

研究の要約

タイトル

うつ病診断に関する新たな血中バイオマーカーの発見

要約：

広島大学大学院医歯薬学総合研究科精神神経医科学（山脇成人教授）の森信繁准教授のグループは、血液由来の DNA を用いて脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子のメチル化を解析した結果、BDNF 遺伝子メチル化が新たなうつ病診断のためのバイオマーカーとなることを発見しました。

現在うつ病の診断は、精神科医による精神症状の臨床評価によって行われていますが、以前から客観的診断法のためのバイオマーカーの開発が求められていました。

本研究グループは、未治療うつ病患者及び健康者の血液から抽出した DNA を対象に、BDNF 遺伝子のプロモーター上にある CpG アイランドのシトシンのメチル化のプロフィールを、MassARRAY (SEQENOM 社) を用いて解析し、うつ病診断のバイオマーカーとなる可能性を発見しました。これまでうつ病の診断バイオマーカーとして開発が試みられてきた血中 BDNF 濃度などと比べて、うつ病患者と健康者との間でのオーバーラップがなく、極めて有用なマーカーである可能性が提唱されました。

今後多数例での解析が必要ですが、本研究の成果は BDNF 遺伝子のメチル化の評価がうつ病の客観的な診断法となる可能性を示しており、同時に未治療うつ病のみでなく寛解期や難治化したうつ病での解析を行うことによって、治療反応性予測のバイオマーカーとなることが期待されます。

本研究成果は、2011 年 8 月 30 日 17 時 (米国東部時間) 発行の科学誌「PloS ONE」の、オンライン版(<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0023881>)で公開されます。

本研究は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

科学技術庁戦略的創造研究推進事業 チーム型研究(CREST)

研究領域：精神・神経疾患の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出（研究総括：樋口輝彦 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター 理事長）

研究課題名；BDNF 機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の診断・治療法の創出（代表研究者：小島正巳）の分担研究「難治性うつ病の病態機序の解明と新規診断法の開発に関する基礎・臨床的研究」（分担研究者：山脇成人）

研究期間：平成 20 年 10 月～平成 26 年 3 月

研究の具体的な内容

<研究の背景と経緯>

うつ病の診断は抑うつ気分や意欲低下といった臨床症状を評価した主観的なものであり、糖尿病診断での血糖値や高血圧診断での血圧値といった、客観的な診断を行うためのうつ病のバイオマーカーは未開発の状況であった。このためうつ病診断に関する施設間での差異や不適切な抗うつ薬投与といった問題が導かれ、うつ病患者の10 – 20%が難治化・年間自殺者数3万人超といった、大きな社会的損失を招いている。

うつ病の病態解明のための動物モデルを用いた抗うつ薬やストレスの研究から、ニューロンの分化・機能維持・生存に重要な役割を果たす脳由来神経栄養因子(Brain-derived neurotrophic factor; BDNF)の低下が、うつ病の病態と密接に関与していることが示されてきた。しかしながら血液中のBDNF濃度の計測結果は、未治療うつ病患者で健康対象者と比べて平均値では有意な低下を示していたが、2群の間では広範なBDNF値の重なりがあり、臨床症状による診断に優る効果は得られていない。BDNF以外にも末梢血を用いたうつ病のバイオマーカーの開発として、合成ステロイド剤であるデキサメサゾンやコルチコトロピン放出ホルモンを負荷後の血中コルチゾール(副腎皮質ホルモン)値を計測する方法も提唱されているが、うつ病患者と健康対照者との間にはオーバーラップがあり、補助的な役割にとどまっている。

その一方で遺伝子発現メカニズムの解明に関する研究の進歩から、エピジェネティクスというDNAの塩基配列の変化に拠らない機構のあることが分かってきた。その代表的なメカニズムの一つがDNAメチル化機構であり、DNAを構成する4つの塩基の1つであるシトシンにメチル基がつくことによって、遺伝子の発現の抑制されるメカニズムである。特にDNAメチル化は遺伝子塩基配列上の変異などと異なり、DNAメチルトランスフェラーゼという酵素によってメチル基が付加され、5-メチルシトシン・ヒドロキシラーゼを介した脱メチル化反応を介してメチル基が除去される、可塑的な反応であることも分かってきた。このようなDNAメチル化を用いた診断方法の開発としては、がん遺伝子及びがん抑制遺伝子のメチル化状態を用いた、大腸・直腸がんの診断法の開発が挙げられる。ごく最近、霊長類を用いた研究であるが、脳内のDNAメチル化のプロフィールが末梢血由来DNAメチル化のプロフィールと類似しているという報告もある。

