

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：32653

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890250

研究課題名（和文） 双極性障害におけるセロトニントランスポーターのエピジェネティック制御

研究課題名（英文） Epigenetic regulation of serotonin transporter in bipolar disorder

研究代表者

菅原 裕子（SUGAWARA HIROKO）

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：90610692

研究成果の概要（和文）：

一卵性双生児不一致例のリンパ芽球を用いて、ゲノム中の全プロモーター領域における DNA メチル化解析を行った結果、抗うつ薬の標的分子で、気分障害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（*SLC6A4*）におけるメチル化差異が同定された。罹患双生児で見られた *SLC6A4* の高メチル化は、リンパ芽球を用いた症例対照研究で確認され、*SLC6A4* の HTTLPR (serotonin-transporter-linked polymorphic region) 遺伝子型が S (short)/S 型の者のみでメチル化と遺伝子発現量が逆相関し、発現量は S/S 型の患者のみで低かった。更に死後脳においても、双極性障害における *SLC6A4* の高メチル化が確認された。

研究成果の概要（英文）：

We performed promoter-wide DNA methylation analysis of lymphoblastoid cell lines (LCLs) derived from two pairs of monozygotic twins discordant for bipolar disorder (BD). We found distinct difference of DNA methylation in *SLC6A4* encoding serotonin transporter (HTT), which is a target of antidepressants and is one of the strongest candidate molecules of mood disorder. Promoter hypermethylation of *SLC6A4* in LCLs of BD patients was confirmed in a case-control analysis. DNA methylation of *SLC6A4* was significantly correlated with its mRNA expression level in individuals with the S/S genotype of serotonin transporter-linked promoter region (HTTLPR), and mRNA expression level was lower in BD patients carrying the S/S genotype. DNA methylation of the same site was also higher in the postmortem brains of BD patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：双極性障害、一卵性双生児、セロトニントランスポーター、DNA メチル化、死後脳

1. 研究開始当初の背景

双極性障害は、統合失調症と同様、主要な精神疾患の1つであり、躁病相とうつ病相を繰り返す病態を特徴とする。罹患率は人口の約1%と非常に高く、両病相における社会的機能の喪失が大きいことに加え、高い再発率・自殺率を伴う重篤な疾患である。発症の原因としては、その高い遺伝率から遺伝要因の関与が確実視されている。しかし、これまで多くの候補遺伝子解析や連鎖解析が行われ、さらに近年では多施設共同研究による大規模なゲノムワイド関連研究も盛んに行われているものの、研究グループ間で一致した結果が得られず、非常に効果の小さな遺伝要因の同定に留まっており、エピジェネティック要因の関与も示唆される。我々は、よく特徴付けられた一卵性双生児不一致例について精査し、不一致の原因となるDNA メチル化差異を探索した結果、唯一、確実にDNA メチル化差異が見られる遺伝子が、セロトニントランスポーター(*SLC6A4*)であることを見出した。

2. 研究の目的

本研究では、双生児における所見が何らかのゲノム差異によるものかどうかを、一卵性双生児双極性障害不一致例におけるマイクロアレイを用いたコピー数変異(CNV)の網羅的解析により検討する。更に、双生児間メチル化差異が同定された候補領域に関して、多数例の双極性障害患者および対照群の培養リンパ芽球、およびスタンレーブレインバンクより供与を受けた双極性障害患者死後脳より単離

