

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15733

研究課題名（和文）統合失調症におけるDNAメチル化関連遺伝子の発現量と多形について

研究課題名（英文）Expression levels of DNA methylation-related genes in schizophrenia

研究代表者

富岡 有紀子（TOMIOKA, Yukiko）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：70748029

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：DNMT1, DNMT3aという遺伝子の発現量について統合失調症と健常対照群との比較を行った。その結果、健常群と比較して、未治療統合失調症群や慢性期統合失調症群ではDNMT1, DNMT3aの遺伝子発現量は共に有意に上昇していた。次に、血漿ホモシステイン、血清葉酸、血清ビタミンB6のそれぞれの数値とDNMT遺伝子の発現量の関連を検討した。その結果、統合失調症群ではDNMT3aと葉酸に有意な相関が観察された。これらの結果は統合失調症におけるDNAメチル化の関与を支持するものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症は約100人に1人が罹患するよくある疾患でありながら、その病因については明らかではない。当研究では、遺伝情報を変化させるDNAメチル化を担っているDNMT遺伝子の発現量について、統合失調症と健常対象者との比較を行った。その結果、統合失調症患者ではDNMT遺伝子の発現量が有意に増加していることを示した。この結果は、統合失調症患者にはDNAメチル化の異常が起こっていることを示している。本研究は末梢血を用いており、今後は診断の役に立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The expression levels of the genes DNMT1 and DNMT3a were compared between the schizophrenia and healthy control groups. The results showed that the gene expression levels of DNMT1 and DNMT3a were both significantly elevated in the untreated schizophrenia group and the chronic phase schizophrenia group compared to the healthy group. Next, we examined the association between plasma homocysteine, serum folate, and serum vitamin B6 and DNMT gene expression levels. As a result, a significant correlation was observed between DNMT3a and folate in the schizophrenia group. These results support the involvement of DNA methylation in schizophrenia.

研究分野：精神医学分野、分子生物学

キーワード：DNAメチル化 統合失調症 one-carbon metabolism ビタミンB群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は環境要因と遺伝的要因が複合して発症する多因子疾患であると考えられているが、病因については不明な点が多い。近年 DNA の塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現に影響を与えるエピジェネティックな遺伝子制御機構が注目されており、そのうちのひとつが DNA メチル化である。DNMT 遺伝子はこの DNA メチル化を担っており、先行研究でも統合失調症患者における DNMT 遺伝子発現量の異常が報告されている。また、研究代表者らはこれまでに one-carbon metabolism という代謝経路について、統合失調症患者の末梢血で、高ホモシステインや低ビタミン B6、低葉酸等の複数の異常が起きていることを報告している。DNMT は one-carbon metabolism 内に存在する酵素でも有り、DNMT 遺伝子と one-carbon metabolism 関連因子との相関を検討することも有用であると考えられた。

2. 研究の目的

- (1) 統合失調症患者と健常対象群について DNMT の遺伝子発現を比較検討する
- (2) DNMT 遺伝子発現量と one-carbon metabolism に関連する因子 (葉酸、ビタミン B6、ホモシステイン) との相関を解析する

3. 研究の方法

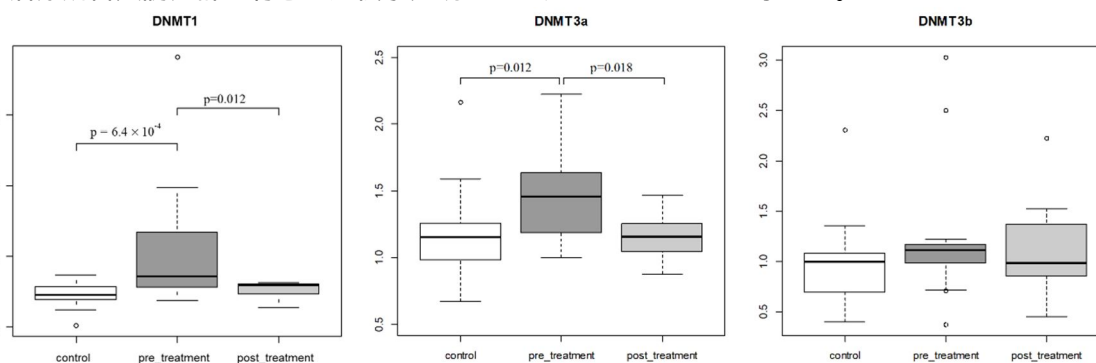
(1) 第 1 セットの対象者は 15 名の未投薬の急性期統合失調症患者と 16 名のコントロールであり、第 2 セットの対象者は 93 人の慢性期統合失調症患者と 90 名のコントロールである。それぞれのセットにおいて、疾患群と健常群は年齢や性別をマッチさせた。

