

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390279

研究課題名(和文) 抗精神病薬が脳神経系DNAメチル化状態に与える影響の体系的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of the effect of antipsychotics on DNA methylation in brain

研究代表者

岩本 和也 (Iwamoto, Kazuya)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：40342753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：DNAメチル化やヒストン蛋白の修飾状態など、エピジェネティックな状態は精神神経疾患の病因・病態と密接に関わっていると考えられている。現在、様々な患者由来試料を用いたエピジェネティック変異を同定する試みが行われているが、代表的な治療薬のエピジェネティックな作用についてはほとんど明らかにされておらず、得られた結果の解釈が困難になっている。また近年、治療薬の作用機構の一端としてエピゲノム変動を介している可能性も示唆されている。本研究課題では、主に抗精神病薬について、神経系細胞株におけるDNAメチル化状態の変動について体系的に検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Epigenetic status such as DNA methylation and histone protein modification is believed to be involved in the pathophysiology of neuropsychiatric disorders. However, impact of various treatment drugs on epigenetic status remain unclear. In this project, I systematically examined the effect of antipsychotics on DNA methylation using neuroblastoma cell line.

研究分野：分子精神医学

キーワード：エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

シトシンやヒストン蛋白質の修飾状態などエピジェネティックな現象は統合失調症や双極性障害など精神疾患の病因や病態と深い関係があると考えられている。現在、患者由来死後脳や末梢試料を用いたエピゲノム異常探索の試みが世界各国で行われているが、抗精神病薬や気分安定薬など、服薬の影響がどの程度認められるのか詳細な検討はほとんど行われていない。そのため、得られた結果の解釈が困難な状況が続いている。また、近年抗精神病薬の薬理作用にエピジェネティックな作用が関与しているという報告がなされており、抗精神病薬投与のエピジェネティックな効果を体系的に検討する必要があった。

2. 研究の目的

(1) エピゲノム状態の中でも特に DNA メチル化状態に注目し、抗精神病薬投与の効果を体系的に検討する。

(2) 精神疾患患者死後脳を用いたエピゲノム解析の結果にどの程度の影響を与えているのか推察する。

3. 研究の方法

(1) ヒト神経系細胞株に抗精神病薬(ハロペリドール、リスペリドン、クエチアピン、プロナンセリン、ペロスピロン)を低濃度および高濃度存在下で8日間培養を行い、ゲノム DNA を回収後、Illumina HumanMethylation 450K プラットフォームを用いた網羅的 DNA メチル化解析を行った。実験に供する薬剤の濃度は、先行研究の文献調査または血中治療濃度を基に決定した。

(2) ハロペリドールおよびリスペリドンに関しては、同時に全 RNA の抽出を行い、Illumina 社のマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行った。

(3) 全ての薬剤処理群は N=3 ずつ独立して行い、溶剤のみを投与した未処理群との統計処理により有意に変動しているゲノム領域を同定した。

(4) 既に同定済みである、精神疾患患者死後脳の DNA メチル化変異箇所について、抗精神病薬での変動が認められた領域との重複点を探索した。

4. 研究成果

(1) ハロペリドール、リスペリドンに関しては、両薬剤、投与濃度を問わず共通して DNA メチル化状態の変動が認められるゲノム領域を多数認めた。また、それぞれの薬剤・濃度特異的に DNA メチル化状態が変動するゲノム領域を同定した。両薬剤共通してメチル化変動が認められたゲノム領域にはグルタミン酸

受容体関係の遺伝子やこれまでの統合失調症の遺伝学研究で同定されてきた遺伝子群が含まれており、一部の領域に関してパイロシーケンシング法を用いた独立した手法による確認実験を行った。

(2) ハロペリドールとリスペリドン、両薬剤共に変動が認められたゲノム領域について、DNA メチル化変化の増減を調べたところ、DNA メチル化状態を増大させる方向への変動が多く認められた。統合失調症や双極性障害患者死後脳での DNA メチル化変化は、全体的に低メチル化方向に変動するのを鑑みると好対照な変動であるといえる。

(3) 統合失調症や双極性障害患者死後脳での DNA メチル化変化領域との重複点を調べたところ、患者死後脳で同定された変化の 15-25% のゲノム領域と一致した。これらの領域については、投薬の影響を受けている可能性があると考えられる。

(4) あらかじめ予想されたように、網羅的遺伝子発現状態と DNA メチル化状態との関連を探索してみると、投薬による大部分の有意な遺伝子発現変動について、DNA メチル化変動と関連を認めず、また大部分の有意な DNA メチル化変動について、遺伝子発現との関連も認めなかった。遺伝子発現変動についてはヒストン修飾状態やマイクロ RNA といった DNA メチル化以外の制御機構によっても制御されることが知られていること、また DNA メチル化状態も細胞のストレス応答性など長期的な性質に影響を与えるものが知られていることなどが背景にあると考えられる。

(5) 一部の遺伝子群については遺伝子発現変動と DNA メチル化状態の変動が高く相関しており、ハロペリドールやリスペリドンといった抗精神病薬の薬理作用を探る観点からも今後有用であると期待される。