した神経細胞核を用いた検討を行う。

3. 研究の方法

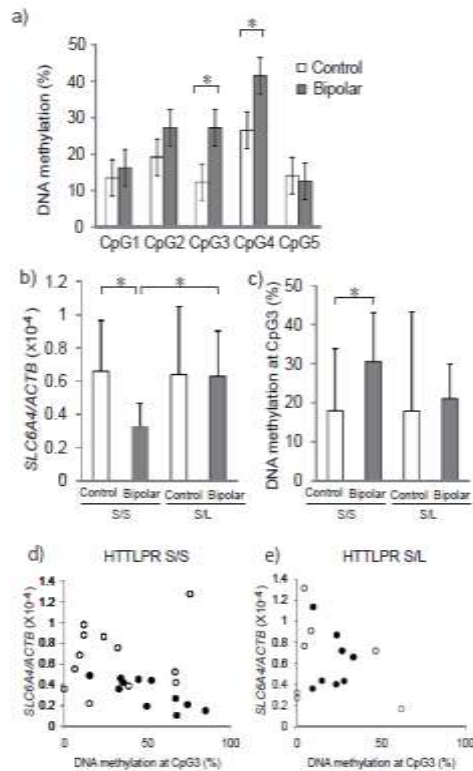
一卵性双生児双極性障害不一致例から樹立したリンパ芽球細胞株からDNAを抽出し、Agilent社のCNVアレイを用いて、CNV解析を行った。

多数例の健常者ならびに双極性障害患者の培養リンパ芽球のDNAにおいて、Pyrosequencerを用いて、*SLC6A4*のメチル化状態を調べた。また、スタンレーブレインバンクより供与を受けた、患者および対照群の死後脳からDNAを抽出し、Pyrosequencerを用いてDNAメチル化解析を行った。

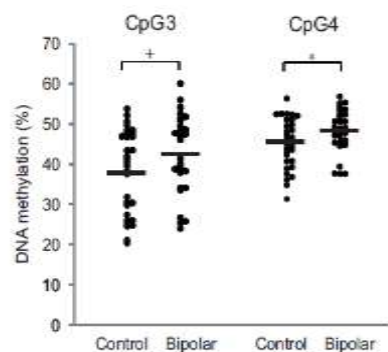
4. 研究成果

一卵性双生児不一致例におけるCNV解析の結果、免疫グロブリン関連遺伝子が存在する領域のみ双生児間差異が確認され、Bリンパ球における抗体再編成を反映すると考えられた。

罹患双生児で見られた*SLC6A4*の高メチル化について、リンパ芽球を用いた症例対照研究を行った結果、*SLC6A4*のメチル化は双極性障害患者で有意に高いことが確認された(a)。また、*SLC6A4*のHTTLPR遺伝子型がS/S型の者のみで*SLC6A4*の発現量は有意に低く、*SLC6A4*のメチル化と遺伝子発現量が逆相関していた(b-d)。



更に死後脳においても、双極性障害における *SLC6A4* の高メチル化が確認された(下図)。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Sugawara H, Bundo M, Ishigooka J, Iwamoto K, Kato T. Epigenetic regulation of serotonin transporter in psychiatric disorders. *J Genet Genomics* (in press), 2012. [査読あり]

2. Yu CC, Furukawa M, Kobayashi K, Shikishima C, Cha PC, Sese J, Sugawara H, Iwamoto K, Kato T, Ando J, Toda T. Genome-wide DNA methylation and gene expression analyses of monozygotic twins discordant for intelligence levels. *PLoS ONE* (in press), 2012, doi:10.1371/journal.pone.0047081. [査読あり]

3. Nishimura K, Kobayashi S, Sugawara H, Nakajima I, Ishida H, Fuchinoue S, Tanabe K, Ishigooka J: Psychiatric consultation after kidney transplantation: a 10-year single-center study including outpatients in Japan. *Int J Psychiatr Med* 43: 197-209, 2012. [査読あり]

4. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Miyauchi T, Komori A, Kazuno A, Adati N, Kusuni I, Okazaki Y, Ishigooka J, Kojima T, Kato T. Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins. *Transl Psychiatry* 2011 Jul 26;1:e24. doi: 10.1038/tp.2011.26. [査読あり]

5. Nishimura K, Oshibuchi H, Kobayashi S, Sugawara H, Sannomiya A, Nakajima I, Fuchinoue S, Teraoka S, Ishigooka J. Graft loss in a living kidney transplant patient with Munchausen syndrome. *Psychosomatics* 2011 Jul-Aug;52(4):394-5. [査読あり]

6. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Ishigooka J, Kato T. Comprehensive DNA methylation analysis of human peripheral blood leukocytes and lymphoblastoid cell lines. *Epigenetics* 2011 Apr 1;6(4). [査読あり]