これらのサンプルの末梢血白血球から total RNA を抽出し、RNA integrity number が十分高いことを確認した後、cDNA に逆転写し、遺伝子発現量計測のために ABI 7500 Fast Real-Time PCR System と Taqman プローブ (Applied Biosystems) を用いてリアルタイム定量 RT-PCR 解析を実施した。遺伝子発現の測定は duplicate で行った。統合失調症サンプルと対照サンプルにおける相対的な発現量の測定には、Ct 法を使用した。ハウスキーピング遺伝子として ABL1 を使用した。

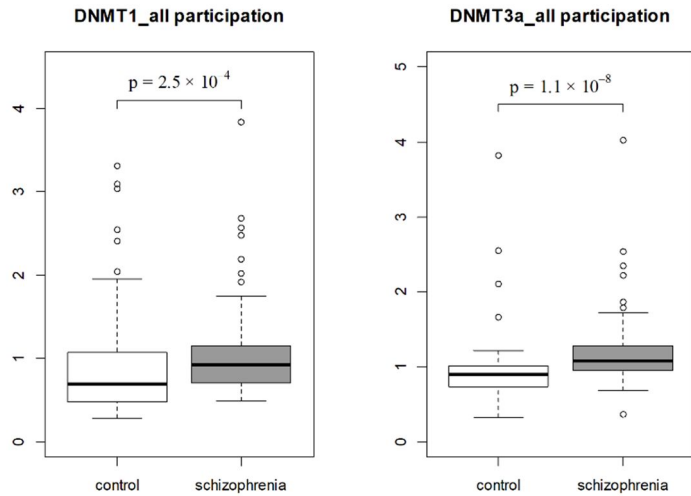
(2) 統計解析については、統合失調症患者と対照者の遺伝子発現量の差については Mann-Whitney U test を使用した。one-carbon metabolism 関連因子と DNMT 遺伝子発現量との関連の検討についてはスピアマンの順位相関係数を使用した。統計解析は R ソフトウェア (ver.4.0.5) を用いて行い、閾値は $p=0.05$ で統計的有意差とした。多重比較を調整するために、FDR (False Discovery Rate) アプローチを用いた。

4. 研究成果

(1) DNMT 遺伝子のサブタイプ (1, 3a, 3b) ごとに、未投薬急性期統合失調症 (N=15)、同サンプルでの治療後、健常群 (N=16) の 3 群間での遺伝子発現量を検討した。その結果、1 と 3a について未治療統合失調症群で有意に遺伝子発現量が上昇していることを示した。



(2) 次に、慢性期統合失調症サンプル (N=93) を使用し、年齢・性別を調整した健常群 (N=90) を用意した。これら 2 群における DNMT1, 3a の遺伝子発現量を計測したところ、慢性期統合失調症群で発現量の有意な上昇が示された。



(3) 次に、one-carbon metabolism(OCM)との関連を調べるべく、得られている血漿ホモシステイン、血清葉酸、血清ビタミン B6 のそれぞれの濃度と DNMT 遺伝子の発現量の相関を検討した。その結果、葉酸と DNMT3a に関しては有意な相関が認められており、統合失調症における DNMT 遺伝子発現量や OCM の関与の可能性を支持する結果が得られた。

DNMT3a	total N=183	control N=90	schizophrenia N=93
folate	rho= -0.37	rho= -0.17	rho= -0.25
	$p=3.2 \times 10^{-7}$	p=0.12	$p=0.015$
	adjusted p=2.9 × 10⁻⁶	adjusted p=0.18	adjusted p=0.035
pyridoxal (B6)	rho= -0.26	rho=0.07	rho=-0.11
	$p=4.5 \times 10^{-4}$	p=0.49	p=0.28
	adjusted p=0.002	adjusted p=0.55	adjusted p=0.36
tHcy	rho= 0.25	rho=0.18	rho=-0.06
	$p=8.1 \times 10^{-4}$	p=0.09	p=0.55
	adjusted p=0.002	adjusted p=0.16	adjusted p=0.55
CP	-	-	rho= -0.13
			p=0.21

adjusted p; FDR adjusted p-value. Bold indicates significance.

令和 4 年度には、以上の結果について英語論文として一旦まとめたが、考察を考える上でサンプル数が比較的小さいことや、PCR のテクニカルレプリケートを duplicate で行っていることが制限事項として挙げられた。そのため、サンプル数を可能な限り増やして、テクニカルレプリケートをより一般的な triplicate で実施する必要があると考え、現在再実験中である。令和 5 年中に英語論文としてまとめ、投稿を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 富岡 有紀子、木下 誠、中山 知彦、梅原 英裕、中瀧 理仁、沼田 周助
2. 発表標題 統合失調症患者におけるDNMT1と3aの遺伝子発現量の検討
3. 学会等名 第16回日本統合失調症学会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------