との関連を検討した。

図 2. コルチゾールとコルチゾンの変換を調節する酵素 (11 HSD)

4. 研究成果

1) 心理的行動特性の GWAS 解析：

5 つのストレス対処行動のうち、「感情表出」(嫌だと感じていること、思っていることを表情に出す)の遺伝率は、19.5%であった(図 3)。discovery 群 (N = 6,359) で 12 の多型が suggestive significance levels ( $P = 5 \times 10^{-6}$ )を示したが、replication 群 (N = 7,685) での再現性は示されなかった。gene-based analysis (N = 14,088) では、「感情表出」と 4 つの遺伝子多型を含む *FBXO45* 遺伝子に有意な関連がみられた ( $P = 4 \times 10^{-7}$ ) (図 4)。Shimano C et al., Genes, brain, and behavior, 18 (2) e12481(2019)

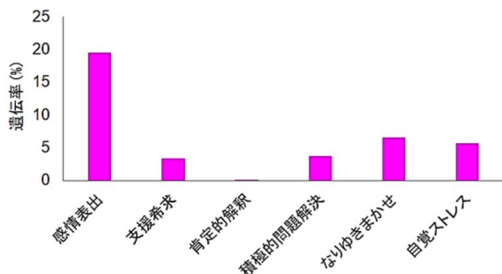


図 3. 心理行動特性の遺伝率

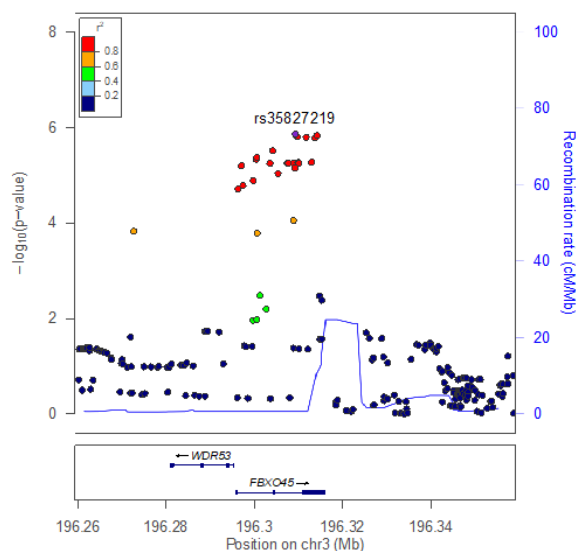


図 4. 「感情表出」と SNP との関連の強さと SNP の位置

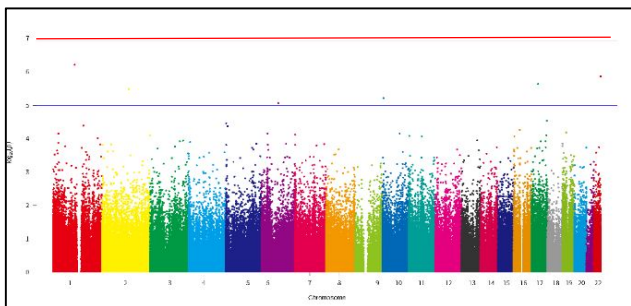
左縦軸；関連解析の P 値の -log 比；「感情表出」との関連の強さ  
右縦軸；各ゲノム領域における組み換えの割合。

