



順天堂大学  
Juntendo University



国立研究開発法人  
日本医療研究開発機構

令和3年4月20日

報道機関 各位

熊本大学  
順天堂大学  
日本医療研究開発機構

## 双極性障害患者神経細胞における DNAメチル化変化とその特性を解明

(ポイント)

- 双極性障害(躁うつ病)患者の前頭葉神経細胞におけるDNAメチル化<sup>※1</sup>状態を明らかにしました。
- 遺伝子転写制御領域<sup>※2</sup>の全体的な低メチル化と共に、神経機能に重要な遺伝子では高メチル化していることを見出しました。
- DNAメチル化変化は、双極性障害との遺伝学的関連が報告されているゲノム領域に集積していることを見出しました。

(概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部の文東美紀准教授、上田順子大学院生、岩本和也教授、順天堂大学大学院医学研究科の加藤忠史教授、理化学研究所、東京大学の共同研究グループは、双極性障害患者前頭葉における遺伝子転写制御領域のDNAメチル化状態を明らかにしました。

DNAメチル化は「エピジェネティクス」<sup>※3</sup>における主要な分子メカニズムであり、遺伝子の働きを変化させることにより様々な疾患に関係していると考えられています。研究グループは、米国スタンレー財団<sup>※4</sup>より提供を受けた前頭葉死後脳試料を用い、神経細胞核分画<sup>※5</sup>を行った上で網羅的なDNAメチル化解析を行いました。その結果、患者では多くの遺伝子が低メチル化状態にある一方、精神・神経機能に重要な遺伝子は高メチル化されていることを明らかにしました。DNAメチル化状態に変化のあった領域は、双極性障害との遺伝学的関連が報告されているゲノム領域に

有意に集積しており、遺伝要因との関連が認められました。

本成果により、双極性障害の病態に関する理解が進み、エピジェネティックな状態を標的とした治療薬の開発が期待されます。

本研究成果は、令和3年4月20日付（英国時間）の医学雑誌「Molecular Psychiatry」において公開されました。

## （説明）

### 〔背景〕

双極性障害（躁うつ病）は、人口の約 1%が罹患し長期間の治療が必要とされる精神疾患です。疫学研究などから、発症には遺伝と環境要因の複雑な相互作用が関係していると考えられています。一方、環境要因によりゲノム中の DNA メチル化状態が変動し、遺伝子の働きが変化する現象が「エピジェネティクス」として知られており、精神疾患を含む様々な疾患の病態に深く関与すると考えられています。

これまでの研究では、末梢血や唾液試料を用いた DNA メチル化解析が行われており、DNA メチル化が変化した遺伝子の同定やバイオマーカーとしての利用が進められていますが、精神疾患は脳神経系の疾患であることから、脳組織を用いた研究が特に重要であると考えられます。しかし脳組織は、試料の希少性に加え、神経細胞やグリア細胞など様々な細胞種が混在しており、組織に含まれる細胞種の比率の違いの影響を受けるなど、正確な解析は困難でした。

本研究グループは、米国スタンレー財団より提供を受けた多数例の死後脳試料を用い、神経細胞を選り分ける神経細胞核単離を行ったのち、網羅的な DNA メチル化解析を行いました。

### 〔研究の内容及び成果〕

双極性障害患者 34 例、健常者 35 例について、前頭葉試料から神経細胞核マーカーを利用し、神経細胞核と非神経細胞核に分画後、それぞれから抽出したゲノム DNA を用いて遺伝子転写制御領域の DNA メチル化状態をアレイ法により調べました。その結果、神経細胞、非神経細胞共に健常者と比べて、双極性障害患者では多くの遺伝子が低メチル化状態にあることを見出しました。また一方で、精神・神経機能に重要な遺伝子では、神経細胞において高メチル化状態にあることを明らかにしました（図1）。

次に、双極性障害の治療薬である気分安定薬の影響を調べるため、有効血中濃度域の気分安定薬（リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン）存在下でヒト神経系細胞株の培養を行い、DNA メチル化状態を測定したところ、双極性障害患者で DNA メチル化状態が変化した領域の約 30%と重複が認められました。DNA メチル化変化の方向は死後脳での変化方向と逆方向を示すものが多く、治療効果を反映しているものと考えられました。

また、DNA メチル化変化に関連する 10 種の遺伝子の発現量を測定したところ、DNA メチル化酵素である DNMT3B 遺伝子が双極性障害患者で上昇しており、神経細胞特異的な DNA メチル化変化と関連している可能性が考えられました。

