

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15486

研究課題名（和文）高齢発症の気分障害におけるゲノム・エピゲノム要因の検討

研究課題名（英文）Investigation of genome and epigenome factors in elderly patients with mood disorders

研究代表者

菅原 裕子（Sugawara, Hiroko）

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90610692

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では双極性障害における遺伝環境相互作用との関連が示唆されているセロトニントランスポーター遺伝子に着目し、高齢発症の気分障害におけるゲノム・エピゲノム要因について検討すると共に、潜在性の双極性障害を検出するバイオマーカーの開発を目的とした。約1500名の高齢健常者の末梢血由来DNAを用いて5HTTLPRの詳細なgenotypingを行い、抑うつ症状との関連を調べた結果、5HTTLPRと抑うつ症状には関連が認められなかった。さらに、高齢健常者3名と高齢双極性障害患者4名の末梢血由来DNAを用いて網羅的なメチル化解析を行い、56453個の遺伝子におけるメチル化差異を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大規模なコホートサンプルを用いて詳細なgenotypingを行うことで、高齢健常者における5HTTLPRと抑うつ症状の関連についての知見を得ることができた。今後はセロトニントランスポーター（SLC6A4）遺伝子のDNAメチル化レベルを測定し、高齢健常者における抑うつ症状とSLC6A4のゲノム・エピゲノム状態の関連を明らかにし、高齢発症の気分障害患者との比較を行うことで、高齢発症の気分障害におけるゲノム・エピゲノム要因について検討する。また、高齢の双極性障害患者におけるエピゲノムバイオマーカーの開発を試みることで、高齢発症の気分障害における分子病態の異種性について検討を行う。

研究成果の概要（英文）：In this study, I aimed to investigate the genomic and epigenomic factors in elderly patients with mood disorders, focusing on the serotonin transporter gene, which has been suggested to be associated with the gene-environmental interaction in bipolar disorder. Furthermore, I tried to develop a biomarker for detecting underdiagnosed patients with bipolar disorder. I performed high throughput genotyping of 5HTTLPR using DNA derived from peripheral blood of about 1500 healthy elderly subjects. As a result, there was no association between 5HTTLPR and depressive symptoms. Then, I performed comprehensive DNA methylation analysis using DNA derived from peripheral blood of 3 elderly healthy subjects and 4 bipolar disorder patients, and identified the differences of DNA methylation in 56453 genes.

研究分野：精神疾患におけるエピジェネティクス

キーワード：双極性障害 高齢者 SLC6A4 5HTTLPR DNAメチル化

1. 研究開始当初の背景

高齢者は加齢に伴う身体的変化に加え、社会的役割や近親者などの喪失体験により心理社会的に孤立しやすく、抑うつに関連する身体・心理・環境といった複数の要因を備えている。現代の高齢化社会において認知症患者数の増加が問題視されているが、これらの中には、注意・集中力や判断力の低下やもの忘れといった症状により認知症との鑑別が困難な高齢者のうつ病患者がある一定数混在している可能性がある。高齢者のうつ病は治療抵抗性で自殺率が高く¹、若年者のうつ病に比して一般的な身体症状のほか、焦燥や心気症状が多いことが知られている²。さらに、治療抵抗性うつ病の多くは双極性障害へ診断変更されること^{3, 4}、焦燥性うつ病は躁転の予測因子となりうること⁵、抑うつエピソードで発症した双極性障害は確定診断までに十数年の時間を要すること⁶を考慮すると、高齢者のうつ病患者の中には潜在性の双極性障害患者が含まれている可能性が考えられる。

精神疾患は遺伝環境相互作用によって発症すると考えられており、エピゲノム要因の関与が示唆されている。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、遺伝子の発現調節へ長期的な影響をもたらすことから、環境要因の作用メカニズムにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。申請者は、一卵性双生児双極性障害不一致例の研究において、セロトニントランスポーター(*SLC6A4*)遺伝子の高メチル化を同定し、双生児の患者のみならず、一般双極性障害患者集団の末梢血および死後脳試料を用いて確認した。また、*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化差異は、上流にある挿入/欠失多型(5HTTLPR)と関連しており、*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化変化を介した遺伝環境相互作用が双極性障害の発症に関与している可能性について報告した⁷。

