

令和元年6月11日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19766

研究課題名(和文)自殺者血液・死後脳におけるテロメア長およびミトコンドリアDNAコピー数の解析

研究課題名(英文)Telomere length and mitochondrial DNA copy number in blood and brain of suicide completers

研究代表者

白岩 恭一 (Shiroiwa, Kyoichi)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：00420852

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：心理的ストレスへの曝露や、種々の精神疾患罹患により、テロメア長(TL)やミトコンドリアDNAコピー数(mtDNAcn)が異常を来すことが知られている。我々は自殺既遂者検体と対照者検体のTL・mtDNAcnを定量的PCR法にて測定した。自殺既遂者末梢血では有意にTLが短縮・mtDNAcnが増加しており、年代によって関連の強さに差異を認めた(TL短縮は若年自殺者でより顕著に、mtDNAcn増加は高齢自殺者でより顕著にみられた)。さらに自殺既遂者群の死後前頭前皮質では対照者群に比して顕著なTL短縮、mtDNAcn低下がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

テロメア長短縮は精神疾患やストレスの簡便かつ有用なバイオマーカーになりうることから大きな注目を集めている。自殺とテロメア、さらにはミトコンドリアとの関連について、大規模な自殺既遂者サンプルを用いた解析が可能な研究機関は世界的に見ても非常に稀少である。本研究成果は、末梢血テロメア長やテロメア長制御遺伝子の発現、ミトコンドリアDNAコピー数を用いた自殺リスクの判定や、生物学的異常に基づいた合理的な創薬などにつながる可能性があり、今後の自殺予防に関する生物学的知見として高い学術的意義を有すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Short telomere length (TL) and alterations of mitochondrial DNA copy number (mtDNAcn) occur in individuals under psychological stress, and with various psychiatric diseases. However, no study has examined whether aberrant TL or mtDNAcn occur in completed suicide. TL and mtDNAcn in samples from suicide completers (508 peripheral bloods; 20 brains) and controls (peripheral bloods from 535 healthy individuals; 25 post-mortem brains) were analysed by qPCR. Suicide completers had significantly shorter TL and higher mtDNAcn of bloods with age-dependent differences (shorter TL was more remarkably in young suicides; higher mtDNAcn more so in elderly suicides). The normal age-related decline of TL and mtDNAcn were significantly altered in suicide completers. Furthermore, shorter TL and lower mtDNAcn of post-mortem prefrontal cortex were seen in suicide completers compared to controls. This study shows the first association of aberrant telomeres and mtDNA content with suicide completion.

研究分野：自殺

キーワード：自殺 テロメア ミトコンドリア

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

### 1. 研究開始当初の背景

生物学的加齢の指標として知られる末梢血白血球テロメア長は、うつ病・統合失調症・心的外傷後ストレス障害などの精神疾患への罹患や幼少期の虐待などのストレスにより、短縮することが知られている。白血球テロメア長は簡便に測定できるため、精神疾患やストレスのバイオマーカーとしても期待されている (Lindqvist et al., *Neurosci Biobehav Rev* 2015)。また近年、細胞老化のメカニズムとしてテロメア短縮と並んでミトコンドリア機能不全の関与が注目されており、精神疾患領域でも報告が盛んである (Tyrka et al., *Biol Psychiatry* 2016)。しかしながら、精神疾患やストレス負荷の最悪の転帰といえる「自殺」とテロメア・ミトコンドリア DNA についての研究は、自殺試料の入手困難性の問題もあり、未だ報告がなかった。当研究グループは遺族の深いご理解の下、神戸大学法医学教室と兵庫県監察医務室との密な連携により、世界最大規模の自殺既遂者血液サンプルおよび 23 例の自殺既遂者死後脳サンプルを保有しており、精力的に自殺の生物学的研究を進めてきた。

### 2. 研究の目的

そこで我々は豊富な自殺既遂者試料を保有する強みを生かし、自殺既遂者死後血液・死後脳サンプルにおいて、テロメアやミトコンドリア DNA の異常がみられるかを明らかにすること、その生物学的機序の追求のためストレスラットの脳領域・末梢血でのテロメア・ミトコンドリア DNA 動態を評価する *in vivo* の解析を行うこと、の 2 点を主な目的として、本研究計画を立案した。

### 3. 研究の方法

我々は自殺既遂者 508 例および健常者 535 例の末梢血サンプル、自殺既遂者 20 例および非自殺対照者 25 例の死後脳前頭前皮質組織サンプルについて、先行文献により確立されたプライマーを用いて定量 PCR を行い、相対的テロメア長/ミトコンドリア DNA コピー数を測定した。末梢血の解析からは、テロメアやミトコンドリア DNA に影響を及ぼす可能性のある身体疾患既往の対象者を除外した。