最後に、ゲノムワイド関連解析 (GWAS)<sup>※6</sup> で同定された精神疾患に関連するゲノム領域と DNA メチル化状態が変化した領域を比較したところ、双極性障害の GWAS で報告されたゲノム領域に有意な集積が認められ、うつ病や統合失調症で報告されたゲノム領域には集積は認められませんでした (図2)。

### [今後の展開]

神経細胞に特異的なDNAメチル化変化とその特徴を明らかにしたことで、双極性障害の病態の理解が大きく進むと期待されます。また、エピジェネティックな状態を標的とした治療薬の開発が期待されます。

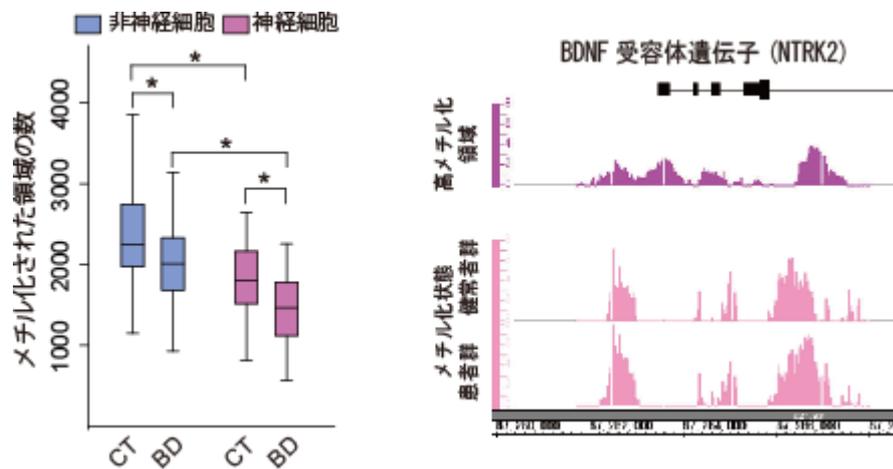


図1: 転写制御領域における低メチル化と神経機能に重要な遺伝子の高メチル化。

(左) 高メチル化された DNA 領域の数が神経細胞・非神経細胞共に患者群 (BD) で健常者群 (CT) と比較し低下している。

(右) 精神・神経機能に重要な BDNF 受容体<sup>※7</sup> 遺伝子 (NTRK2) のメチル化状態。患者で高メチル化されている領域を上段に、患者・健常者それぞれの DNA メチル化状態を下段に示す。

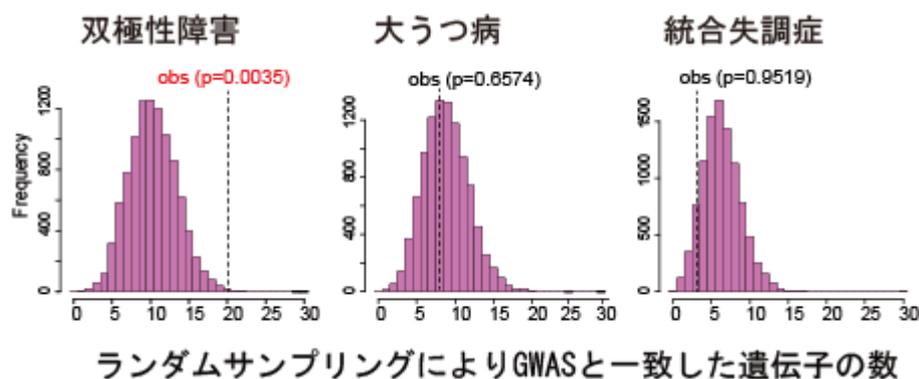


図2:神経細胞でDNAメチル化状態に差異が見られた遺伝子のGWAS領域への集積。ゲノム中の遺伝子転写制御領域について、DNAメチル化変動が認められた領域と同じ数を10,000回ランダムサンプリングを行い、双極性障害、大うつ病、統合失調症のGWAS領域との一致数を調べ、実測値(obs)のp値を求めた。双極性障害のGWAS(Mullins et al., 2020で報告されたデータを使用)では有意な集積が認められた一方、大うつ病(Howard et al., 2019のデータを使用)や統合失調症(Psychiatric Genomics Consortium, 2014のデータを使用)では有意な集積は認められなかった。

