

41. Lindblad, K., Nylander, P.O., Zander, C. et al. *Two commonly expanded CAG/CTG repeat loci: Involvement in affective disorders?* Mol Psychiatry 1998, 3: 405-10.
42. Guy, C.A., Bowen, T., Jones, I. et al. *CTG18.1 and ERDA-1 CAG/CTG repeat size in bipolar disorder.* Neurobiol Dis 1999, 6: 302-7.
43. Vincent, J.B., Petronis, A., Strong, E. et al. *Analysis of genome-wide CAG/CTG repeats, and at SEF2-1B and ERDA1 in schizophrenia and bipolar affective disorder.* Mol Psychiatry 1999, 4: 229-34.
44. McInnis, M.G., Swift-Scanlan, T., Mahoney, A.T. et al. *Allelic distribution of CTG18.1 in Caucasian populations: Association studies in bipolar disorder, schizophrenia, and ataxia.* Mol Psychiatry 2000, 5: 439-42.
45. Niculescu, A.B. 3rd, Kelsoe, J.R. *Convergent functional genomics: Application to bipolar disorder.* Ann Med 2001, 33: 263-71.
46. Barrett, T.B., Hauger, R.L., Kennedy, J.L. et al. *Evidence that a single nucleotide polymorphism in the promoter of the G protein receptor kinase 3 gene is associated with bipolar disorder.* Mol Psychiatry 2003, 8: 546-57.
47. Bezchlibnyk, Y.B., Wang, J.F., McQueen, G.M., Young, L.T. *Gene expression differences in bipolar disorder revealed by cDNA array analysis of post-mortem frontal cortex.* J Neurochem 2001, 79: 826-34.
48. Sun, Y., Zhang, L., Johnston, N.L., Torrey, E.F., Yolken, R.H. *Serial analysis of gene expression in the frontal cortex of patients with bipolar disorder.* Br J Psychiatry Suppl 2001, 41: s137-41.
49. Kuromitsu, J., Yokoi, A., Kawai, T. et al. *Reduced neuropeptide Y mRNA levels in the frontal cortex of people with schizophrenia and bipolar disorder.* Gene Expr Patterns 2001, 1: 17-21.
50. Iwamoto, K., Kakiuchi, C., Bundo, M., Ikeda, K., Kato, T. *Molecular characterization of bipolar disorder by comparing gene expression profiles of postmortem brains of major mental disorders.* Mol Psychiatry 2004, 9: 406-16.
51. Iwamoto, K., Bundo, M., Washizuka, S., Kakiuchi, C., Kato, T. *Expression of HSPF1 and LIM in the lymphoblastoid cells derived from patients with bipolar disorder and schizophrenia.* J Hum Genet 2004.
52. Sun, X., Young, L.T., Wang, J.F. et al. *Identification of lithium-regulated genes in cultured lymphoblasts of lithium responsive subjects with bipolar disorder.* Neuropsychopharmacology 2004, 29: 799-804.
53. Kakiuchi, C., Iwamoto, K., Ishiwata, M. et al. *Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder.* Nat Genet 2003, 35: 171-5.
54. Cichon, S., Buervenich, S., Kirov, G. et al. *Lack of support for a genetic association of the XBP1 promoter polymorphism with bipolar disorder in probands of European origin.* Nat Genet 2004, 36: 783-4.
55. Hou, S.J., Yen, F.C., Cheng, C.Y., Tsai, S.J., Hong, C.J. *X-box binding protein 1 (XBP1) C-116G polymorphisms in bipolar disorders and age of onset.* Neurosci Lett 2004, 367: 232-4.
56. Kakiuchi, C., Nanko, S., Kunugi, H., Kato, T. *Reply to "Lack of support for a genetic association of the XBP1 promoter polymorphism with bipolar disorder in probands of European origin".* Nat Genet 2004, 36: 784-5.
57. Kakiuchi, C., Ishiwata, M., Umekage, T. et al. *Association of the XBP1-116C/G polymorphism with schizophrenia in the Japanese population.* Psychiatry Clin Neurosci 2004, 58: 438-40.
58. Chen, W., Duan, S., Zhou, J. et al. *A case-control study provides evidence of association for a functional polymorphism -197C/G in XBP1 to schizophrenia and suggests a sex-dependent effect.* Biochem Biophys Res Commun 2004, 319: 866-70.
59. Konradi, C., Eaton, M., MacDonald, M.L., Walsh, J., Benes, F.M., Heckers, S. *Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder.* Arch Gen Psychiatry 2004, 61: 300-8.
60. Tomita, H., Vawter, M.P., Walsh, D.M. et al. *Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile: Quality control in microarray analyses of postmortem human brain.* Biol Psychiatry 2004, 55: 346-52.
61. Tkachev, D., Mimmack, M.L., Ryan, M.M. et al. *Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder.* Lancet 2003, 362: 798-805.
62. Nakatani, N., Aburatani, H., Nishimura, K., Semba, J., Yoshikawa, T. *Comprehensive expression analysis of a rat depression model.* Pharmacogenomics J 2004, 4: 114-26.
63. Washizuka, S., Kakiuchi, C., Mori, K. et al. *Association of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 at 18p11 with bipolar disorder.* Am J Med Genet 2003, 120B: 72-8.