7. Sugawara H, Sakamoto K, Harada T, Ishigooka J. Predictors of efficacy in lithium augmentation for treatment-resistant depression. *J Affect Disord* 2010 Sep;125(1-3):165-8. [査読あり]

8. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ishiwata M, Ueda J, Kakiuchi C, Ishigooka J, Kato T. Effect of mood stabilizers on gene

expression in lymphoblastoid cells. *J Neural Transm* 2010 Feb;117(2):155-64. [査読あり]

9. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Kazuno A, Nakano Y, Ishigooka J, Kato T. A 3-bp deletion of mitochondrial DNA tRNA^{Lys} observed in lymphoblastoid cells. *J Hum Genet* 2009 Oct;54(10):612-3. [査読あり]

10. Oshibuchi H, Inada K, Sugawara H, Ishigooka J. Aripiprazole and haloperidol suppress excessive dopamine release in the amygdala in response to conditioned fear stress, but show contrasting effects on basal dopamine release in methamphetamine-sensitized rats. *Eur J Pharmacol* 2009 Aug 1;615(1-3):83-90. [査読あり]

11. Sugawara H, Nishimura K, Kobayashi S, Ishida H, Tanabe K, Ishigooka J. Paradoxical depression in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2008 Dec;40(10):3448-50. [査読あり]

[学会発表] (計 6 件)

1. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Miyauchi T, Komori A, Kazuno A, Adati N, Kusuni I, Okazaki Y, Ishigooka J, Kojima T, Kato T. Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins. 2nd EABF, 7-8 September in Fukuoka

2. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Miyauchi T, Komori A, Kazuno A, Adati N, Kusuni I, Okazaki Y, Ishigooka J, Kojima T, Kato T. Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins. XXVIIIth CINP Congress, 3-7 June in Stockholm

3. 菅原裕子、文東美紀、上田順子、宮内妙子、窪田美恵、笠原和起、石郷岡純、岩本和也、加藤忠史. ミトコンドリア機能障害仮説に基づく双極性障害モデルマウスにおける DNA メチル化解析 DNA. 第 6 回エピジェネティクス研究会年回. 2012. 5. 14-15, 東京

4. 菅原裕子、岩本和也、文東美紀、足立直樹、久住一郎、岡崎祐士、石郷岡純、小島俊男、加藤忠史. 一卵性双生児不一致例のエピゲノム解析で同定された双極性障害における *SLC6A4* の高メチル化. 第 6 回エピジェネティクス研究会年回. 2012. 5. 14-15, 東京

5. Sugawara H, Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, Miyauchi T, Komori A, Kazuno A, Adati N, Kusuni I, Okazaki Y, Ishigooka J, Kojima T, Kato T. Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins. 5th Biennial Conference of ISBD, 2012. 3. 14-17, Istanbul

6. 菅原裕子、岩本和也、文東美紀、上田順子、宮内妙子、小森敦子、数野杏亜、足立直樹、久住一郎、岡崎祐士、石郷岡純、小島俊男、加藤忠史. 一卵性双生児双極性障害不一致例におけるゲノム差異およびエピゲノム差異の探索. 第 33 回日本生物学的精神医学会, 2011. 5. 21-22, 東京

[図書] (計 21 件)

1. 【精神疾患の薬理学的理解を薬物治療や心理教育にどう生かすか】 うつ病の生物学的・薬理学的理解と臨床への活用. 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神薬理 15 巻 8 号

Page1305-1309(2012. 08)

