

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08824

研究課題名(和文) 高齢期うつ病の1次・2次予防に向けたBDNFのエピジェネティクス疫学の縦断的研究

研究課題名(英文) A longitudinal study of epigenetic epidemiology for the primary and secondary prevention of elderly depression

研究代表者

井原 一成 (IHARA, Kazushige)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：10266083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000 円

研究成果の概要(和文)：高齢者コホートにおいて、脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子のメチル化障害と精神科医が同定したうつ病の関連を疫学的に横断的/縦断的に検討した。横断的分析では、大うつ病性障害現在エピソードの者と生涯未発症者の間で、白血球DNAのBDNF遺伝子exon 1のプロモーター領域のCpGアイランドのメチル化率に差のあることを発見した。縦断的には、同じ年に把握した性と年齢をマッチした大うつ病性障害発症者と未発症者について、発症前の保存血液(未発症者では、発症者と同じ年に保存した血液)を分析し、両者のメチル化率に差があることを発見した。なお未発症者においてはメチル化率が年齢と相関することを見いだした。

研究成果の概要(英文)：We cross-sectionally and longitudinally examined the association between major depressive disorder (MDD) and the DNA methylation rates (DMRs) of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene in blood among the elderly. Through epidemiologic surveys, psychiatrists identified incident/current-episode cases of MDD and non-depressed controls. Cross-sectional analyses using current-episode cases and controls revealed that DMRs of some units at the CpG island at the promoter of exon 1 of the BDNF gene were significantly different between persons with MDD and controls. A case-control study using incident cases and controls revealed that DMRs of some CpG units of the BDNF gene in blood preserved at a survey when MDD had not developed yet were significantly different from DMRs of controls using blood at the same survey which blood for corresponding cases were preserved. We additionally explored the correlation between DMRs of CpG units of the BDNF gene and age among non-depressed persons.

研究分野：精神疾患の疫学

キーワード：エピジェネティクス 疫学 大うつ病性障害 小うつ病性障害 メチル化障害 高齢者 SCID 縦断研究

1. 研究開始当初の背景

高齢期のうつ病は、生活の質を落とすとともに Activities of Daily Living の低下を招くことから、早期発見・早期治療が求められる疾患である。高齢期うつ病は、米国精神医学会診断基準（DSM-Ⅳ）の大うつ病性障害と米国精神医学会研究用診断基準の小うつ病性障害とを併せて 3～8%以上の高い時点有病率を有していると考えられているにもかかわらず、その多くが専門治療を受けないまま地域に潜在している。地域における早期発見のためのスクリーニングの開発は重要な課題である。

我が国では、地域における高齢者のうつ病に対して 2 段階式のスクリーニングが提案されており（うつ予防・支援マニュアル、厚生労働省）これは基本チェックリスト陽性者に看護師らが面接で 2 次アセスメントを行うものである。研究代表者の井原と分担者の吉田は、厚生労働省の老人保健事業により、地域に 2 次アセスメントを導入し、そのスクリーニング精度を精神科医の診断を至適基準として検証した。2 次アセスメントの研修方法の工夫により精度は改善したものの、感度は 60%程度にとどまった。感度の低さは看護師らのうつ症状の見落としが主要因であり、その背景には看護師らのアセスメントに対する消極的な態度があることをインタビュー調査は明らかにした。基本チェックリストの特異度は低いので、うつ病ではない人にうつ症状を尋ねる可能性が高くなることを厭う気持ちが看護師らには認められた。これらのことは、2 次アセスメント研修に改善の余地のあることを示すが、2 次アセスメントにおける看護師らの評価と基本チェックリストにおける自己評価との両者におけるうつ症状把握の難しさを示している。精度の低さは、スクリーニングが本人やコメディカルによるうつ症状の把握に頼る以上、高齢期に限らずどの年齢層のうつ病にもついてまわる問題である。うつ病スクリーニングの精度向上のために、本人主観やコメディカルの症状把握に頼らない、客観的なスクリーニング指標の開発が求められている。

