

第 8 号様式

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	岡田 怜
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
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)			
論文審査担当者			
主 査 教 授 橋本 浩一 ㊞			
審査委員 教 授 栗栖 薫			
審査委員 教 授 川上 秀史			
〔論文審査の要旨〕			
<p>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ゲノムワイド関連解析(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。先行研究においても、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ニ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。</p> <p>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、</p>			

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 Hamilton Rating Scale for Depression (HAM-D) で、幼少期ストレスは Early Trauma Inventory Self Report-Short Form (ETISR-SF) で、治療反応性は Improvement ratio (IR) で評価した。各対象群間の比較は、すべての 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。

結果は以下のごとくまとめられる。うつ病群 (50 名) と健常群 (50 名) 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 における解析でもメチル化率に有意差のある CpG は認められなかった。遺伝子多型を踏まえた解析においても、クラスタリング解析で分類されず、各 CpG における解析でもメチル化率に有意差のみられる CpG は認められなかった。一方では、初診時 (50 名) および治療開始後 6 週 (40 名) の各 CpG における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 ($p < 0.0017$, Wilcoxon signed-rank test)。初診時 (50 名) の各 CpG のメチル化率と HAM-D スコアとの相関解析を行った所、HAM-D スコアと CpG 76 との間に有意な正の相関 ($r = 0.30$, $p < 0.05$, Spearman rank correlation test) が認められた。また初診時 (50 名) のメチル化率と ETISR-SF スコアとの相関解析においては、CpG 3 との間で有意な負の相関 ($r = -0.32$, $p < 0.05$) が、CpG 76 との間に有意な正の相関 ($r = 0.32$, $p < 0.05$) がそれぞれ認められた。初診時 (50 名) のメチル化率と IR の相関の解析において、CpG 3 と IR の間に有意な正の相関 ($r = 0.36$, $p < 0.05$) が認められた。IR50%以上 (反応群、28 名) および 50%未満 (非反応群、12 名) の 2 群に分類した解析では、CpG 3 のメチル化率に有意差が認められた ($p < 0.05$, Mann-Whitney U test)。

本研究において、うつ病群と健常群の比較においては、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。一方で 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。また、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た。さらに本研究においては、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。CpG 3 および CpG 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あると考えられた。

以上の結果から、本論文はうつ病の臨床的特徴と関連のある CpG が存在することを明らかにすることを得た。この結果は、今後の臨床精神医学の発展に大いに貢献することが予想される。よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。