「自殺 極度のストレス暴露状態」と捉え、ストレス負荷ラットを用いた *in vivo* の実験を計画した。

#### 【用いたストレス負荷ラット】

幼若期ストレスラット：生後 3 週齢で 0.5mA、1sec の電撃ストレスを 10 回/日、5 日間負荷 10 週齢で断頭

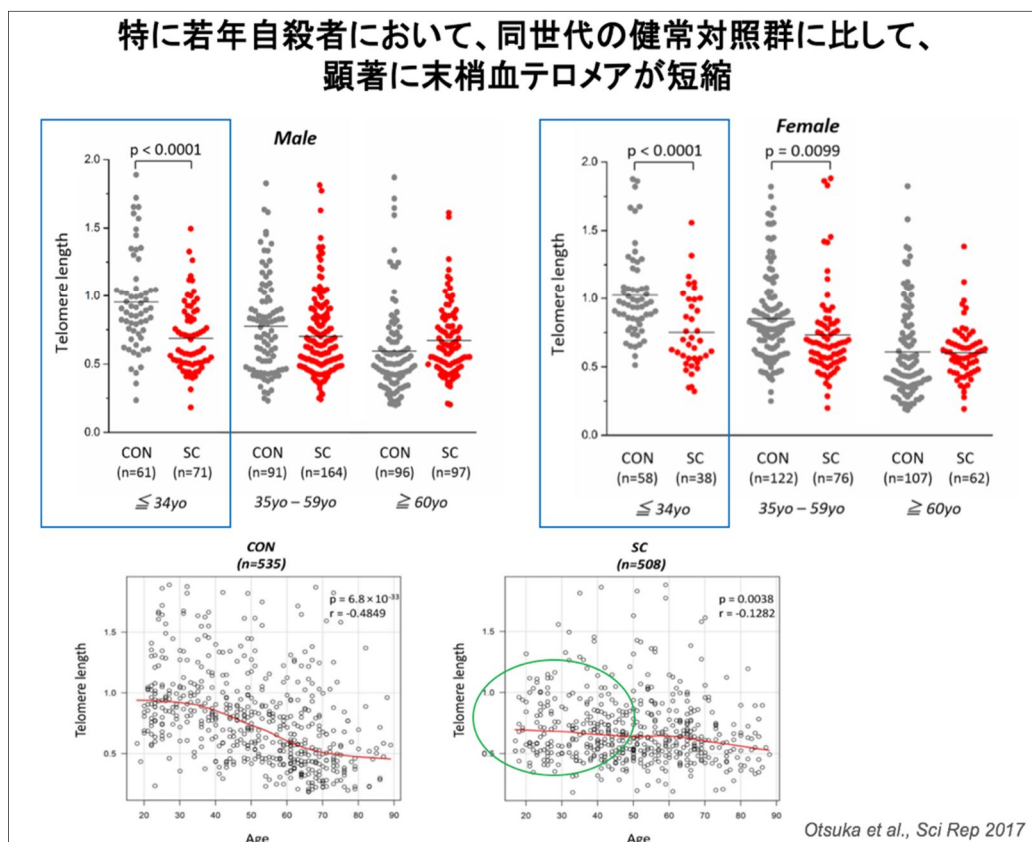
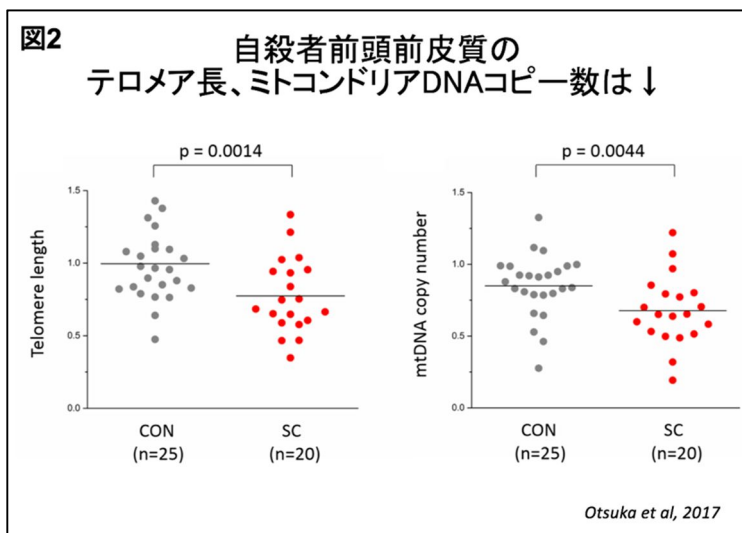


