

論 文 内 容 要 旨

The potential of SLC6A4 gene methylation analysis for the diagnosis and treatment of major depression

(大うつ病の診断および治療における SLC6A4 遺伝子のメチル化解析の有用性)

Journal of Psychiatric Research, 2014, in press.

主指導教員：山脇 成人 教授

(応用生命科学部門 精神神経医科学)

副指導教員：酒井 規雄 教授

(基礎生命科学部門 神経薬理学)

副指導教員：松本 昌泰 教授

(応用生命科学部門 脳神経内科学)

岡田 怜

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

うつ病患者は近年急増しており、自殺との密接な関与も指摘され、適切な診断や治療法の確立が必須の問題となっている。うつ病は国際的診断基準にて診断されるが、客観性に乏しく、診断バイオマーカーの開発が望まれている。一卵性双生児研究や GWAS からうつ病の発症様式には、遺伝以外の環境因子が密接に関連していることが指摘されている。近年、環境により可塑的に変化し、遺伝子転写を制御するエピジェネティクスが注目され、中でも DNA のシトシンのメチル化と精神疾患の関連性を検討する研究が注目されている。先行研究で、うつ病との関連が認められている脳由来神経栄養因子遺伝子のエキソン I 上流のプロモーター領域のメチル化を解析することでうつ病の診断バイオマーカーとして利用できる可能性が示唆されている。本研究では、うつ病の病態に関与し、抗うつ薬の標的とされているセロトントランスポーター(5HTT)に注目し、5HTT 遺伝子のエキソン I 近傍の CpG アイランドのメチル化を解析することで、診断バイオマーカーとしての可能性を検討した。また各 CpG のメチル化率と、5HTT 遺伝子の遺伝子多型、うつ病の重症度、幼少期ストレス、治療改善率との関連性も検討した。

方法：未治療うつ病患者群(うつ病群)50 名 (平均年齢 40.3±10.3、男/女 27/23) と健常対照者群(健常群)50 名 (平均年齢 40.3±10.5、男/女 27/23) を対象に、初診時および治療開始後 6 週のうつ病患者(40 名)及び対照者の末梢血を採取した。末梢血より DNA を抽出し、MassARRAY® Compact SYSTEM を用いてメチル化率を解析した。遺伝子多型については、抽出した DNA を用いて PCR を行い、電気泳動で確認した。うつ病の重症度は HAM-D (Hamilton Rating Scale for Depression) で、幼少期ストレスは ETISR-SF (Early Trauma Inventory Self Report-Short Form) で、治療反応性は IR (Improvement ratio) で評価した。

$$IR = \frac{HAMD(\text{治療開始前}) - HAMD(\text{治療開始後 6 週})}{HAMD(\text{治療開始前})}$$

各対象群間の比較は、全ての CpG 部位のメチル化率を用いたクラスタリング解析、および各 CpG 部位の 2 群間比較を用いた。

結果：うつ病群と健常群の比較では、クラスタリング解析で 2 群に分類されず、各 CpG における解析でも有意差のある CpG は認めなかった。遺伝子多型をふまえた解析でも、クラスタリング解析で分類されず、各 CpG における解析でも有意差のみられる CpG は認めなかった。

治療開始前および 6 週後の CpG メチル化率の比較では、CpG 3 で 6 週後に有意な上昇を認めた(P<0.0017)。治療前の各 CpG のメチル化率と HAM-D スコアおよび ETISR-SF スコアとの相関解析では、HAM-D スコアと CpG 76 との間に有意な正の相関 (r=0.30, P<0.05)を、ETISR-SF スコアと CpG 3 との間に有意な負の相関(r=-0.32, P<0.05)を、CpG 76 との間に有意な正の相関(r=0.32, P<0.05)を認めた。

治療前のメチル化率と IR の相関の解析から、CpG 3 と IR の間に有意な正の相関(r=0.36,

P<0.05)を認めた。IR50%以上(改善群)および50%未満(難治群)の2群に分類した解析では、CpG 3 のメチル化率に有意差を認めた(P<0.05)。

考察：

うつ病群と健常群の比較は、遺伝子多型をふまえても分類は出来ず、2群間で有意差のある CpG 部位もなかったため、5HTT 遺伝子のメチル化の診断バイオマーカーとしての利用は困難と考えられた。

うつ病の重症度と 5HTT 遺伝子のメチル化率が有意な相関を示す事が報告されているが、本研究でも CpG 76 のメチル化率が重症度と有意な相関を示し、うつ病の病状とメチル化が関連している可能性が示唆された。5HTT 遺伝子の CpG のメチル化率が IR と有意な相関を示す事が報告されているが、本研究では CpG3 のメチル化率が IR と有意な相関を示し、5HTT 遺伝子のメチル化率が治療反応性を推測するマーカーとなる可能性が示唆され、今後さらに症例を増やして検討する必要がある。

幼少期ストレスが 5HTT 遺伝子のメチル化に関与することやうつ病難治化と密接な関連のある事が報告されており、本研究でも CpG 3 及び CpG76 のメチル化率と幼少期ストレスとの間に相関がみられ、特に CpG3 は治療反応性とも関連することから、幼少期ストレスによる CpG3 メチル化の変動が治療抵抗性うつ病の病態と関連している可能性が考えられた。

本研究結果から、CpG 3, 76 のメチル化の 5HTT の遺伝子発現におよぼす影響は現時点で不明であるが、将来的に CpG の転写機能解析を行うことで、うつ病の薬物治療抵抗性の機序の解明や予測マーカーの開発につながる可能性が示唆された。