近年、様々な精神疾患を対象としたエピジェネティクス研究が盛んに行われているが、高齢発症の気分障害を対象とした研究は国内外でほとんど行われていない。加齢に伴い一卵性双生児間のエピゲノム差異が大きくなる⁸ことから、高齢者では様々な身体・心理・環境要因を反映したエピゲノム要因が精神神経疾患の発症に関与している可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では1) *SLC6A4*遺伝子に焦点を当て、65歳以上を対象とした大規模コホートサンプルを用いて高齢健常者の抑うつ症状と*SLC6A4*遺伝子のゲノム・エピゲノム状態との関連を明らかにする。また、2) 高齢発症のうつ病患者における同様の解析結果と比較し、高齢発症の気分障害におけるゲノム・エピゲノム要因についての検討を行う。*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化変化は双極性障害に関連した変化であることから、潜在性の双極性障害を検出するバイオマーカーとしても有用である可能性が考えられる。このことから本研究ではさらに、3) 高齢発症のうつ病患者を*SLC6A4*遺伝子の高メチル化群と低メチル化群の2群に分けゲノムワイドDNAメチル化解析を行い、高齢発症うつ病における分子病態の異種性についての知見を得ると共に、気分障害全体において潜在性の双極性障害を検出するバイオマーカー開発の可能性について検討する。

3. 研究の方法

(1) 高齢健常者を対象とした5HTTLPR・*SLC6A4*メチル化解析

日本医療研究開発機構「健康長寿社会の実現を目指した大規模認知症コホート研究」の一環で研究が行われる熊本県荒尾市在住の高齢健常者約1500名を研究対象とする。Geriatric Depression Scale (GDS)を用いて抑うつ症状を評価するとともに、末梢血よりDNAを抽出し、申請者らが確立したジェノタイピング法⁹を用いて個々の5HTTLPRの詳細な同定を行う。さらにパイロシークエンス法を用いて個々の*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化レベルを測定し、抑うつ症状と5HTTLPR・*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化レベルの各関連について検討する。

(2) 高齢発症の気分障害患者における*SLC6A4*遺伝子のゲノム・エピゲノム関連解析

高齢発症の気分障害患者から末梢血を採取しDNAを抽出する。高齢健常者と同様に5HTTLPRの同定、*SLC6A4* DNAメチル化レベルの測定を行い、5HTTLPRの影響を考慮した上で*SLC6A4*のDNAメチル化レベルについて年齢・性別をマッチさせた健常者と高齢発症の気分障害患者とで比較する。

(3) *SLC6A4*のDNAメチル化レベルを指標としたゲノムワイドDNAメチル化解析

*SLC6A4*遺伝子のDNAメチル化変化に応じて、高齢発症の気分障害患者を*SLC6A4*高メチル化群と低メチル化群に分け、Illumina社のHumanMethylationEPIC BeadChipを用いてゲノムワイドDNAメチル化解析を行う。

両群のメチローム差異の有無について検討するとともに、潜在性の双極性障害である可能性が考えられる*SLC6A4*高メチル化群におけるバイオマーカーの抽出を試みる。

4. 研究成果

(1) 高齢健常者を対象とした 5HTTLPR の genotyping

遺伝子解析に関する同意を得られた高齢健常者 1533 名の末梢血から DNA を抽出し、5HTTLPR の詳細な genotyping を行った。新規多型が同定された 6 名を 解析対象から除外し、5HTTLPR の典型的な分類法である S/S, S/L, L/L の 3 群間において、年齢と性別を考慮した上で GDS に関して分散分析を行った結果、群間に有意差は認められなかった ($p=0.82$)。日本人集団で頻度の高い L タイプである 16-C, 16-D のプロモーター活性は S タイプと同等であることから、16-C, 16-D を S タイプに分類し、S/S, S/L, L/L の 3 群間において同様に分散分析を行った場合も、有意差は認められなかった ($p=0.73$)。これらの結果は、GDS がカットオフ値 6 以上の抑うつ症状が認められた高齢者のみを対象とした場合も同様であった。

(2) 高齢健常者と高齢双極性障害患者におけるゲノムワイド DNA メチル化解析

高齢健常者 3 名と高齢双極性障害患者 4 名の末梢血由来 DNA を用いて、Illumina 社の HumanMethylationEPIC BeadChip によるゲノムワイド DNA メチル化解析を行った。いずれのサンプルにおいても detection P value が 0.05 未満のプローブを解析対象とし、高齢健常者と高齢双極性障害患者間の DNA メチル化レベルについて T 検定を行ったところ、56453 個の遺伝子において有意差を認めた ($p<0.05$)。