図 1

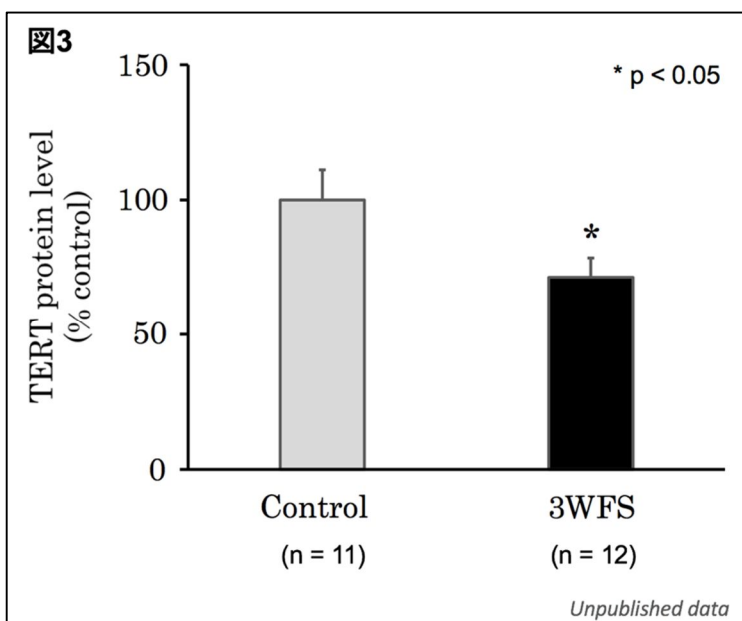
反復拘束ストレスラット：生後7週齢で3時間/日の拘束ストレスを7日間負荷 10週齢で断頭  
 上記2種類のストレス負荷マウスの脳組織（前頭前皮質・海馬・扁桃体）および末梢血のテロメア長およびテロメラーゼ逆転写酵素（TERT）mRNA/タンパク発現を定量 PCR・ウェスタンブロットにて測定した。ストレス負荷ラット、コントロールラットそれぞれ6匹ずつオスラットを用いた。

#### 4. 研究成果

自殺既遂者末梢血では有意にテロメア長が短縮・ミトコンドリア DNA コピー数が増加しており、年代によって関連の強さに差異を認めた（テロメア短縮は若年自殺者でより顕著にみられ、ミトコンドリア DNA コピー数増加は高齢自殺者でより顕著にみられた）。一般集団の先行研究と同様、健常者群では加齢に伴うテロメア短縮とミトコンドリア DNA コピー数の低下がみられたが、自殺既遂者群では本来みられるはずの加齢との相関が著しく弱まっていた（図1）。さらに自殺既遂者群の死後前頭前皮質では対照者群に比して顕著な TL 短縮、mtDNAcn 低下がみられた（図2）。本成果はオープンアクセスの学術雑誌 Scientific Reports にて発表した。



幼若期ストレスラットのの前頭前皮質や海馬のテロメア長は対照群のコントロールラットに比して顕著に短縮していた。また幼若期ストレスラット海馬にてテロメラーゼ逆転写酵素(TERT)の mRNA/タンパク発現が低下していることを確認した（図3）。



「若年自殺者ほど末梢血テロメア長が顕著に短縮している」という我々の見出した知見は、最近韓国の研究機関によって同様の報告がなされ（Kim et al., *J Psychosom Res* 2019）より信頼性の高いものとなった。日本は諸外国に比しても自殺者の割合が多く、長年の深刻な社会問題である。特に、様々な政策を打っても若年自殺者数の減少になかなか効果が乏しく、この傾向は

米国などでもより顕著である。最終的には、本研究成果を元に、現在の自殺問題における最重要課題ともいえる「若年者の自殺予防」に有用な世界初のバイオマーカーを、簡便かつ非侵襲的に採取可能な末梢血サンプルでの測定にて可能なものとして確立したいと考えている。現在、なぜ自殺既遂者やストレスラットのテロメア長が短縮するのかという機序の部分について一步迫るため、自殺既遂者死後脳・末梢血試料におけるテロメア関連の遺伝子領域(TERT、TERC)のCpG サイト(特にCpG アイランド)についても網羅的メチル化アレイ・パイロシーケンシング・メチル化特異的定量 PCR といった複数の手法にて測定し、非自殺者群との比較を行っているところである。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Otsuka I, Izumi T, Boku S, Kimura A, Zhang Y, Mouri K, Okazaki S, Shiroywa K, Takahashi M, Ueno Y, Shirakawa O, Sora I, Hishimoto A. Aberrant telomere length and mitochondrial DNA copy number in suicide completers. Sci Rep. 2017;7:3176. doi: 10.1038/s41598-017-03599-8.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

アクセス数の多さから、掲載雑誌のお勧めコンテンツとして取り上げられた。

<https://www.natureasia.com/ja-jp/srep/abstracts/88534>

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号（8桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大塚郁夫

ローマ字氏名：Otsuka Ikuo

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、研究者個人に帰属されます。