

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390160

研究課題名(和文) 抑うつ発症における職業性ストレスと遺伝素因・エピゲノムの相互作用

研究課題名(英文) Depression and interaction between occupational stress and genetic/epigenetic factors

研究代表者

宮木 幸一 (MIYAKI, Koichi)

北里大学・医学部・准教授

研究者番号：20327498

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、抑うつ発症における職業性ストレスと遺伝素因・エピゲノムの相互作用を明らかにすることにより、早期予防に資する研究成果の基礎となるものを目指してきた。774名の協力者を得て、唾液からDNAサンプルを採取し、各種調査票に記入してもらった。抑うつ度と有意に相関するエピゲノム情報として、BDNF遺伝子やMTHFR遺伝子のメチル化割合が有用である可能性について国際誌に論文が掲載された。ストレスと有意に相関するエピゲノム情報として、TH遺伝子のメチル化割合が有用である可能性について国際誌に論文が掲載された。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted in order to make the foundation of mental prevention by clarifying the interaction between occupational stress and genetic/epigenetic factors. 774 volunteers were recruited. As an epigenetic information which relates to depression, we reported the methylation proportions of BDNF gene (Am J Med Genet B 2014) and MTHFR gene (J Neurol Neurol Disord 2015) as possible useful markers. As an epigenetic information which relates to occupational stress, we reported the methylation proportions of TH gene (J Neurol Neurol Disord 2015) as a possible useful marker.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：メンタルヘルス 抑うつ ストレス エピゲノム 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

本研究は抑うつ発症における職業性ストレスと遺伝素因・エピゲノムの相互作用を明らかにすることにより、早期予防に資する研究成果の基礎となるものを目指してきた。

日本では、うつ病の患者数が増加しつつ、国民の4人にひとりが一生のうち少なくとも一度は精神疾患を体験すると報告もある。しかし我が国ではうつ病の診断基準が精神科医によりまちまちである点が問題とされていた。これまでの国際的な診断基準(DSM-IV、ICD-10など)は、主観的な症状の陳述や観察、罹病期間や症状変化の時間経過、臨床医の印象など、客観性に欠ける要素が多く、疾患の中でも多様性に富み、正確な疫学調査や治療法の標準化、新薬の開発などが進みにくいという問題があった。誤診を減少させ、必要な人に早期治療を施すためには、客観的な診断指標が必要となる。これまで開発されている生物学的な指標、たとえば死後脳研究、脳画像研究、遺伝子多型研究は、研究手法と対象の制限、遺伝子多様性の問題、環境素因との相互作用が調べにくいなどの問題点から、まだ決定的な結論に達する研究がないため、新しいバイオマーカーの探索は課題となっていた。

近年、エピジェネティクス、いわゆるDNAの塩基配列の変化を伴わず、生育環境やストレスなどの環境因子により、細胞分裂後も継承される後天的に遺伝子発現変化が生じる機構について、うつ病との関与が注目されてきた。分子レベルでは、DNAメチル化とヒストンの化学的修飾が最も影響が大きいと報告されている。DNAメチル化とは、通常遺伝子上のシトシンとグアニンが隣接しているCpGという配列、シトシンのピリミジン環の5位炭素原子へのメチル基が付加する反応である。CpGサイトの出現頻度がゲノム中で他と比べ高い領域をCpGアイランドと呼ぶが(CpGの「p」の文字は、シトシンとグアニンの間のホスホジエステル結合を表す)細胞が分裂する際にはDNAメチル化も複製される。DNAがメチル化されると、クロマチン構造の変化や転写制御因子のDNA結合阻害をもたらす、その領域に含まれる遺伝子の発現を抑制することとなる。ゲノム研究と比べると、DNAのメチル化は、化学的に安定しているだけでなく、環境因子や薬物により可逆的であり、癌や生活習慣病などの多因子疾患において、発症マーカーや治療効果の判定指標となり期待されている。

従来のうつ病発症モデルでは、遺伝子多型等ジェネティックな素因と環境素因だけを考えていたが、環境素因、ホルモンの分泌およびランダムな原因によって生じるエピジェネティクスの変化をうつ病発症のリスクとする観点も重要である。グルココルチコイド受容体、BDNFなどうつ病に関与する遺伝子がプロモーター領域にメチル化され、

