

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 11 日現在

機関番号：32511

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461723

研究課題名(和文) うつ病に関連する遺伝子およびそのメチル化と養育期環境の交互作用の解析

研究課題名(英文) Genome-wide methylation and association analysis of depression

研究代表者

音羽 健司 (OTOWA, Takeshi)

帝京平成大学・臨床心理学研究科・教授

研究者番号：70456119

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)：本研究では、うつ症状に関連する遺伝・環境要因の同定を行い、環境ストレスと関係する遺伝子のメチル化とうつ症状の関連を調べるものである。これまでに収集した関東近郊に在住の約800名の成人サンプルを対象に、うつ症状につながる環境・遺伝交互作用について、全ゲノムレベルでの解析を行い、候補部位を見出した。また、うつ症状に関するメチル化部位についても全ゲノムレベルで有意な部位は見られなかったが、候補となるメチル化領域が見出された。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study is to identify genes that influence the association of stressful events with depression. Therefore, we performed a genome-wide G × E interaction analysis in the Japanese population living in the Kanto area (n=800) and found a nominally significant association. We also performed an epigenome-wide association study of depression using DNA methylation arrays and found several candidate regions.

研究分野：精神科遺伝学

キーワード：遺伝子 全ゲノム関連解析 うつ状態 メチル化

1. 研究開始当初の背景

うつ病の発症には、遺伝要因(家族歴、遺伝子、性別、パーソナリティ)と環境要因(ストレス、虐待、家庭環境)の相互作用が関与することがよく知られている。うつ病の家族研究や双生児研究からは遺伝要因の関与が示されており(Shin et al., *Int Rev Psychiatry*, 2004)、うつ病の遺伝率、すなわち遺伝要因によって説明ができる部分は30-40%であることが分かっている。一方で、特に幼少期から思春期にかけて海馬や前頭葉などがそれぞれ神経発達のピークを迎えるため、この養育期の環境ストレスが成人期のうつ症状やうつ病の発症との関連では重要であると考えられる(Andersen & Teicher, *Trends Neurosci*, 2008)。例えば、養育期の環境ストレス(身体的虐待、性的虐待)とうつ病には量-反応関係があることが示されている(Chapman et al., *J Affect Disord*, 2004)。しかし、これまで養育期の環境ストレスのどの要因がうつ病発症に影響しているかは不明である。

うつ病に関与する遺伝子としては、特に選択的セロトニン再取り込み阻害剤(selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI)の抗うつ効果から、セロトニン・トランスポーター(5HTT)が注目されてきた。この遺伝子の多型(length polymorphic region: LPR)のうち発現量の低くなるs型では、養育期のストレスの数が増えるほどうつ病の頻度が高いことが示された(Caspi et al., *Science*, 2003)。この他にも、ストレスホルモンに関連するcorticotrophin-releasing hormone receptor 1(CRHR1)遺伝子の多型と小児期の虐待の交互作用が成人のうつ症状を予測することが報告されている(Grabe et al., *Arch Gen Psychiatry*, 2010)。

上記のように、これまで遺伝・環境相互作用がうつ病発症に関連することが報告され

てきたが、その背景にある分子学的遺伝メカニズムは明らかにされていない。近年、養育期の環境ストレスによってDNA配列を変えずに遺伝発現に影響を与えるエピジェネティクス(メチル化など)が注目されている。マウスを用いた報告で、母親マウスと離れて育てられた仔マウスの脳部位では神経ペプチド arginine vasopressin(AVP)の遺伝子部位の低メチル化が認められ、長期的なストレスレベルの高い状態がみられた(Murgatroyd et al., *Nat Neurosci*, 2009)。ヒトを用いた報告では、うつ病患者と健常群の末梢血で神経栄養因子であるBDNF(brain-derived neurotrophic factor)のプロモーター領域を調べたところメチル化に違いが認められた(Fuchikami et al., *PLoS One*, 2011)。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究ではうつ症状に関連する遺伝・環境要因の同定を行い、環境ストレスと関係する遺伝子のメチル化とうつ症状の関連を調べることで、以下のような目的を検討することとした。

- 1) うつ症状と環境ストレス(ライフストレス・イベントなど)との関連を検討する。
- 2) うつ症状と関連のある遺伝子座を探索するために、全ゲノム関連解析(genome-wide association study)を行い、全ゲノムレベルでの遺伝・環境交互作用とうつ症状の関連を調べ、候補遺伝子を見出す。
- 3) うつ症状群と健常対照群のサンプルをメチル化に差異があるかについて、全ゲノムレベルでのcase-control間での比較を行い、うつ症状に関連するメチル化部位を調べる。

3. 研究の方法

(1) うつ症状を予測する環境ストレスの解析

申請者はこれまでの研究で、東京大学医学部の研究倫理委員会に承認された方法で、関東在住の一般集団から1,000名以上の末梢血

より抽出した DNA サンプル収集と同時に、詳しい臨床症状、心理・性格検査 (NEO-PI-R, STAI, CES-D など) のデータを収集した。このうち約 320 名の者については、さらに詳細な養育期の環境ストレス (ライフイベント尺度 (SRRS: Social Readjustment Rating Scale) 等) についてアンケート調査を行った。このデータをもとに、環境ストレスとうつ症状との関連について解析を行う。他にも企業に勤務する一般集団 (n=430) についてのサンプルリクルートを行い、環境ストレス (職場環境の安定性などの環境ストレス) についてのアンケート調査を行う。