(6) クエチアピン、プロナンセリン、ペロスピロンを用いた同様の検討では、ハロペリドールやリスペリドンのような顕著な DNA メチル化変化を認めなかった。これらの薬剤で変動する DNA メチル化変化は、投与量にかかわらずごくわずかであり、また薬剤間における共通点も顕著な傾向は認められなかった。これらのことより、エピゲノム状態に与えるインパクトはハロペリドールやリスペリドンと比較して小さいと推定された。

(7) 興味深いことに、これらの薬剤においては、投与量に依存し、様相の異なる DNA メチル化変化が認められた。たとえば、プロナンセリンでは細胞株に高濃度投与した場合、低濃度投与した場合より、より多くのゲノム

領域で DNA メチル化変動が認められたが、その多くは転写開始点からより上流の領域や 3'-UTR 領域の近く、gene body 領域など、遺伝子発現調節に大きな影響を与えない領域に集中していた。一方で、転写開始点近傍、CpG アイランド周辺やプロモーター領域については顕著な DNA メチル化変動は認めなかった。

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6件)

Sugawara H, Bundo M, Asai T, Sunaga F, Ueda J, Ishigooka J, Kasai K, Kato T, Iwamoto K. Effects of quetiapine on DNA methylation in neuroblastoma cells. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2014,56C:117-121. 査読あり
doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.08.010

Murata Y, Nishioka M, Bundo M, Sunaga F, Kasai K, Iwamoto K. Comprehensive DNA methylation analysis of human neuroblastoma cells treated with blonanserin. *Neuroscience Letters* 2014, 563:123-128. 査読あり
doi: 10.1016/j.neulet.2014.01.038.

Kato T, Iwamoto K. Comprehensive DNA methylation and hydroxymethylation analysis in the human brain and its implication in mental disorders. *Neuropharmacology* 2014,80C:133-139. 査読あり
doi:
10.1016/j.neuropharm.2013.12.019

Hayashi-Takagi A, Vawter MP, Iwamoto K. Peripheral biomarkers revisited: integrative profiling of peripheral samples for psychiatric research. *Biological Psychiatry* 2014,75:920-928. 査読あり
doi: 10.1016/j.biopsych.2013.09.035.

Nishioka M, Shimada T, Bundo M, Ukai W, Hashimoto E, Saito T, Kano Y, Sasaki T, Kasai K, Kato T, Iwamoto K. Neuronal cell-type specific DNA methylation patterns of the Cacna1c gene. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2013,31:89-95. 査読あり
doi: 10.1016/j.ijdevneu.2012.11.007.

Nishioka M, Bundo M, Koike S, Takizawa

R, Kakiuchi C, Araki T, Kasai K, Iwamoto K. Comprehensive DNA methylation analysis of peripheral blood cells derived from patients with first-episode schizophrenia. *Journal of Human Genetics* 2013,58:91-97. 査読あり
doi: 10.1038/jhg.2012.140.

[学会発表](計11件)

Iwamoto K. Increased copy number of LINE-1 in neurons of schizophrenia 2nd UK-JAPAN Workshop on Neural Epigenetics (Dec 15 2014, London, UK)

岩本和也、文東美紀、加藤忠史「脳ゲノム解析と精神疾患」第37回日本分子生物学会 (2014/11/25-27 パシフィコ横浜・神奈川)

岩本和也「精神疾患のエピジェネティクス」第36回日本生物学的精神医学会・第57回日本神経化学会公開シンポジウム (2014/9/29-10/1 奈良県文化会館・奈良)

岩本和也、文東美紀、池亀天平、菅原裕子、石郷岡純、笠井清登、加藤忠史「双極性障害のエピジェネティクス～セロトニントランスporterにおける候補遺伝子解析」第36回日本生物学的精神医学会・第57回日本神経化学会大会シンポジウム (2014/9/29-10/1 奈良県文化会館・奈良)

岩本和也「脳神経系ゲノム DNA の配列の多様性と精神疾患」第86回日本遺伝学会年会ワークショップ (2014/9/17-19 長浜バイオ大学・滋賀)

岩本和也「脳ゲノム解析による統合失調症の病態解析」第9回日本統合失調症学会シンポジウム (2014/3/14-15 京都テルサ・京都)

岩本和也「死後脳神経細胞におけるゲノム・エピゲノム解析による精神疾患の病因探索」第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会シンポジウム (2013/10/24-26 沖縄コンベンションセンター・沖縄)

岩本和也「精神疾患患者末梢血試料を用いたエピゲノム解析」第23回日本臨床精神神経薬理学会・第43回日本神経精神薬理学会シンポジウム (2013/10/24-26 沖縄コンベンションセンター・沖縄)

Iwamoto K. Epigenetic analysis of the peripheral cells in psychiatric disorders. 11th World Congress of Biological Psychiatry シンポジウム "Translational perspective on the imaging, epigenetics and peripheral-derived markers for alcohol

induced brain damage and depression"
(June 23-27 2013, Kyoto, Japan)
Iwamoto K, Kato T. Comprehensive
genome and epigenome analyses of
neuronal genomes in major psychiatric
disorders. Neuro2013 (2013/6/20-23
京都国際会館・京都)
岩本和也「精神疾患とエピジェネティク
ス」 JST・NEDO 公開シンポジウム
(2013/4/19 アキバホール・東京)

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.molpsy.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩本 和也 (IWAMOTO Kazuya)
東京大学・医学部附属病院・特任准教授
研究者番号：40342753

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

文東 美紀 (BUNDO Miki)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号：00597221