

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09808

研究課題名(和文) うつ病患者における幼少期ストレスと白血球5HTT遺伝子発現とDNAメチル化の関連

研究課題名(英文) Early life adversity and 5HTT mRNA expression and DNA methylation in patients with major depressive disorder

研究代表者

伊賀 淳一 (Iga, Jun-ichi)

愛媛大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：70363140

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病患者の白血球におけるセロトニントランスポーターの発現は上昇しており、プロモーターのDNAメチル化率は低下していることを確認した。幼少期のストレスの影響を今後検討する必要がある。このほか老年期においてうつ病との鑑別が重要となるアルツハイマー型認知症やレビー小体型認知症において血液から得られる診断バイオマーカーの検討を行い、TREM2、SNCA、INPP5、TOMM40、APOE、PINK1、ABCA7、MEF2C、DRD2の遺伝子発現やDNAメチル化率の変化について英語論文で報告することができた。今後も老年期うつ病と認知症の鑑別に役立つバイオマーカーの検索を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：5HTT expression using real-time PCR and Taqman probes was increased in unmedicated patients with major depressive disorder compared with controls and then decreased 8 weeks after antidepressant treatment. The 5HTTLPR genotype was significantly associated with mean methylation levels in patients only. The mean methylation level was significantly increased in patients compared with controls. Increased depressive symptoms were related to decreased levels of methylation. The association between these biological markers and early life adversity should be examined in future studies. Interestingly, 5HTT expression was also increased in patients with Alzheimer's disease compared with controls and its increment was associated with apathy. Furthermore, I examined blood biomarkers for discriminating Alzheimer's disease from geriatric depression and reported significant changes in gene expression and DNA methylation of TREM2, SNCA, INPP5D, TOMM40, APOE, PINK1, ABCA7, MEF2C and DRD2.

研究分野：biological psychiatry

キーワード：うつ病 アルツハイマー型認知症 レビー小体型認知症 統合失調症 生物学的マーカー 血液 セロトニントランスポーター

1. 研究開始当初の背景

セロトニントランスポーター(5HTT)は抗うつ薬の主要な標的部位であり、死後脳研究や PET などの画像研究からもうつ病患者の様々な脳部位において 5HTT の発現変化が指摘されている。また 5HTT の転写調節領域には 5HTT-LPR として知られる遺伝子多型が存在し、日本人に多い S アレルはストレスに反応してうつ病を発症しやすいということがメタ解析でも確認されている。我々はこれまでに白血球遺伝子発現を利用したうつ病の生物学的指標の研究に取り組んできており、5HTT を含むうつ病の候補遺伝子が白血球でも有意に変化していることを報告してきた。うつ病による免疫系、自律神経系、視床下部-下垂体-副腎系の異常は白血球遺伝子発現に影響を及ぼしていることから、うつ病の病態研究モデルや診断マーカーとして白血球遺伝子発現解析は有力である。特にうつ病患者における白血球 5HTTmRNA 発現の上昇は、我々の追試でも再現されており、他の研究室でも再現されている。近年、白血球の 5HTT 遺伝子の転写調節領域の DNA メチル化が、うつ病の診断マーカーや抗うつ薬の反応性マーカーとなる可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

これまでうつ病患者における白血球 5HTTmRNA 発現と 5HTT-LPR 多型、5HTT 遺伝子転写調節領域の DNA メチル化、幼少期ストレスを同時に解析した研究は存在しない。特に 5HTT-LPR 遺伝子多型の頻度は人種差が大きく、多型による抗うつ薬への反応性も人種差が大きいことが示唆されており、日本人を対象を絞った詳細な研究が必要である。我々はすでに日本人のうつ病患者の白血球サンプルを治療前後で約 50 名分程度保有しており、今後はサンプル数を増やすと同時に遺伝子発現、遺伝子多型解析、メチル化定量と幼少期のス

トレスのデータを得ることで関連性を確認することができる。幼少期のストレスの評価は現在最も頻用されている Home Environment Questionnaire ver.5.0.J(HEQ)を用いる。