横軸；各 SNP の染色体上の位置、領域における遺伝子情報  
 $r^2$ ：rs35827219 と他の SNP の連鎖不平衡の強さ。

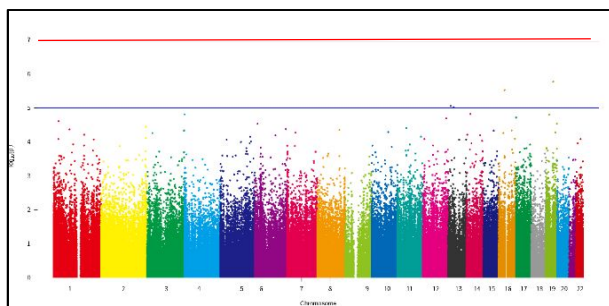
2) 網羅的 DNA メチル化解析：

網羅的 DNA メチル化解析の結果、精神ストレス、およびストレス対処行動と関連する有意な部位は示されなかった (図 5. A-F)。

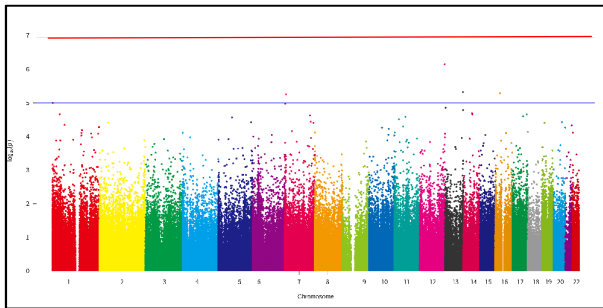
A) 精神ストレス



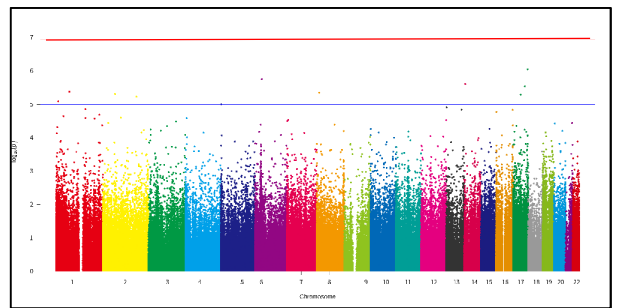
B) ストレス対処行動 (



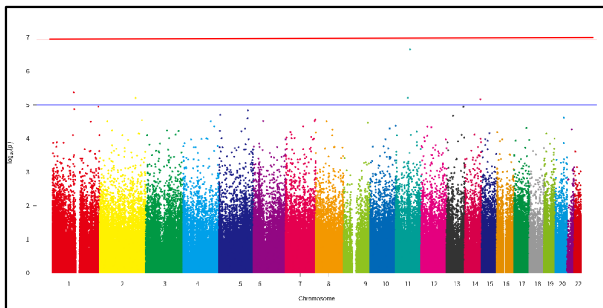
C) ストレス対処行動 (支援希求)



D) ストレス対処行動 (肯定的解釈)



E) ストレス対処行動 (積極的問題解決)



F) ストレス対処行動 (なりゆきまかせ)

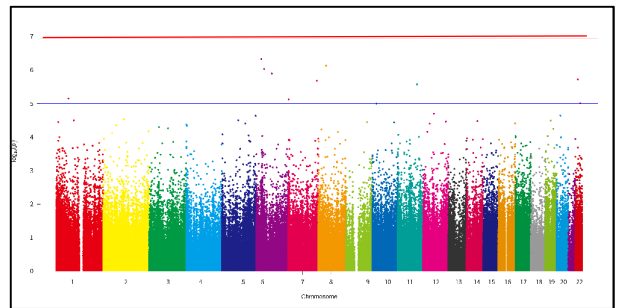


図5. マンハッタンプロット

赤線: genome-wide significance ( $P = 1.14 \times 10^{-7}$ ), 青線: suggestive significance ( $P = 1 \times 10^{-5}$ )を示す

**3) 精神ストレスと 11 HSD 調節マーカーの関連:**

精神ストレスとグルココルチコイド活性を反映する尿中のコルチゾール/コルチゾン比との関連について解析したところ、精神ストレスが高いと GC 比が高く (Ptrend = 0.003)、11 HSD2 の調節不全に参与している可能性が示唆された(図6)。興味深いことに、抑うつとの有意な関連は示されなかった Shimano C et al., Psychoneuroendocrinology. 105125 (2021)。

**4) CYP11B1 のメチル化と糖尿病 (HbA1c):**

本研究で EWAS による有意なメチル化部位が検出されなかった背景において、検出力の不足が考えられたこと、11 HSD に関連するマーカーと精神ストレスや生活習慣病に関連が示されたことから、候補遺伝子のメチル化解析を行った。11 水酸化酵素をコードする CYP11B1 の 6 つの CpG アイランドのメチル化と心理ストレス、HbA1c レベルとの関連を検討した結果、精神ストレスなどとの関連は示されなかったが、HbA1c と関連するいくつかメチル化部位に有意な関連が示された。これらの解析結果を踏まえ、上記コーホート研究の 15 年後の追跡調査のデータのクリーニング、糖尿病や循環器疾患の罹患調査、死因同定なども継続して実施して、精神健康と身体的健康の関連メカニズムの解明にさらにすすめていく予定である。