このようなDNAメチル化を巡る最近の研究成果から、うつ病の病因として有力視されている脳内BDNF遺伝子発現低下という現象が、脳内BDNF遺伝子のメチル化の異常によって引き起こされていると考えるなら、血液から得られたDNAを用いたBDNF遺伝子のメチル化を解析することによって、うつ病の診断或いは治療反応性を評価する血中バイオマーカーと成りうる可能性が予測される。

<研究の内容>

- 1) 広島大学大学院医歯薬学総合研究科精神神経医科学(山脇成人教授)の森信繁准教授と淵上学研究員は、BDNF遺伝子の第1エクソンのプロモーター上にあるCpGアイラン

ドにある 81 個のシトシンのメチル化のプロフィールを、末梢血から抽出した DNA を対象に MassARRAY (SEQUENOM 社) を用いて解析し、うつ病診断のバイオマーカーとなる可能性を解析した (図 1)。対象は未治療うつ病患者 20 人と、性別・年齢をマッチさせた健康対象者 18 名である。

- 2) 各 CpG のシトシンのメチル化の割合を 0% (非メチル化) から 100% (全メチル化) として表示し、階層的クラスター解析を行ったところ、大うつ病群と健康対象者群が全く重なりなく分類することが可能となった (図 2)。個別の CpG の統計解析で健康対照群と比較してうつ病群で有意にメチル化の低下していた CpG が 21 個、逆にうつ病群で有意に亢進していた CpG は 8 個であった。
- 3) 本研究の結果は、BDNF 遺伝子のエクソン 1 のプロモーター領域の CpG アイランドのメチル化が、うつ病診断のバイオマーカーとなる可能性を世界で最初に示した研究である。

<今後の展開>

本研究は末梢血由来の DNA のメチル化を解析しており、この意味でうつ病の診断のみならず抗うつ薬に対する治療反応性の予測など、うつ病の客観的バイオマーカーとして有用と考えられる。今後は本研究の成果の妥当性を検証する目的から、BDNF 遺伝子のメチル化のプロフィールを、未治療・寛解期・遷延性といった各種うつ状態で、多数例での解析が必要と考えられる。同時に統合失調症や双極性障害など、他の精神疾患での解析が必要と思われる。

<用語解説>

エピジェネティクス：塩基配列の変化ではなく DNA を構成する塩基の修飾によって、遺伝子の発現が変動するメカニズムをエピジェネティクスと総称している。代表的な反応のひとつが、シトシンにメチル基が付加される DNA メチル化であり、このシトシンの修飾であるメチル化によって遺伝子の発現が抑制される。

CpG: DNA を構成する 4 つの塩基の 2 つであるシトシンとグアニンが、ホスホジエステル結合している状態を意味している。

CpG アイランド：染色体を構成する塩基配列の中でシトシンとグアニンの含量が多い領域の名称であり、この領域では CpG の配列が 6%かそれ以上となっている。

<論文名>

DAN methylation profiles of the grain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in major depression

<研究に関するお問い合わせ先>

広島大学病院精神科

〒734-8551

広島市南区霞 1-2-3

Tel: 082-257-5479, Fax: 082-257-5209

森信 繁 (モリノブ シゲル) E-mail: smoriob@hiroshima-u.ac.jp

山脇成人 (ヤマワキ シゲト) E-mail: yamawaki@hiroshima-u.ac.jp

BDNF遺伝子構造 (エクソン1のプロモーター領域)

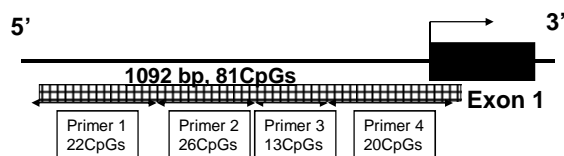


図1. BDNF遺伝子のエクソン1のプロモーター上にあるCpGアイランド(81個のCpGが含まれる)領域を4つに区分してPCRで増幅して、各領域にあるシトシンのメチル化の割合をMassARRAY System (SEQUENOM社)を用いて解析した。