## [用語解説]

### ※1 DNAメチル化

DNAの化学修飾の1つで、シトシン塩基とグアニン塩基が連続しているCpG配列と呼ばれる部位のシトシン塩基の炭素にメチル基(-CH<sub>3</sub>)が付加されている状態。主に遺伝子の発現を抑制する方向に働く。ある領域のCpG配列の多くにメチル化が生じている状態を高メチル化、逆を低メチル化状態という。環境要因の影響などを受け変動することが知られている。

### ※2 遺伝子転写制御領域

DNAにおける転写制御を担う領域であり、プロモーター領域と呼ばれる。遺伝子の働きのONとOFFや、発現量の調節に関わる。

### ※3 エピジェネティクス

「遺伝子の塩基配列(設計図)の変化を伴わずに、子孫や娘細胞に伝達される遺伝子発現調節機構」と定義される。DNAメチル化やヒストン蛋白質修飾などが主要な分子メカニズムとして研究されている。

### ※4 スタンレー財団

精神疾患の基礎研究をサポートする米国の非営利団体。活動の一環として患者から提供された死後脳組織を集積し、研究目的として無償配布を行っている。

<https://www.stanleyresearch.org/>

#### ※5 神経細胞核分画

神経細胞核には非神経細胞核にはないNeuNタンパク質が発現しているため、NeuNタンパク質を標的とした蛍光標識抗体を用いて神経細胞核群だけを選び分ける(分画する)ことが可能。

#### ※6 ゲノムワイド関連解析(GWAS)

患者集団と非患者集団とで統計学的に有意な頻度差を示す遺伝子多型を、全ゲノム領域で網羅的に検索する遺伝子解析手法。疾患と関連するゲノム領域を同定する手法。

#### ※7 BDNF(brain-derived neurotrophic factor)

脳由来神経栄養因子。神経細胞の生存や機能維持、記憶、学習など、様々な局面で働く、NTRK2(TrkB)を受容体とする分泌性蛋白質である。BDNFの発現低下や機能不全が様々な精神・神経疾患で報告されている。

### (論文情報)

論文名:

Decreased DNA methylation at promoters and gene-specific neuronal hypermethylation in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder

著者:

Miki Bundo†, Junko Ueda†, Yutaka Nakachi, Kiyoto Kasai, Tadafumi Kato#, Kazuya Iwamoto#

(†同等貢献、#責任著者)

掲載誌:

Molecular Psychiatry

doi : 10.1038/s41380-021-01079-0

URL : <https://www.nature.com/articles/s41380-021-01079-0>.

発表者:

文東美紀 (熊本大学大学院生命科学研究部分子脳科学講座)

上田順子 (理化学研究所脳神経科学研究所精神疾患動態研究チーム、熊本大学大学院生命科学研究部分子脳科学講座)

仲地ゆたか(熊本大学大学院生命科学研究部分子脳科学講座)

加藤忠史 (理化学研究所脳神経科学研究所精神疾患動態研究チーム、順天堂大学大学院医学研究科精神・行動科学)

笠井清登 (東京大学医学部附属病院精神神経科、東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構)

岩本和也 (熊本大学大学院生命科学研究部分子脳科学講座)

**研究支援:**

**科学研究費補助金新学術領域研究**

「マルチスケール精神病態の構成的理解」

「脳・生活・人生の統合的理解にもとづく思春期からの主体価値発展学」、

**国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)**

「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト(革新脳)」

「臨床と基礎研究の連携強化による精神・神経疾患の克服(融合脳)」

「革新的先端研究開発支援事業(AMED-CREST)」

などの助成を受けて行われました。

**【お問い合わせ先】**

熊本大学大学院生命科学研究部

分子脳科学講座

担当: 岩本 和也(いわもと かずや)

電話: 096-373-5054

e-mail: iwamotok@kumamoto-u.ac.jp

順天堂大学大学院医学研究科

精神・行動科学

担当: 加藤 忠史(かとう ただふみ)

電話: 03-5802-1070

e-mail: tadafumi.kato@juntendo.ac.jp

**AMED 事業について**

日本医療研究開発機構

疾患基礎研究事業部・疾患基礎研究課

革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト

TEL: 03-6870-2286 E-mail: brain-m@amed.go.jp

脳科学研究戦略推進プログラム

TEL: 03-6870-2286 E-mail: brain-pro@amed.go.jp