うつ病では、症状把握に比べ客観性が高いと考えられる生物学的指標を用いたスクリーニング方法の開発が長く続けられてきた。これまで検討されたどの生物学的指標もスクリーニング指標になり得なかったが、近年、脳由来神経栄養因子（BDNF）にその可能性が示唆され注目を集めている。うつ病患者で血清中の BDNF 濃度の低値が明らかになったからである。井原と吉田は、地域住民においても、未治療の大うつ病性障害罹患者は健康者に比べ血清 BDNF 値が有意に低いことを高齢者サンプルにおいて世界で初めて疫学的に示した。しかし、代表性のある地域サンプルで疫学的に検証したスクリーニング感度と特異度は基本チェックリストに及ばない値にとどまった。

基礎・臨床医学では、血清 BDNF から BDNF 遺伝子の多型性、さらには遺伝子プロモーターのメチル化障害に注目するエピジェネティクス研究が隆盛している。本研究の研究分担者の森信と淵上は、末梢血 DNA から BDNF 遺伝子 exon 1 のプロモーター領域にある CpG アイランドのメチル化を解析するエピジェネティクス研究で、成人の大うつ病性障害患者と健康者でメチル化のパターンが異なることを先駆的に報告し（特願 2010-175748）その感度は 100%に上る可能性を示した。森信・淵上による発見は医療機関に結びついた患者で得られたものなので、その疫学的検証が次の研究課題となった。そこで井原は、平成 26 年度までの科学研究費を得て、地域に潜在する高齢期うつ病患者においても DNA メチル化障害が存在するかの検証を森信らと開始した。これまでの研究で、地域の大うつ病性障害罹患患者も健康者に比べて、森信・淵上らが患者で示した DNA メチル化率が高かった特定の CpG 領域でメチル化率がやはり高いことが示唆された。この成果は対照となる健康群がやや地域代表性に欠けたので疫学的なスクリーニング精度の検証をさらに必要とするが、森信・淵上らが成人で示した DNA メチル化障害と同様のパターンを確認したことは、高齢期のうつ病の原因・病態についての議論に大きな貢献をするものである。高齢期のうつ病が、成人のうつ病と同じ病因・病態に基づく疾患であるかどうかは、うつ病の疫学研究の一つの論点であった。高齢期のうつ病は、身体疾患が起りやすくなり、配偶者や友人などの死、社会経済活動からの引退など、成人期とは比較にならない多くの喪失を経験する。また動脈硬化や認知症の影響を受ける可能性も高いからである。本成果は、大うつ病性障害が高齢期と成人期でエピジェネティックな観点からは類似した性質を有することを示唆するものである。

2. 研究の目的

地域における高齢者のうつ病予防に向けてエピジェネティックな観点からの病態的特徴の検索と生物学的スクリーニング指標の開発を目指し、脳由来神経栄養因子（BDNF）遺伝子プロモーターの DNA メチル化障害と精神科医が同定したうつ病の関連を疫学的に縦断的および横断的に検討するものである。

3. 研究の方法

板橋区で設定された高齢者コホートで 2015 年、2016 年、2017 年に健康調査を行うことで得られるデータと、2014 年までに実施した健康調査のデータとを用いて、横断調査と縦断調査のデザインで BDNF 遺伝子プロモーターの DNA メチル化率をうつ病と健康者と比較するものである。

うつ病のスクリーニングは、厚生労働省の

介護予防の基本チェックリストを用い、その陽性者に後日行う専門医による医師面接への受診を勧奨した。また、その陰性者についても代表性のあるサンプルを抽出し、専門医面接への受診を依頼した。専門医面接は、研究代表者の井原と分担者の吉田が実施し、診断の信頼性を高めるために Structured Clinical Interview for DSM- (SCID) のモジュール A (大うつ病性障害、双極性障害、気分変調性障害など用) とモジュール J (小うつ病性障害用) を用いた。なお SCID は、過去の大うつ病などの既往も評価するようになっているので、本研究の縦断的検討の観察期間となる過去 2 年間の大うつ病性障害の罹患状況を生涯の気分障害の罹患状況とともに把握出来る。臨床的に意味のある重症度のうつ病を同定するために GRID-HAMD (日本臨床精神薬理学会、2003) も実施し、7 点以上の者に最終的な診断を与えた。あわせて Mini Mental States of Examination を実施し 24 点未満で認知症の罹患が疑われる者はこの後の分析から除外した。