予想される結果は、幼少期のストレスが 5HTT 遺伝子の転写調節領域の DNA メチル化に影響を与えており、うつ病の発症しやすい状況に変化させる。5HTT 遺伝子多型(S型あるいはL型)はその変化に対して保護的あるいは促進的に働いている。うつ病を発症している患者の白血球 5HTTmRNA 発現は、DNA メチル化と多型の影響を受けて上昇している。白血球 5HTTmRNA 発現や DNA メチル化は抗うつ薬の反応性と関連している。抗うつ薬が奏功すれば、DNA メチル化や遺伝子発現は正常化する。臨床症状が改善しても DNA メチル化や遺伝子発現が正常化しなければ再発のリスクが高い。以上を詳細に検討することは日本人におけるうつ病の発症機序と診断治療を考える上で重要と考えられる。

3. 研究の方法

平成 27 年度には 5HTT 遺伝子の転写調節領域の DNA メチル化の予備的研究(プライマーなどの条件設定)を行う。また 5HTT-LPR 多型の解析をすすめる。同時にうつ病患者の末梢白血球サンプルの収集を行う。平成 28 年度には、すでに保有しているうつ病の治療前後各 30 サンプルと健常対照 30 サンプルの解析を行う。またうつ病患者の末梢白血球サンプルの収集を継続し、セカンドセットでも再現性が得られるか検討する。平成 27 年度から研究代表者が愛媛大学大学院精神神経科学講座へ移動となったために、うつ病だけでなく認知症のバイオマーカー研究も行う予定となった。

4. 研究成果

平成 27 年度はうつ病患者の白血球にお

けるセロトニントランスポーターの遺伝子多型、遺伝子発現、遺伝子メチル化の関係性を詳細に検討した。遺伝子多型についてはプロモーター領域にあり、うつ病の病態との関連を繰り返し報告されている5HTTLPRをPCR法で確認した。遺伝子発現はTaqman probeを用いたreal-time PCR法で測定した。遺伝子メチル化は研究実施計画に基づき、これまでに発現に影響を与えることが報告されており先行研究も多い部位を選択しpyrosequencerを用いて解析した。うつ病患者の白血球におけるセロトニントランスポーターの遺伝子発現は健常対照と比較して有意に上昇しており、抗うつ薬治療後には健常者よりも減少していた。治療前のプロモーター領域のメチル化率は健常対照よりも上昇していた。5HTTLPRは患者においてのみメチル化率に影響していたが、発現には影響していなかった。うつ病の臨床症状の重症度とメチル化率には相関がみられた。また5HTTLPRが日本人におけるうつ病の発症年齢に関連している可能性についても報告した。

平成28年度はうつ病との鑑別が必要となるアルツハイマー型認知症(AD)におけるセロトニントランスポーターの発現とメチル化率を測定した。結果としてADにおいてもセロトニントランスポーターの発現は上昇しており、特にアパシーとの相関を確認できた。またプロモーター領域の多型である5HTTLPR多型はL alleleがADの発症を抑制する可能性をメタ解析で証明した。また平成28年度はうつ病との鑑別を要するADやレビー小体型認知症(DLB)、統合失調症(SCZ)における疾患候補遺伝子の血液中の発現量やDNAメチル化を測定し、診断バイオマーカーとしての可能性を検討した。TREM2遺伝子発現はADとSCZで上昇していたがうつ病では変化していな

かった。SCZではDRD2遺伝子の低メチル化を認めた。またレビー小体を形成するSNCAの遺伝子発現はADで上昇しており、ADとDLBで低メチル化を認めた。

平成29年度は白血球においてTREM2遺伝子の発現が上昇しており、イントロン1のDNAメチル化率が発現と相関していることを発見した。同様の変化が統合失調症(SCZ)でも確認できた。またSNCA遺伝子発現がADやDLBで上昇しており、イントロン1のDNAメチル化率と相関していた。ABCA7遺伝子やINPP5D遺伝子の発現がADで上昇しており、その減少が認知機能低下と相関していた。TOMM40遺伝子やMEF2C遺伝子はADで減少しており、認知機能低下と相関していた。うつ病の白血球バイオマーカーが、他の精神疾患との鑑別において感度と特異度が64%と67.9%であった。抗うつ薬によってNitric Oxide Synthaseの発現が変化した。SCZの白血球バイオマーカーとしてCASPR3を報告した。

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 23件)

1. Sao T, Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Mori Y, Ochi S, Yoshida T, Mori T, Iga JI, Ueno SI. 2018. MEF2C mRNA expression and cognitive function in Japanese patients with Alzheimer's disease. Psychiatry Clin Neurosci 査読有 72:160-167.
2. Watanabe SY, Numata S, Iga JI, Kinoshita M, Umehara H, Ishii K, Ohmori T. 2017. Gene expression-based biological test for major depressive disorder: an advanced study. Neuropsychiatr Dis Treat 査読有 13:535-541.