研究期間において、所属機関の異動ならびに COVID-19 のパンデミックが重なり、研究遂行に大幅な遅れが生じたものの、本研究では大規模なコホートサンプルを用いて詳細な genotyping を行うことで、高齢健常者における 5HTTLPR と抑うつ症状の関連についての知見を得ることができた。今後は *SLC6A4* 遺伝子の DNA メチル化レベルを測定し、高齢健常者における抑うつ症状と *SLC6A4* のゲノム・エピゲノム状態の関連を明らかにし、高齢発症の気分障害患者との比較を行うことで、高齢発症の気分障害におけるゲノム・エピゲノム要因について検討する。また、高齢の双極性障害患者におけるエピゲノムバイオマーカーの開発を試みることで、高齢発症の気分障害における分子病態の異種性について検討を行う。

<引用文献>

1. Valiengo Lda C, Stella F, Forlenza OV: Mood disorders in the elderly: prevalence, functional impact, and management challenges. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2016; **12**:2105-14.
2. Hegeman JM, Kok RM, van der Mast RC, Giltay EJ: Phenomenology of depression in older compared with younger adults: meta-analysis. *Br J Psychiatry.* 2012; **200**:275-81.
3. Inoue T, Nakagawa S, Kitaichi Y *et al*: Long-term outcome of antidepressant-refractory depression: the relevance of unrecognized bipolarity. *J Affect Disord.* 2006; **95**:61-7.
4. Sharma V, Khan M, Smith A: A closer look at treatment resistant depression: is it due to a bipolar diathesis? *J Affect Disord.* 2005; **84**:251-7.
5. Iwanami T, Maeshima H, Baba H *et al*: Psychomotor agitation in major depressive disorder is a predictive factor of mood-switching. *J Affect Disord.* 2015; **170**:185-9.
6. Drancourt N, Etain B, Lajnef M *et al*: Duration of untreated bipolar disorder: missed opportunities on the long road to optimal treatment. *Acta Psychiatr Scand.* 2013; **127**:136-44.
7. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M *et al*: Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins. *Transl Psychiatry.* 2011; **1**:e24.
8. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF *et al*: Epigenetic differences arise during the

- lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; **102**:10604-9.
9. Ikegame T, Hidaka Y, Nakachi Y *et al*: Identification and functional characterization of the extremely long allele of the serotonin transporter-linked polymorphic region. *Transl Psychiatry*. 2021; **11**:119.

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Ikegame T, Hidaka Y, Nakachi Y, Murata Y, Watanabe R, Sugawara H, Asai T, Kiyota E, Saito T, Ikeda M, Sasaki T, Hashimoto M, Ishikawa T, Takebayashi M, Iwata N, Kakiuchi C, Kato T, Kasai K, Bundo M, Iwamoto K	4. 巻 11;11(1)
2. 論文標題 Identification and functional characterization of the extremely long allele of the serotonin transporter-linked polymorphic region.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 119
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41398-021-01242-9.	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 Ikegame T, Bundo M, Okada N, Murata Y, Koike S, Sugawara H, Saito T, Ikeda M, Owada K, Fukunaga M, Yamashita F, Koshiyama D, Natsubori T, Iwashiro N, Asai T, Yoshikawa A, Nishimura F, Kawamura Y, Ishigooka J, Kakiuchi C, Sasaki T, Abe O, Hashimoto R, Iwata N, Yamasue H, Kato T, Kasai K, Iwamoto K	4. 巻 1;46(6)
2. 論文標題 Promoter Activity-Based Case-Control Association Study on SLC6A4 Highlighting Hypermethylation and Altered Amygdala Volume in Male Patients With Schizophrenia.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Schizophrenia Bulletin.	6. 最初と最後の頁 1577-1586
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/schbul/sbaa075.	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 Sugawara H, Bundo M, Kasahara T, Nakachi Y, Ueda J, Kubota-Sakashita M, Iwamoto K, Kato T.	4. 巻 6;15(1)
2. 論文標題 Cell-type-specific DNA methylation analysis of the frontal cortices of mutant Polg1 transgenic mice with neuronal accumulation of deleted mitochondrial DNA.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Brain.	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-021-00894-4.	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0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------