

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	野 嶋 真 士
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Alterations in DNA methylation rates of brain-derived neurotrophic factor in patients with schizophrenia. (統合失調症患者における脳由来神経栄養因子遺伝子の DNA メチル化率の変化)			
論文審査担当者			
主 査	教授	丸山 博文	印
審査委員	教授	相澤 秀紀	
審査委員	准教授	森野 豊之	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>統合失調症は遺伝要因と環境要因が相互に影響して発病する多因子疾患であるが、環境要因の統合失調症発病にかかわる分子生物学的メカニズムはいまだ十分に解明されていない。近年統合失調症の病態に関連して、大脳皮質を中心とした進行性の体積減少に加えて、患者死後脳におけるスパインの数や密度の減少・樹状突起の短縮などの微細な脳構造異常が報告されている。その一方で、シナプスの新生、発達、可塑性などに深く関与することが知られている脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor : BDNF) が統合失調症患者の血液や死後脳において発現が低下していることから、統合失調症の病態への BDNF 遺伝子の発現変化の関与が示唆されている。特に、遺伝子環境相互作用の観点から注目されているエピジェネティクス研究の中で、統合失調症患者で BDNF 遺伝子における DNA メチル化の変化が報告されているが、これまでの研究は BDNF 遺伝子の中でもごく限られた領域の解析にとどまっている。このような背景から、本研究では BDNF 遺伝子の中で発現調節に重要である領域の DNA メチル化を広範に解析し、診断マーカーとしての可能性を検討するとともに、罹病期間、重症度および抗精神病薬投薬量との相関性について解析し、その臨床的意義を検証した。</p> <p>統合失調症の男性患者 22 名（平均年齢 36.4 歳）と健常対照男性 22 名（平均年齢 41.1 歳）を対象に末梢血を採取した。統合失調症の診断はアメリカ精神医学会の診断基準を用いて行い、重症度は簡易精神症状評価尺度で評価した。また、参加した患者の抗精神病薬の種類と量は一定でないため、投薬量はクロルプロマジン換算値を用いた。DNA メチル化は、BDNF 遺伝子第 I エクソンの上流にある CpG アイランド (CpG I) を対象として MassARRAY® System を用いて測定し、33 の CpG ユニットの DNA メチル化率を得た。統計解析には、DNA メチル化率と年齢との相関解析には Spearman rank correlation test を、投薬量、重症度および罹病期間との相関解析には、年齢による DNA メチル化率への影響を除外するため semi-partial Spearman correlation test を、DNA メチル化率の全データを用いて対照群と疾患群の分類が可能かの検証には階層的クラスタリング法を、対照群と疾患群における各 CpG ユニットの DNA メチル化率の群間差の解析には、年齢を共変量として調整した共分散分析 (ANCOVA) をそれぞれ用いた。</p> <p>結果は以下の如くまとめられる。まず年齢と抗精神病薬投薬量が BDNF 遺伝子の DNA メチル化に及ぼす影響を検討し、投薬量と CpG28 の DNA メチル化率に有意な相関を認めたため、以後の解析から CpG28 のデータを除外した。次に行った DNA メチル化率の全データを用いたクラスタリングでは対照群と疾患群を分類することはできなかったが、各 CpG ユニットにおける DNA メチル化率の群間比較では 4 つの CpG ユニットにおいて有意差を認めた。最後に疾患群において重症度および罹病期間と DNA メチル化率の相関を解析したが、いずれの CpG ユニットにおいても有意な相関</p>			

は認めなかった。

今回の CpG I 内の全 CpG 部位での解析から、4 つの CpG ユニットで統合失調症と健常者の間に有意な DNA メチル化率の変化を認めた。統合失調症患者の末梢血を用いて BDNF 遺伝子の DNA メチル化を調べた先行研究は少ない。これまでの幾つかの先行研究では、BDNF 遺伝子のごく限られた領域の解析によって、健常対照との間に有意差がないことや本研究で変化を認めた場所とは異なる遺伝子上の場所での DNA メチル化の変化が報告されている。今回、CpG I 内の全 CpG 部位での解析によって、これらの DNA メチル化の変化を初めて見出すことができた。一方、BDNF 遺伝子の CpG I の内、解析可能であった 33 の CpG ユニットで得られた全 DNA メチル化率を用いた解析では統合失調症患者と健常対照を分けることはできず、重症度と罹病期間との相関も認めなかったことから、診断や病状のバイオマーカーとしての利用は困難と考えられた。本研究では、研究へ参加した患者群のほとんどが抗精神病薬を内服中であったことや全員が日本人男性であったこと、喫煙率や肥満度の影響の除外が出来ていないこと、mRNA 発現との関連を解析できていないことなどがリミテーションとなる。統合失調症患者で有意な DNA メチル化変化を認めた CpG 部位の遺伝子発現や生体機能変化におよぼす影響は現時点で不明であり、今後、これらの CpG の機能解析を行う必要がある。本研究は統合失調症のエピジェネティックな病態の理解につながる重要な知見と考えられた。

以上の結果から、本論文は統合失調症の重要な病態を明らかにし、新規治療法や診断法の開発に寄与する優れた論文である。

よって審査委員会委員全員は、本論文が野島真士に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。