3. Ozaki Y, Yoshino Y, Yamazaki K, Sao T, Mori Y, Ochi S, Yoshida T, Mori T, Iga JI, Ueno SI. 2017. DNA methylation changes at TREM2 intron 1 and TREM2 mRNA expression in patients with Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res* 査読有 92:74-80.
4. Okita M, Yoshino Y, Iga JI, Ueno SI. 2017. Elevated mRNA expression of CASPR3 in patients with schizophrenia. *Nord J Psychiatry* 査読有 71:312-314.
5. Kubo H, Nakataki M, Sumitani S, Iga JI, Numata S, Kameoka N, Watanabe SY, Umehara H, Kinoshita M, Inoshita M, Tamaru M, Ohta M, Nakayama-Yamauchi C, Funakoshi Y, Harada M, Ohmori T. 2017. 1H-magnetic resonance spectroscopy study of glutamate-related abnormality in bipolar disorder. *J Affect Disord* 査読有 208:139-144.
6. Funahashi Y, Yoshino Y, Yamazaki K, Mori Y, Mori T, Ozaki Y, Sao T, Ochi S, Iga JI, Ueno SI. 2017. DNA methylation changes at SNCA intron 1 in patients with dementia with Lewy bodies. *Psychiatry Clin Neurosci* 査読有 71:28-35.
7. Yamazaki K, Yoshino Y, Mori T, Yoshida T, Ozaki Y, Sao T, Mori Y, Ochi S, Iga JI, Ueno SI. 2017. Gene Expression and Methylation Analysis of ABCA7 in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 査読有 57:171-181.
8. Yoshino Y, Ochi S, Yamazaki K, Nakata S, Iga JI, Ueno SI. 2017. Endothelial nitric oxide synthase in rat brain is downregulated by sub-chronic antidepressant treatment. *Psychopharmacology (Berl)* 査読有 234:1663-1669.
9. Yoshino Y, Mori T, Yoshida T, Toyota Y, Shimizu H, Iga JI, Nishitani S, Ueno SI. 2017. Improvement of Visuo-spatial Function Assessed by Raven's Colored Progressive Matrices in Dementia with Lewy Bodies by Donepezil Treatment. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 査読有 15:243-247.
10. Mise A, Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Sao T, Yoshida T, Mori T, Mori Y, Ochi S, Iga JI, Ueno SI. 2017. TOMM40 and APOE Gene Expression and Cognitive Decline in Japanese Alzheimer's Disease Subjects. *J Alzheimers Dis* 査読有 60:1107-1117.
11. Yoshino Y, Yamazaki K, Ozaki Y, Sao T, Yoshida T, Mori T, Mori Y, Ochi S, Iga JI, Ueno SI. 2017. INPP5D mRNA Expression and Cognitive Decline in Japanese Alzheimer's Disease Subjects. *J Alzheimers Dis* 査読有 58:687-694.
12. Yoshino Y, Ozaki Y, Yamazaki K, Sao T, Mori Y, Ochi S, Iga JI, Ueno SI. 2017. DNA Methylation Changes in Intron 1 of Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cell 2 in Japanese Schizophrenia Subjects. *Front Neurosci* 査読有 11:275.
13. Yoshida T, Mori T, Shimizu H, Yoshino Y, Sonobe N, Matsumoto T, Kikuchi K, Miyagawa M, Iga J, Mochizuki T, Ueno SI. 2017. Neural basis of visual perception and