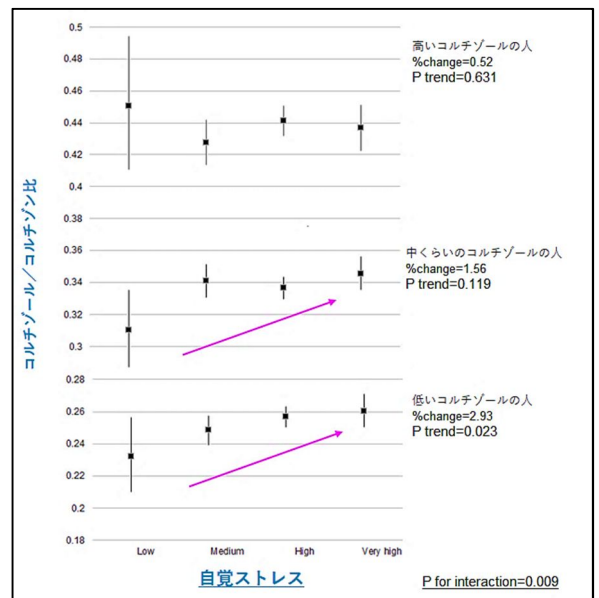


図6. コルチゾール/コルチゾン比と精神ストレスとの関連

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Furukawa T, Nishida Y, Hara M, Shimano C, Koga K, Iwasaka C, Higaki Y, Tanaka K, et.al.,	4. 巻 10
2. 論文標題 Effect of the interaction between physical activity and estimated macronutrient intake on HbA1c: Population-based cross-sectional and longitudinal studies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Res Care	6. 最初と最後の頁 e002479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjdr-2021-002479. PMID: 34980592; PMCID: PMC8724736.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koga, K., Hara, M., Shimano, C., Nishida, Y., Furukawa, T., et al.,	4. 巻 12
2. 論文標題 Association of perceived stress and coping strategies with the renal function in middle-aged and older Japanese men and women	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports, 12(1), 291	6. 最初と最後の頁 291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04324-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishida Y, Hara M, Ohmomo H, Ono K, Shimizu A, Horita M, Shimano C, Taguchi N, Higaki Y, Tanaka K.	4. 巻 54
2. 論文標題 Epigenome-Wide Association Study Identified VT11A DNA Methylation Associated With Accelerometer-Assessed Physical Activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Med Sci Sports Exerc.	6. 最初と最後の頁 1879-1888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1249/MSS.0000000000002970.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwasaka, C., Yamada, Y., Nishida, Y., ...Higaki, Y., Tanaka, K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Association between habitual coffee consumption and skeletal muscle mass in middle-aged and older Japanese people	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatrics and Gerontology International	6. 最初と最後の頁 950-958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.14264	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Shimanoë, C., Matsumoto A., Hara, M., Akao C., Nishida, Y., Horita, M., Nanri H., Higaki, Y., Tanaka, K	4. 巻 125
2. 論文標題 Perceived stress, depressive symptoms, and cortisol-to-cortisone ratio in spot urine in 6878 older adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Psychoneuroendocrinology	6. 最初と最後の頁 105125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psyneuen.2020.105125.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimanoë C., Hachiya T., Hara M., Nishida Y., Tanaka K., Sutoh Y., Shimizu A et al.,	4. 巻 18
2. 論文標題 A genome-wide association study of coping behaviors suggests FBX045 is associated with emotional expression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes, Brain and Behavior	6. 最初と最後の頁 e12481 ~ e12481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gbb.12481	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 古川 拓馬, 西田 裕一郎, 原 めぐみ, 島ノ江 千里, 古賀 佳代子, 岩坂 知治, 福 典之, 檜垣 靖樹, 田中 恵太郎
2. 発表標題 ミトコンドリアハプログループと糖尿病罹患の関連および身体活動の影響
3. 学会等名 第32回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古川拓馬、西田裕一郎、原めぐみ、島ノ江千里、岩坂知治、古賀佳代子、田中恵太郎
2. 発表標題 遺伝的糖尿病リスクと死亡との関連:J-MICC Study
3. 学会等名 第33回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2022年~2023年