MeCP2など転写抑制性のたんぱく質に結合し、遺伝子の発現が抑制され、うつ病の発症を招くというモデルが示唆されてきた。

DNA抽出技術の進歩やDNAメチル化の評価がチップで効率的に行えるようになり、研究同意者の唾液中に含まれている白血球細胞を用い、神経細胞でない体細胞由来のゲノムDNAを対象とし、抑うつ発症に関連するエピジェネティクスの変化及び環境要因からの影響を非侵襲的に解明することが可能となってきたことが本研究の背景である。

## 2. 研究の目的

本研究は、抑うつ発症における職業性ストレスと遺伝素因・エピゲノムの相互作用を明らかにすることにより、早期予防に資する研究成果の基礎となるものを目指してきた。

我々はJ-HOPE労働者コホートの一環として、その協力者の中からさらに本研究に協力くださる方を募り、文書でインフォームドコンセントを得て唾液を収集し、抑うつやストレスなどの各種指標との関連を明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

我々は別の文部科学省の前向きコホート「仕事と健康に関する調査」研究に参加していたある企業の従業員774名を対象者に再同意を取得し、唾液からDNAサンプルを採取した。仕事に関するアンケートで得られたストレススコアにより対象者全員を4分位で分けて、それぞれのグループから90人をランダムに選んで、4つのプールを作成した。イルミナのHumanMethylation450BeadChipを用いて、InfiniumMethylationAssayによりゲノムワイドなエピゲノム解析を行った。

メチル化度は各CpGローカスのメチル化シグナルとシグナル強度総和の比で算出される。数値の範囲は0から1までの値をとり、1に近い程メチル化程度が強いことを意味している。解析に使われた指標は抑うつ度(K6)、職場でのストレス指標、社会経済状況(SES)などを調査して用いた。

またメンタルヘルスに関連することが既存研究から推測された候補遺伝子を抽出し、その遺伝子のメチル化割合を、ストレス指標や抑うつ度などの各種指標を用いて分析した。例えばTH遺伝子を見てみると、同遺伝子の全長もプロモーター領域も、ストレスの低いグループと比べると、ストレスの高いグループの平均メチル化度は有意に高いことがわかり、このときTH遺伝子のメチル化割合を非侵襲的に調べることで、客観的評価の難しいストレスの有用なマーカーとなることがわかる。このように他にもBDNF遺伝子やMTHFR遺伝子などのメチル化割合も検討していき、ストレスや抑うつ度の有用なマーカーがないかを検討していった。

#### 4 . 研究成果

抑うつ度と有意に相関するエピゲノム情報として、BDNF 遺伝子のメチル化割合が有用である可能性について国際誌に論文が掲載された(*Am J Med Genet B* 2014)。

ストレスと有意に相関するエピゲノム情報として、TH 遺伝子のメチル化割合が有用である可能性について国際誌に論文が掲載された(*J Neurol Neurol Disord* 2015)。

さらに抑うつと有意に相関するエピゲノム情報として、MTHFR 遺伝子のメチル化割合が有用である可能性について国際誌に論文が掲載された(*J Neurol Neurol Disord* 2015)。

例えばドーパミンシステムは抑うつ発症に重要な役割を果たし、抗うつ療法の標的にもなっている。Tyrosine hydroxylase (チロシン水酸化酵素) はチロシンをドーパミンの前駆体であるジヒドロキシフェニルアラニン(L-DOPA)に変換する酵素であり、様々な精神疾患との関与が注目されている。先行研究により、遺伝的要因のあるマウスを隔離飼育すると、成熟後に中脳皮質系ドーパミン作動性神経系 TH 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化が亢進していることが示されていた。我々の検討結果から TH 遺伝子全長もプロモーター領域も、ストレスの低いグループと比べると、高いストレスグループの平均メチル化度は有意に高かった。

脳由来神経栄養因子 (BDNF; Brain-derived neurotrophic factor) は、神経細胞の生存・成長・シナプス可塑性などの調節には不可欠な神経系の液性蛋白質であり、精神障害の発生に関与すると知られている。

先行研究では BDNF 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化と抑うつに関連が示唆されていたし、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR ; methylenetetrahydrofolate reductase)