BDNF 遺伝子プロモーターの DNA メチル化障害の分析には、健康調査時に対象者から同意を得て取得した研究用保存血液を用いた。医師面接調査時に本研究の説明をし、保存血液の一部をメチル化障害の分析に用いることの同意を文書で得た。

保存血液試料は、連結可能匿名化して東京都健康長寿医療センター研究所から広島大学の淵上に提供され、白血球 DNA から BDNF 遺伝子 exon 1 のプロモーター領域にある CpG アイランドのメチル化が解析された。具体的には、DNeasy (Qiagen) を用いて genomic DNA の抽出し、その後の DNA メチル化解析は、SEQUENOM 社の MassARRAY® System を用いて行った。システム内の sodiumbisulfite 処理キットを用い、非メチル化シトシンのウラシルへの置換を行い、プロモーター遺伝子の転写開始点近傍に存在する CpG アイランド領域の情報を University of California, Santa Cruz (UCSC) genome browser と Genbank より取得し、各 CpG アイランドをカバーする複数の PCR 用プライマーを MassARRAY® System 上の Epidesigner を用いて設計し、Methylation specific PCR の後、In vitro transcription を施行した。U 特異的切断の後、MassARRAY MALDI-TOF MS を用いて DNA メチル化を質量分析法にて定量した後、Epityper を用いて DNA メチル化のデータを取得した。分担研究者の森信が、淵上の分析の相談・支援を行った。

4. 研究成果

2 つのコホートにおいて、3 年間で計 278 人の精神科医による診断面接を実施し、それまでの調査で把握されていなかった計 26 人の大うつ病性障害を把握した。また計 145 人の生涯未発症者を把握した。

横断研究

上記 26 人の大うつ病性障害のうち、2011 年コホート由来は 24 人であった。このうち現在一定以上の重症度を有し未治療の大うつ病性障害 14 人と、2012 年から 2014 年度の科学研究費による 2013 年の調査で把握した一定以上の重症度を有し未治療であった大うつ病性障害 7 人の計 21 人のメチル化率を広島大学で測定を試み、最終的に 13 人でメチル化率を得た。また、2011 年由来の未発症者 72 人についてもメチル化率の測定結果を広島大学より得て、横断研究のデザインで井原が統計学的分析を行い、15 の CpG サイトで 2 群間に有意差があることを発見した。

縦断研究

2008 年コホートと 2011 年コホートにおいて 2015 年までの間に大うつ病性障害を発症し発症前の血液が保存されていた 18 人をケース、それらに医師面接の実施年と性と年齢をマッチさせた非発症者 24 人をコントロールとした症例対照研究を行った。ケースの発症前の保存血とその保存血を得た調査時に同様に保存されていたコントロールの血液のメチル化率を測定し両群で比較した。11 の CpG サイトで 2 群間に有意差があることが明らかになった。

加齢とメチル化率の関係

2012 ~ 2014 年度科学研究費により、測定済みの健常者における BDNF 遺伝子プロモーターにおけるメチル化率を広島大学より提供された若年健常者の同部位のメチル化率データとあわせて分析し、加齢とメチル化率の関係を検討し、39 の CpG サイトのうち、13 サイトが加齢と関係していることを発見した。これらのメチル化率の加齢性の変化は、ライフイベントの数や認知機能とは独立したものであった。このメチル化率は血清 BDNF 値の高低と相関しなかったことまでを確認して論文発表した (印刷中)。

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)

Ihara K, Fuchikami M, Obuchi S, Morinobu S (他 7 名、1,2,6,11 番目). The influence of aging on the methylation status of brain-derived neurotrophic factor gene in blood. International Journal of Geriatric Psychiatry. 査読有. 2018. in printing