- reasoning ability in Alzheimer's disease: correlation between Raven's Colored Progressive Matrices test and 123 I-IMP SPECT imaging results. *Int J Geriatr Psychiatry* 査読有 32:407-413.
14. Yoshino Y, Kawabe K, Yamazaki K, Watanabe S, Numata S, Mori Y, Yoshida T, Iga J, Ohmori T, Ueno S. 2016. Elevated TREM2 mRNA expression in leukocytes in schizophrenia but not major depressive disorder. *J Neural Transm (Vienna)* 査読有 123:637-641.
 15. Yoshino Y, Yoshida T, Mori T, Hirota S, Iga J, Ueno S. 2016. Risk of idiopathic normal pressure hydrocephalus in older inpatients with schizophrenia. *Int Psychogeriatr* 査読有 28:863-868.
 16. Iga J, Watanabe SY, Numata S, Umehara H, Nishi A, Kinoshita M, Inoshita M, Shimodera S, Fujita H, Ohmori T. 2016. Association study of polymorphism in the serotonin transporter gene promoter, methylation profiles, and expression in patients with major depressive disorder. *Hum Psychopharmacol* 査読有 31:193-199.
 17. Kameoka N, Iga J, Tamaru M, Tominaga T, Kubo H, Watanabe SY, Sumitani S, Tomotake M, Ohmori T. 2016. Risk factors for refeeding hypophosphatemia in Japanese inpatients with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 査読有 49:402-406.
 18. Yoshino Y, Kawabe K, Mori T, Mori Y, Yamazaki K, Numata S, Nakata S, Yoshida T, Iga J, Ohmori T, Ueno S. 2016. Low methylation rates of dopamine receptor D2 gene promoter sites in Japanese schizophrenia subjects. *World J Biol Psychiatry* 査読有 17:449-456.
 19. Yoshino Y, Mori T, Yoshida T, Yamazaki K, Ozaki Y, Sao T, Funahashi Y, Iga J, Ueno SI. 2016. Elevated mRNA Expression and Low Methylation of SNCA in Japanese Alzheimer's Disease Subjects. *J Alzheimers Dis* 査読有 54:1349-1357.
 20. Yamazaki K, Yoshino Y, Mori T, Okita M, Yoshida T, Mori Y, Ozaki Y, Sao T, Iga J, Ueno S. 2016. Association Study and Meta-Analysis of Polymorphisms, Methylation Profiles, and Peripheral mRNA Expression of the Serotonin Transporter Gene in Patients with Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 査読有 41:334-347.
 21. Watanabe SY, Iga J, Ishii K, Numata S, Shimodera S, Fujita H, Ohmori T. 2015. Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene expression assays. *J Psychiatr Res* 査読有 66-67:1-6.
 22. Mori Y, Yoshino Y, Ochi S, Yamazaki K, Kawabe K, Abe M, Kitano T, Ozaki Y, Yoshida T, Numata S, Mori T, Iga J, Kuroda N, Ohmori T, Ueno S. 2015. TREM2 mRNA Expression in Leukocytes Is Increased in Alzheimer's Disease and Schizophrenia. *PLoS One* 査読有 10:e0136835.
 23. Watanabe SY, Iga J, Numata S, Umehara H, Nishi A, Kinoshita M, Inoshita M, Ohmori T. 2015.

Polymorphism in the promoter of the gene for the serotonin transporter affects the age of onset of major depressive disorder in the Japanese population. J Affect Disord 査読有 183:156-158.

[学会発表] (計 9件)

1. 伊賀淳一: 老年期うつ病の病態と治療戦略、第58回中国・四国精神神経学会: 2017年
2. Jun-ichi Iga, Yuta Yoshino, Yu Funahashi, Kiyohiro Yamazaki, Yoko Mori, Takaaki Mori, Shu-ichi Ueno: Low methylation rates of SNCA gene intron 1 in dementia with Lewy bodies patients. Neuroscience 2017: 2017年
3. 伊賀淳一: 統合失調症薬物治療ガイドラインの特徴とアセナピンの位置づけ: 第14回日本うつ病学会: 2017年
4. 伊賀淳一: うつ病・双極性障害から認知症移行の予防: 第57回中国・四国精神神経学会: 2016年
5. 伊賀淳一: うつ病治療ガイドラインと生物学的マーカー研究: 第38回日本生物学的精神医学会: 2016年
6. 伊賀淳一: 白血球を用いた Translational Neuropsychopharmacology: 第4回 Translational Neuropsychopharmacology Conference: 2016年
7. 伊賀淳一: 白血球 mRNA 発現を用いたバイオマーカー: 第13回日本うつ病学会: 2016年
8. Jun-ichi Iga, Shin-ya Watanabe, Shusuke Numata, Hidehiro Umehara, Akira Nishi, Makoto Kinoshita, Masatoshi Inoshita, Shinji Shimodera, Hirokazu Fujita, and

Tetsuro Ohmori: Association study of polymorphism in the serotonin transporter gene promoter, methylation profiles, and expression in patients with major depressive disorder.: 30th CINP world congress: 2016年

9. 伊賀淳一: 薬物投与計画－薬物相互作用と妊婦、老人における投与計画－: 第2回臨床精神薬理教育セミナー: 2016年

[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

<https://orcid.org/0000-0003-4409-3096>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
伊賀 淳一 (Iga, Junichi)
愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 70363140