2. 【双極性障害の治療】 うつ状態. 菅原裕子, 加藤忠史. 精神科 20 巻 4 号 Page367-370(2012. 04)
3. うつ病治療の実際 再び大うつ病治療におけるリチウムの意義を考える. 菅原裕子, 石郷岡純. Depression Frontier10 巻 1 号 Page77-80(2012. 03)
4. 【最新の精神科薬物治療ガイドライン】 うつ病の最新薬物治療ガイドライン. 原田豪人, 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神薬理 14 巻 6 号 Page993-1000(2011. 06)
5. 【双極性障害の新たな展開】 薬物療法の副作用モニタリングで必要なこと. 菅原裕子, 石郷岡純. 臨床精神医学 40 巻 3 号 Page329-340(2011. 03)
6. 【社交不安障害(SAD)を再考する】 社交不安障害(SAD)治療における paroxetine の可能性. 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神薬理 (1343-3474) 13 巻 4 号 Page741-749(2010. 04)
7. 【内科医が知っておきたいうつ病診療】 <治療>プライマリケアでのうつ病治療の進め方. 菅原裕子, 坂元薫. Mebio27 巻 4 号 Page42-45(2010. 04)
8. 【精神医学臨床研究ガイドブック】 研究結果を発表する 学会での発表. 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神医学 2009 年増刊 Page71-75(2009. 12)
9. 【Clozapine 症例集】 Clozapine 投与により脳波異常 てんかん発作が出現した 1 例.

菅原裕子, 大下隆司, 奥井賢一郎, 馬場美穂, 瀧村剛, 石郷岡純. 臨床精神薬理 13 巻 1 号 Page164-167(2010. 01)

10. 【精神科薬物療法の本音と実際】 治療抵抗性うつ病の lithium 増強療法の理論と実際. 菅原裕子, 坂元薫, 石郷岡純. 臨床精神薬理 12 巻 12 号 Page2475-2480(2009. 12)
11. 【抗うつ薬治療における増強療法と併用療法】 治療抵抗性うつ病に対する第二世代抗精神病薬増強療法. 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神薬理 12 巻 2 号 Page213-220(2009. 02)
12. 【新薬展望 2009】 注目の新薬 抗精神病薬 一般名 ブロナンセリン 「ロナセン」. 菅原裕子, 石郷岡純. 医薬ジャーナル 45 巻増刊 Page303-312(2009. 01)
13. 【向精神薬の効果・副作用の予測因子】 Benzodiazepine の有効性・安全性の予測因子. 菅原裕子, 石郷岡純. 臨床精神薬理 12 巻 1 号 Page61-68(2009. 01)
14. 【気分障害】 非定型うつ病(解説/特集). 菅原裕子, 坂元薫. 精神科 13 巻 4 号 Page294-301(2008. 10)
15. 【「軽いうつ」「軽い躁」 どう対応するか】 双極 II 型の治療 気分安定薬と抗うつ薬. 鈴木枝里子, 菅原裕子, 坂元薫. 精神科治療学 23 巻 8 号 Page933-941(2008. 08)
16. 【ライフステージに応じたサービスを考える】 疾患ごとに見たライフステージ<躁うつ病> ライフステージから見た双極 I 型障害. 菅原裕子, 坂元薫. 精神科臨床サービス 8 巻 2 号 Page222-227(2008. 04)

17. 【臨床睡眠学 睡眠障害の基礎と臨床】
治療法 薬物療法 ベンゾジアゼピン系睡眠薬、非ベンゾジアゼピン系睡眠薬. 菅原裕子, 稲田健, 石郷岡純. 日本臨床 66 巻増刊 2
臨床睡眠学 Page147-152(2008. 04)

18. 【精神科治療過程で有用な臨床検査】 うつ病治療における臨床検査. 菅原裕子, 長谷川大輔, 坂元薫. 精神科治療学 23 巻 1 号
Page9-16(2008. 01)

19. 【プライマリケアにおけるうつ病診療の実際】 うつ病の治療 その他の治療 気分安定薬、非薬物療法. 菅原裕子, 坂元薫.
Progress in Medicine27 巻 9 号
Page1999-2004(2007. 09)

20. 【双極性障害の薬物療法】 双極性障害に対する第二世代抗精神病薬の有効性. 菅原裕子, 坂元薫. 臨床精神薬理 10 巻 12 号
Page2209-2217(2007. 12)

21. 統合失調症に対する治療薬の使い分けと服薬指導の実際. 菅原裕子, 石郷岡純. 日本薬剤師会雑誌 59 巻 8 号
Page1111-1115(2007. 08)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅原 裕子 (SUGAWARA HIROKO)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号：90610692