

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17113

研究課題名(和文) TREM2遺伝子のエピジェネティクス変化による精神神経疾患のバイオマーカー同定

研究課題名(英文) Biomarker identification of neuropsychiatric disorders by epigenetic changes in the TREM2 gene

研究代表者

尾崎 優樹 (ozaki, yuki)

愛媛大学・医学系研究科・研究員

研究者番号：40769527

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)：PD患者(37名)とDLB患者(23名)、性、年齢の一致した健常者の末梢白血球中のDRD2遺伝子のプロモーター領域、計7つのCpGサイトのメチル化率を測定した。その結果、PD患者は健常者と比較して、すべてのCpGサイトにおいてDRD2メチル化率が低い傾向にあった。一方、DLB患者は健常者と比較して、6つのCpGサイトにおいてDRD2メチル化率が高い傾向にあった。7つのCpGサイトにおけるDRD2のDNAメチル化率を使用したPDとDLBの判別分析により、感度と特異度はそれぞれ83.8%と90.9%であり、DRD2のメチル化率がPDとDLBの診断のバイオマーカーとなり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

パーキンソン病(PD)とレビー小体型認知症(DLB)は、臨床的、病理学的、遺伝的、生化学的に共通点が多い。我々はPD患者(37名)とDLB患者(23名)、性、年齢の一致した健常者の末梢白血球中のDRD2遺伝子のプロモーター領域、計7つのCpGサイトのメチル化率を測定し、両疾患の鑑別診断や治療のバイオマーカーになり得るかを検討した。結果、7つのCpGサイトにおけるDRD2のDNAメチル化率を使用したPDとDLBの判別分析により、感度と特異度はそれぞれ83.8%と90.9%であり、DRD2のメチル化率がPDとDLBの診断のバイオマーカーとなり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim was to clarify whether DRD2 methylation changes in leukocytes of Parkinson's disease (PD) or dementia with Lewy bodies (DLB) patients are seen and can be used to discriminate between them. Methylation rates were examined in 37 PD patients and 37 age- and sex-matched healthy controls, 23 DLB patients and 23 age- and sex-matched healthy controls. As a result, PD patients tended to have lower DRD2 methylation rates at all CpG sites than healthy subjects. On the other hand, DLB patients tended to have higher DRD2 methylation rates at 6 CpG sites than healthy subjects. Discriminant analysis between DLB and PD using 7 CpG sites demonstrated sensitivity and specificity of 83.8% and 90.9%, respectively. These results may be an important step in understanding epigenetic mechanisms underlying DLB and PD pathogenesis and providing a novel biomarker for discriminating between them.

研究分野：分子生化学

キーワード：エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年 *TREM2* の SNP が AD 発症のリスク上昇に優位に関連していることが報告され、*TREM2* と精神疾患との関連に注目が集まっている。我々の研究室でも、白血球を利用したうつ病や統合失調症、アルツハイマー型認知症 (AD) をはじめとした認知症の病態解明とバイオマーカーの検索を行っており、過去に AD や統合失調症の白血球における *TREM2* mRNA 発現量が健常者やうつ病患者と比較して有意に高いこと (Mori et al. PLoS One 2015, Yoshino et al. J Neural Transm 2016) や、AD の白血球における *TREM2* 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化率が健常者と比較して低いことを報告している (Ozaki et al. J Psychiatr Res 2017)。しかし AD との鑑別が重要となるレビー小体型認知症 (DLB) やうつ病や認知症を合併する割合が高く、DLB とも共通点が多いパーキンソン病 (PD) では検討がなされていない。DLB と PD の病態に *TREM2* が関与している可能性が高いと考え、DLB や PD 患者における白血球の *TREM2* mRNA 発現量を測定し、健常者群と比較した。

また、過去に *DRD2* の機能的 SNP が PD 患者におけるレボドパの薬物療法の効果や副作用に影響を与えること、DLB 患者におけるレボドパおよびドーパミンアゴニストの過敏性に影響を与えるということなどが報告されている。我々は PD 患者や DLB 患者の白血球における *DRD2* DNA メチル化率を測定することで、これらの疾患の鑑別診断や治療のバイオマーカーになりうるかを検討したいと考えた。

2. 研究の目的

PD と DLB は、臨床的、病理学的、遺伝的、生化学的に共通点が多く、両疾患の鑑別が困難である場合も少なくない。今回我々は、PD 患者と DLB 患者、性、年齢の一致した健常者の末梢白血球中の *TREM2* プロモーター領域の計 4 つの CpG サイトにおける遺伝子発現量、*DRD2* のプロモーター領域の計 7 つの CpG サイトにおける DNA メチル化率を測定し、これらの遺伝子が両疾患の鑑別診断や治療のバイオマーカーになり得るかを検討した。

3. 研究の方法

サンプル収集：

当院を受診した患者の内、国際的診断基準である DLB の臨床診断基準改訂版 (第 3 回 DLB 国際ワークショップ) あるいは PD の診断基準 (UK brain bank) を満たす者を対象とする。性別、年齢を一致させた健常ボランティアにもご協力頂く。いずれの群も書面を用いた同意を得た後に研究に参加して頂いた。最終的に PD 患者 (37 名) と DLB 患者 (23 名)、性、年齢の一致した健常者のサンプルを収集した。

RNA quality のチェック：

白血球より total RNA を精製し、逆転写酵素を用いて cDNA を作成し保存した。Total RNA が抽出できた時点で、RNA の quality をチェックした。

遺伝子発現量測定：

当研究室に常備されている Real-time PCR を用いて、Taqman プローブ法にて遺伝子発現量を解析した。

DNA メチル化解析：

当研究室に常備されている Pyrosequencer (PyroMark Q24 Advanced) を用いた。遺伝子 DNA の精製にはカラム法を用い、バイサルファイト変換した DNA を PCR 処理後に解析する DNA 量を増やし、PyroMark Q24 で解析することで信頼性の高いデータを得ることに成功した。

4 . 研究成果

PD 患者 (37 名) と DLB 患者 (23 名) 性、年齢の一致した健常者の末梢白血球中の *TREM2* プロモーター領域、計 4 つの CpG サイトにおける遺伝子発現量を測定したが、PD 患者群、DLB 患者群ともに健常者における *TREM2* 発現量との間に有意な差は認められなかった。

また同サンプルにおいて、*DRD2* プロモーター領域、計 7 つの CpG サイトのメチル化率を測定した。その結果、PD 患者群は健常者群と比較して、すべての CpG サイトにおいて *DRD2* メチル化率が低い傾向にあった。一方、DLB 患者は健常者と比較して、6 つの CpG サイトにおいて *DRD2* メチル化率が高い傾向にあった。7 つの CpG サイトにおける *DRD2* メチル化率を使用した PD と DLB の判別分析により、感度と特異度はそれぞれ 83.8% と 90.9% であり、*DRD2* メチル化率が PD と DLB の診断のバイオマーカーとなり得ることが示唆された。(Ozaki Y et al. *DRD2* methylation to differentiate dementia with Lewy bodies from Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand.* 2020 Feb;141(2):177-182.)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ozaki Y, Yoshino Y, Yamazaki K, Ochi S, Iga J, Nagai M, Nomoto M, Ueno S.	4. 巻 2
2. 論文標題 DRD2 methylation to differentiate dementia with Lewy bodies from Parkinson's disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neurologica Scandinavica.	6. 最初と最後の頁 177~182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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
---------	---------