1. 発表者名 島ノ江千里
2. 発表標題 ストレスマーカーとしての尿中コルチゾール/コルチゾン比の意義 スポット尿によるグルココルチコイド類測定の実用可能性
3. 学会等名 第27回日本行動医学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中山昌喜、中枋昌弘、河村優輔、山本健、中岡博史、清水聖子、小山晃英、栗木清典、大山博司、島ノ江千里、釜野桜子、前原一輝、桐原真奈、嶽崎俊郎、松尾恵太郎、鈴木貞夫、若井建志、岡田随象、四ノ宮成祥、松尾洋孝
2. 発表標題 病型特異的な痛風関連遺伝子と適応進化の評価：臨床診断された痛風症例のゲノムワイド関連解析から
3. 学会等名 第31回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古賀 佳代子、原 めぐみ、島ノ江 千里、西田 裕一郎、古川 拓馬、岩坂知治、田中 恵太郎、 J-MICC Study Group
2. 発表標題 日本人のストレス対処行動と腎機能との関連：J-MICC横断研究
3. 学会等名 第31回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 島ノ江 千里、松本 明子、赤尾 千穂、原 めぐみ、西田 裕一郎、 南里 妃名子、堀田 美加子、山田 陽介、檜垣 靖樹、田中 恵太郎
2. 発表標題 尿中cortisol/cortisone比と精神健康との関連：J-MICC study SAGA
3. 学会等名 第30回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古賀 佳代子、原 めぐみ、島ノ江 千里、西田 裕一郎、古川 拓馬、田中 恵太郎、 J-MICC Study Group
2. 発表標題 慢性腎臓病と自覚ストレスとの関連：J-MICC横断研究
3. 学会等名 第30回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 島ノ江千里、松本明子、赤尾千穂、原めぐみ、西田裕一郎、堀田美加子、市場正良、田中恵太郎
2. 発表標題 メタボリックシンドロームと心理ストレスバイオマーカーとの関連
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原めぐみ、島ノ江千里、西田裕一郎、堀田美加子、田中恵太郎
2. 発表標題 郵送法による10年後のコーホート追跡調査への回答と関連する要因：J MICC Study佐賀地区
3. 学会等名 第29回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島ノ江千里
2. 発表標題 日本人のストレス対処行動とFBX045遺伝子との関連：J-MICC GWAS
3. 学会等名 第3回 ゲノムコホート研究における遺伝統計学（招待講演）
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 島ノ江 千里、八谷剛史、原 めぐみ、須藤洋一、西田 裕一郎、清水厚志、田中 恵太郎
2. 発表標題 日本人のストレス対処行動に関するGWAS解析：J-MICC study
3. 学会等名 第29回日本疫学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 田中恵太郎、原めぐみ、西田裕一郎、島ノ江千里	4. 発行年 2021年
2. 出版社 北隆館 ニューサイエンス社	5. 総ページ数 4
3. 書名 Precision Medicine 日本多施設共同コホート研究におけるゲノム予防医学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

佐賀大学 教員活動データベース <a href="https://research.dl.saga-u.ac.jp/profile/ja.e115215e234f648d59c123490551be02.html">https://research.dl.saga-u.ac.jp/profile/ja.e115215e234f648d59c123490551be02.html</a> researchmap <a href="https://researchmap.jp/chara">https://researchmap.jp/chara</a>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	松本 明子  (Matsumoto Akiko)  (10330979)	佐賀大学・医学部・准教授   (17201)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田中 恵太郎  (Tanaka Keitaro)  (50217022)	佐賀大学・医学部・教授    (17201)	
研究分担者	西田 裕一郎  (Nishida Yuichiro)  (50530185)	佐賀大学・医学部・講師    (17201)	
研究分担者	原 めぐみ  (Hara Megumi)  (90336115)	佐賀大学・医学部・准教授    (17201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関