(2) うつ症状とうつ病候補遺伝子の関連解析

上記の約 320 名のサンプル集団を用いて、全ゲノム関連解析 (genome-wide association study) を行い、全ゲノムレベルでのうつ症状を予測する環境・遺伝交互作用解析を行う。そこで得られた top hit 領域の遺伝子については、さらに別集団 (n=470) を用いて、PCR 法や ABI 社製 PRISM 7900HT を用いた TaqMan 法で遺伝子タイピングを行う。

(3) うつ症状に関係するメチル化部位についての検討

(1) で用いた約 320 名の一般集団のうち、うつ症状のある群 (n=20) と性別・年齢をマッチさせた健常対照群 (n=27) の計 47 名を抽出し、全ゲノムレベルでのメチル化の差異の比較検討を行う。見出された候補部位についてはパイロシーケンシング法によって解析し、結果の確認を行う。

4. 研究成果

約 320 名の成人サンプルを対象に、環境ストレス (SRRS: Social Readjustment Rating Scale) とうつ症状 (CES-D) の交互作用について、全ゲノムワイド (genome-wide association study: GWAS) での関連解析データを用いて関連部位の探索を行い、染色体 10q25 に位置する RGS10 遺伝子上の多型が全

ゲノムレベルで有意差が示唆された。さらに、RGS10 領域について、今回新たに収集したサンプル集団 (n=430 名) を対象として、ABI 社製 PRISM 7900HT を用いた TaqMan 法で遺伝子タイピングを行い、同様の遺伝・環境相互作用を見出した。環境要因の影響を考慮し、新たに全ゲノム DNA メチル化解析を 47 名に対して Illumina 社製 HumanMethylation450 Beadchip を用いて網羅的に行った。対象者のうち、CES-D 得点が 16 点以上をうつ症状ありとして、うつ症状あり群 20 名とうつ症状なし群 27 名に分け、メチル化量を t 検定で比較した。品質管理を通過した 376,057 プローブを利用して全ゲノムで比較した結果、最も有意な部位は染色体 13 番上の遺伝子上に存在した ($p=4.3 \times 10^{-6}$)。他にも有意なプローブが複数存在する遺伝子を調べたところ染色体 5 番上のプロトカドヘリンファミリー遺伝子群が多くみられた。うつ状態群は健常群に比較し、低メチル化傾向であることが分かった。また、パイロシーケンシング法による確認実験でも有意差が認められたため、別サンプル (うつ状態 24 名対健常者 24 名) でもメチル化量の比較を行ったところ、有意差は認められなかった。他にも、top 100 プローブの位置する遺伝子についてパスウェイ解析を行ったところ、最も有意な関連を認められたのは神経細胞接着因子に関する遺伝子群であった ($p=6.0 \times 10^{-20}$)。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

Otowa T, Kawamura Y, Tsutsumi A, Kawakami N, Kan C, Shimada T, Umekage T, Kasai K, Tokunaga K, Sasaki T. The first pilot genome-wide gene-environment study of depression in the Japanese population. Plos One 11(8):e0160823, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0160823. (査読有)

Otowa T, Maher BS, Aggen SH, McClay JL, van den Oord EJ, Hettema JM. Genome-wide and gene-based association studies of anxiety disorders in European and African American samples. Plos One 2014; 9 (11): e112559. doi: 10.1371/journal.pone.0112559. (査読有)

Otowa T, York TP, Gardner CO, Kendler KS, Hettema JM. The impact of childhood parental loss on risk for mood, anxiety and substance use disorders in a population-based sample of male twins. Psychiatry Research 2014; 220(1-2):404-9. doi: 10.1016/j.psychres.2014.07.053. (査読有)

Otowa T, Gardner CO, Kendler KS, Hettema JM. Parenting and risk for mood, anxiety and substance use disorders: a study in population-based male twins. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol 2013; 48(11):1841-9. doi: 10.1007/s00127-013-0656-4. (査読有)

音羽健司.「糖尿病とうつ病」精神科. 第24巻第3号, 295-300. 2014 (査読無)

音羽健司.「生活習慣病としてのうつ病」精神科. 第22巻第1号, 38-43. 2013 (査読無)

[学会発表](計4件)

Takeshi Otowa, Mihoko Shimada-Sugimoto, Taku Miyagawa, Yoshiya Kawamura, Chihiro Kakiuchi, Tadashi Uekage, Kiyoto Kasai, Katsushi Tokunaga, Tsukasa Sasaki. Genome-wide Methylation Analysis of Depression in the Japanese Population. The 23th World Congress of Psychiatric Genetics. Toronto (Canada) 10/16-20,

2015.

Takeshi Otowa. Current state of gene x environment interaction research in psychiatry. MIDJA Meeting 2015 at the University of Tokyo (東京都文京区) (日本人の幸せと健康調査: 研究代表 川上憲人). 4/25, 2015.

音羽健司, 豊島秀男, 佐々木司. 中高生時代の運動部活動と卒業後の喫煙・飲酒習慣との関連. 第18回日本精神保健・予防学会学術集会. 2014年11月15日 於: 東京早稲田大学大隈記念講堂(東京都新宿区). 口頭発表

Otowa T, Kawamura Y, Shimada T, Kakiuchi C, Umekage T, Kasai K, Tokunaga K, Sasaki T. Genome-wide gene-environment study identifies Regulator of G-protein signaling-10 as a susceptibility gene for depression via stressful life events. The 20th annual World Congress of Psychiatric Genetics. Boston Seaport World Trade Center (USA), 10/17-21 (Poster Presentation 10/19), 2013.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

音羽 健司 (OTOWA, Takeshi)
帝京平成大学大学院・臨床心理学研究科・教授
研究者番号: 704561197