

論 文 内 容 要 旨

題 目 DNA Methylation Signatures of Peripheral Leukocytes in Schizophrenia

(統合失調症患者の末梢血白血球を用いた DNA メチル化修飾解析研究)

著 者 Makoto Kinoshita, Shusuke Numata, Atsushi Tajima, Shinji Shimodera, Shinji Ono, Akira Imamura, Jun-ichi Iga, Shinya Watanabe, Kumiko Kikuchi, Hiroko Kubo, Masahito Nakataki, Satsuki Sumitani, Issei Imoto, Yuji Okazaki, Tetsuro Ohmori
平成 25 年 3 月 1 日発行 Neuromolecular Medicine 第 15 巻第 1 号
95 ページから 101 ページに発表済

内容要旨

近年、統合失調症における DNA メチル化修飾の変化が注目されてきているが、抗精神病薬を内服していない患者サンプルを用いた研究は報告されていない。今回我々は、抗精神病薬を内服していない統合失調症患者と健常者のセットならびに一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児ペアのセットを用いて、ゲノム網羅的に DNA メチル化修飾解析を行い、末梢血に 0 おける統合失調症の DNA メチル化異常の特徴を検討した。24 名の未治療統合失調症と、年齢、性別を一致させた 23 名の健常者の末梢血白血球から DNA を得た (ファーストセット)。また一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児 3 組の末梢血白血球からも DNA を得た (セカンドセット)。DNA はフェノールクロロホルム法で抽出し、EZ DNA methylation kit (Zymo Research 社)を用いてバイサルファイト処理を行った。Infinium HumanMethylation450 Beadchip (Illumina 社)を用いて DNA メチル化レベルを解析した。485,764CpG サイトを解析し、DNA メチル化のレベルは β 値として、0 (非メチル化) から 1 (完全メチル化) の値で表した。未治療統合失調症サンプルの解析では、surrogate variable analysis をおこない、false discovery rate 0.05 を有意水準とした。一卵性双生児の解析では、DNA メチル化レベルの比較に paired t 検定を用い、 $P < 0.05$ ならびにメチル化の差異 $\Delta \beta > 0.01$ を有意水準とした。ファーストセットでは 10,747CpG サイトで、セカンドセットでは 15,872CpG サイトで疾患群・健常者群の 2 群間で DNA メチル化修飾レベルの違いを認めた。2 つの結果を比較すると 234CpG サイトで共通

様式(8)

した変化を認め、215CpG サイトは統合失調症で高メチル化であった。234CpG サイトのうち、95 サイトが CpG アイランド内にあり、109CpG サイトはプロモータ領域に位置していた。抗精神病薬を内服していない統合失調症患者と健常者の DNA メチル化修飾を比較し、さらに一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児ペアを用いた解析・比較検討も行った。遺伝子多型が DNA メチル化修飾に影響を与えることが知られており、一方のみが発症した一卵性双生児ペアを用いた研究は遺伝子の影響を考慮せずに DNA メチル化修飾の変化を解析できる有用な方法である。234CpG サイトにおいて共通した DNA メチル化異常を認め、それらのサイトの存在する遺伝子のいくつかはこれまでに統合失調症との関連が報告されていた。また統合失調症の DNA メチル化修飾の異常が CpG アイランドだけではなくその近傍でも起きていること、およびプロモータ領域だけでなく Gene body 内でも起こることが明らかとなった。Gene body の DNA メチル化修飾の役割は不明であるが、遺伝子発現への影響が報告されており、今後遺伝子発現との関連研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1212号	氏名	木下 誠
審査委員	主査 福井 清 副査 六反 一仁 副査 西村 明儒		

題目 DNA Methylation Signatures of Peripheral Leukocytes in Schizophrenia

(統合失調症患者の末梢血白血球を用いた DNA メチル化修飾解析研究)

著者 Makoto Kinoshita, Shusuke Numata, Atsushi Tajima, Shinji Shimodera, Shinji Ono, Akira Imamura, Jun-ichi Iga, Shinya Watanabe, Kumiko Kikuchi, Hiroko Kubo, Masahito Nakataki, Satsuki Sumitani, Issei Imoto, Yuji Okazaki, Tetsuro Ohmori
 平成 25 年 3 月 1 日発行 Neuromolecular Medicine 第 15 巻第 1 号 95 ページから 101 ページに発表済
 (主任教授 大森 哲郎)

要旨 統合失調症では一卵性双生児の一致率は 50%前後であり、孤発例も多いことなどから、DNA メチル化修飾の変化が注目されてきている。しかし、これまでの検討では解析対象領域が遺伝子のプロモータ領域の CpG アイランド内に限局されており、また抗精神病薬を内服していない患者サンプルを用いた報告はない。そこで申請者らは、抗精神病薬を内服していない統合失調症患者と健常者のセットならびに一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児ペアのセットを用いて、ゲノム網羅的に DNA メチル化修飾解析を行った。

対象としたのは、24 名の薬を内服していない統合失調症患者と

23名の性・年齢の一致した健常ボランティアであり、文書に基づいて説明し、研究への参加の文書同意を得たのち末梢白血球を採取した(ファーストセット)。さらに、一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児不一致例3組から得た試料を長崎大学医学部精神神経科学教室から供与を受けた(セカンドセット)。解析は、バイサルファイト処理を行った後、Infinium® HumanMethylation450 Beadchips (Illumina社)を用いて485,764CpGサイトのDNAメチル化修飾レベルを調べた。ファーストセットの解析では surrogate variable analysis を、セカンドセットの解析では paired *t* 検定を行い、統合失調症サンプルと健常者サンプルのDNAメチル化修飾の違いを解析した。

得られた結果は次の通りである。

1. ファーストセットでは 10,747CpG サイトで、セカンドセットでは 15,872CpG サイトで、疾患群と健常者群の2群間のDNAメチル化修飾の差異を認めた。
2. 2つのセット間で共通するDNAメチル化修飾の変化を234CpGサイトで認めた。これらのサイトは、CpGアイランドだけでなく近傍のCpGアイランドショーやシェルフにも位置し、遺伝子のプロモータ領域だけでなく Gene body や 3'-非翻訳領域など遺伝子の広範囲に位置していた。

以上の結果より、抗精神病薬を内服していない統合失調症患者に認められ、かつ一方のみが統合失調症を発症した一卵性双生児例にも共通するDNAメチル化修飾の異常は、遺伝子の広範囲に渡っていることが示唆された。統合失調症の病態解明の一助となる新たな知見であり、学位授与に値すると判定した。