も同様に先行研究から関連が疑われていたが、我々の知見はそれらと一貫性のある肯定的な結果が得られた。

このように唾液から迅速に DNA メチル化の判定ができれば、客観的な評価が難しいとされるストレスの定量化に役立ち、うつ病治療において環境調整は重要なファクターを占めるが、そのモニタリング指標としても有用である可能性がある。

#### 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)

— Miyaki K, Song Y, Suzuki T, Eguchi H, Kawakami N, Takahashi M, Shimazu A, Inoue A, Kurioka S, Kan C and Tsutsumi A. DNA Methylation Status of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene is associated with Depressive Symptoms in Japanese Workers: A Cross-Sectional Study. *J Neurol Neurol Disord* 査読有 2015; 2(3): 304.

[https://www.researchgate.net/publication/296301392\\_DNA\\_Methylation\\_Status\\_of\\_the\\_Methylenetetrahydrofolate\\_Reductase\\_Gene\\_is\\_associated\\_with\\_Depressive\\_Symptoms\\_in\\_Japanese\\_Workers\\_A\\_Cross-Sectional\\_Study](https://www.researchgate.net/publication/296301392_DNA_Methylation_Status_of_the_Methylenetetrahydrofolate_Reductase_Gene_is_associated_with_Depressive_Symptoms_in_Japanese_Workers_A_Cross-Sectional_Study)

— Miyaki K, Suzuki T, Song Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Shimazu A, Takahashi M, Inoue A, Kurioka S, Shimbo T. Epigenetic Changes Caused by Occupational Stress in Humans Revealed through Noninvasive Assessment of DNA Methylation of the Tyrosine Hydroxylase Gene. *J Neurol Neurol Disord* 査読有 2015; 2(2): 201.

[https://www.researchgate.net/publication/283891671\\_Epigenetic\\_Changes\\_Caused\\_by\\_Occupational\\_Stress\\_in\\_Humans\\_Revealed\\_through\\_Noninvasive\\_Assessment\\_of\\_DNA\\_Methylation\\_of\\_the\\_Tyrosine\\_Hydroxylase\\_Gene](https://www.researchgate.net/publication/283891671_Epigenetic_Changes_Caused_by_Occupational_Stress_in_Humans_Revealed_through_Noninvasive_Assessment_of_DNA_Methylation_of_the_Tyrosine_Hydroxylase_Gene)

— Suzuki T, Miyaki K, Song Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Shimazu A, Takahashi M, Inoue A, Kurioka S. Relationship between sickness presenteeism (WHO-HPQ) with depression and sickness absence due to mental disease in a cohort of Japanese workers. *J Affect Disord* 査読有 2015; 180: 14-20. doi: 10.1016/j.jad.2015.03.034.

— Suzuki T, Miyaki K, Sasaki Y, Song Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Shimazu A, Takahashi M, Inoue A, Kurioka S, Shimbo T.

Optimal cutoff values of WHO-HPQ  
presenteeism scores by ROC analysis for  
preventing mental sickness absence in  
Japanese prospective cohort. *PLoS One* 査  
読有 2014; Oct 23(9(10)) e111191. doi:  
10.1371/journal.pone.0111191.

— Htun NC, Miyaki K, Zhao C, Muramatsu M,  
Sato N. Epistasis Effects of COMT and  
MTHFR on inter-individual differences in  
mental health: under the inverted U-shaped  
prefrontal dopamine model *Biochem  
Biophys Res Commun* 査読有 2014; 451(4)  
574-579. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.08.023.

— Song Y, Miyaki K, Suzuki T, Sasaki Y,  
Tsutsumi A, Kawakami N, Shimazu A,  
Takahashi M, Inoue A, Kan C, Kurioka S,  
Shimbo T. Altered DNA Methylation Status  
of Human Brain Derived Neurotrophis  
Factor Gene Could Be Useful as Biomarker  
of Depression. *Neuropsychiatric Genetics*  
査読有 2014 165(4):357-64. doi:  
10.1002/ajmg.b.32238.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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  
<http://plaza.umin.ac.jp/miyaki/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮木 幸一 (MIYAKI, Koichi)  
北里大学・医学部・准教授  
研究者番号：20327498

### (2) 研究分担者

鈴木 知子 (SUZUKI, Tomoko)  
北里大学・医学部・助教  
研究者番号：60728682

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：