Tanisawa K, Obuchi S, Ihara K (他 19 名、8,12 番目). Inverse association between height-increasing alleles and extreme longevity in Japanese women. The Journal of Gerontology series A: Biological sciences and Medical

science. 査読有. 73(5). 2018.
588-595.
DOI:10.1093/gerona/glx155

Hachisu M, Obuchi S, Ihara K (他4名、
6,7番目). Relationships between serum
brain-derived neurotrophic factor
concentration and parameters for
health score in community dwellings of
elderly people. Geriatrics and
Gerontology International. 査読有.
18(3). 2018.
DOI:10.1111/ggi.13210

Tanisawa K, Obuchi S, Yoshida H, Ihara
K (他19名、7,9,12番目). Exome-wide
association study identifies CLEC3B
missense variant p.S106G as being
associated with extreme longevity in
east Asian population. The Journal of
Gerontology series A: Biological
sciences and Medical science. 査読有.
72(3). 2017. 309-318.
DOI:10.1093/gerona/glw074

Kera T, Yoshida H, Ihara K, Obuchi S
(他4名、3,7,8番目). Classification
of frailty using the Kihon checklist:
A cluster analysis of older adults in
urban areas. Geriatrics and
Gerontology International. 査読有.
17(1). 2017. 69-77.
DOI: 10.1111/ggi.12676

Ihara K, Yoshida H, Jones PB (他5名、
1,2番目). Serum BDNF levels before and
after the development of mood
disorders: a case-control study in a
population cohort. Translational
Psychiatry. 査読有. 6(4). 2016. e728.
DOI:10.1038/tp.2016.47

〔学会発表〕(計7件)

藤原佳典, 井原一成, 大淵修一(他8名、
2,10番目). 地域高齢者における血清
BDNF値が簡易検査による認知機能低下に
およぼす影響. 第28回日本疫学会学術総
会. 2018

井原一成. 大うつ病性障害における BDNF
のステイト・トレイトマーカー問題 疫
学研究のエビデンスより. 第27回日本
臨床精神神経薬理学会. 2017

Ihara K, Hashizume M, Suzuki T, Kim H.
Knee muscle strength, neither vitamin
D nor High-sensitive CRP, was a risk
factor for major depressive disorder
among elderly women. The 16th

International Congress of the
International Federation of
Psychiatric Epidemiology. 2017

Ihara K, Morinobu S, Obuchi S (他7名、
1,4,10番目). Exome-wide association
study identifies the association
between depression, height and DOCK3.
The 21st International Epidemiological
Association World Congress of
Epidemiology. 2017

井原一成, 飯田浩毅, 吉田英世(他7名、
1,11番目). コホート内奨励対象研究に
よるフレイルの大うつ病性障害発症に対
する影響の検討. 第75回日本公衆衛生学
会総会. 2016

江尻愛美, 井原一成, 吉田英世, 大淵修
一(他5名、2,5,9番目). 地域在住高齢
者の体力と抑うつ症状発症リスクの関連
における性別の特徴の検討. 第74回日本
公衆衛生学会総会. 2015

吉田英世, 井原一成, 端詰勝敬(他6名、
1,2番目). 地域在住高齢者におけるフレ
イルと BDNF (脳由来神経栄養因子) との
関連性の検討. 第74回日本公衆衛生学会
総会. 2015

〔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:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者

井原 一成 (IHARA, Kazushige)
東邦大学・医学部・講師
研究者番号：10266083

(2)研究分担者

森信 繁 (MORINOBU, Shigeru)
吉備国際大学・保健医療福祉学部・教授
研究者番号：30191042

淵上 学 (FUCHIKAMI, Manabu)
広島大学・学内共同利用施設等・助教
研究者番号：40403571

大淵 修一 (OBUCHI, Shuichi)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療セ
ンター (東京都健康長寿医療センター研究
所)・東京都健康長寿医療センター研究
所・研究副部長
研究者番号：50265740

吉田 英世 (YOSHIDA, Hideyo)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療セ
ンター (東京都健康長寿医療センター研究
所)・東京都健康長寿医療センター研究
所・研究部長
研究者番号：00242735
(平成 29 年 3 月 21 日削除)

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()