64. Washizuka, S., Iwamoto, K., Kazuno, A. et al. *Association of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 at 18p11 with bipolar disorder in Japanese and the NIMH pedigrees*. Biol Psychiatry 2004.
65. Karry, R., Klein, E., Ben Shachar, D. *Mitochondrial complex I subunits expression is altered in schizophrenia: A postmortem study*. Biol Psychiatry 2004, 55: 676-84.
66. Berrettini, W. *Evidence for shared susceptibility in bipolar disorder and schizophrenia*. Am J Med Genet 2003, 123C: 59-64.
67. Potash, J.B., Zandi, P.P., Willour, V.L. et al. *Suggestive linkage to chromosomal regions 13q31 and 22q12 in families with psychotic bipolar disorder*. Am J Psychiatry 2003, 160: 680-6.
68. Lewis, C.M., Levinson, D.F., Wise, L.H. et al. *Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia*. Am J Hum Genet 2003, 73: 34-48.
69. Itokawa, M., Yamada, K., Iwayama-Shigeno, Y., Ishitsuka, Y., Detera-Wadleigh, S., Yoshikawa, T. *Genetic analysis of a functional GRIN2A promoter (GT)_n repeat in bipolar disorder pedigrees in humans*. Neurosci Lett 2003, 345: 53-6.
70. Toyota, T., Yamada, K., Detera-Wadleigh, S.D., Yoshikawa, T. *Analysis of a cluster of polymorphisms in AKT1 gene in bipolar pedigrees: A family-based association study*. Neurosci Lett 2003, 339: 5-8.
71. Mundo, E., Tharmalingham, S., Neves-Pereira, M. et al. *Evidence that the N-methyl-D-aspartate subunit 1 receptor gene (GRIN1) confers susceptibility to bipolar disorder*. Mol Psychiatry 2003, 8: 241-5.
72. Du, J., Gray, N.A., Falke, C., Yuan, P., Szabo, S., Manji, H.K. *Structurally dissimilar antimanic agents modulate synaptic plasticity by regulating AMPA glutamate receptor subunit GluR1 synaptic expression*. Ann N Y Acad Sci 2003, 1003: 378-80.
73. Cardno, A.G., Rijdsdijk, F.V., Sham, P.C., Murray, R.M., McGuffin, P. *A twin study of genetic relationships between psychotic symptoms*. Am J Psychiatry 2002, 159: 539-45.
74. Petronis, A. *Epigenetics and bipolar disorder: New opportunities and challenges*. Am J Med Genet 2003, 123C: 65-75.
75. Kato, T., Winokur, G., Coryell, W., Keller, M.B., Endicott, J., Rice, J. *Parent-of-origin effect in transmission of bipolar disorder*. Am J Med Genet 1996, 67: 546-50.
76. Lambert, D., Gill, M. *Evaluation of parent-of-origin effect in bipolar affective disorder relating to susceptibility loci on chromosome 18*. Bipolar Dis 2002, 4 (Suppl. 1): 31-2.
77. Li, L., Keverne, E.B., Aparicio, S.A., Ishino, F., Barton, S.C., Surani, M.A. *Regulation of maternal behavior and offspring growth by paternally expressed Peg3*. Science 1999, 284: 330-3.
78. Abdolmaleky, H.M., Smith, C.L., Faraone, S.V. et al. *Methylomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation*. Am J Med Genet 2004, 127B: 51-9.
79. Suomalainen, A., Majander, A., Wallin, M. et al. *Autosomal dominant progressive external ophthalmoplegia with multiple deletions of mtDNA: clinical, biochemical, and molecular genetic features of the 10q-linked disease*. Neurology 1997, 48: 1244-53.
80. Siciliano, G., Tessa, A., Petrini, S. et al. *Autosomal dominant external ophthalmoplegia and bipolar affective disorder associated with a mutation in the ANT1 gene*. Neuromuscul Disord 2003, 13: 162-5.
81. Mancuso, M., Filosto, M., Bellan, M. et al. *POLG mutations causing ophthalmoplegia, sensorimotor polyneuropathy, ataxia, and deafness*. Neurology 2004, 62: 316-8.
82. Spelbrink, J.N., Li, F.Y., Tiranti, V. et al. *Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria*. Nat Genet 2001, 28: 223-31.
83. Barrientos, A., Volpini, V., Casademont, J. et al. *A nuclear defect in the 4p16 region predisposes to multiple mitochondrial DNA deletions in families with Wolfram syndrome*. J Clin Invest 1996, 97: 1570-6.
84. Swift, R.G., Sadler, D.B., Swift, M. *Psychiatric findings in Wolfram syndrome homozygotes*. Lancet 1990, 336: 667-9.
85. Swift, R.G., Polymeropoulos, M.H., Torres, R., Swift, M. *Predisposition of Wolfram syndrome heterozygotes to psychiatric illness*. Mol Psychiatry 1998, 3: 86-91.
86. Kato, T., Winokur, G., McMahon, F.J., DePaulo, J.R., Crowe, R.R. *Quantitative analysis of leukocyte mitochondrial DNA deletion in affective disorders*. Biol Psychiatry 1997, 42: 311-6.

87. Kato, T., Stine, O.C., McMahon, F.J., Crowe, R.R. *Increased levels of a mitochondrial DNA deletion in the brain of patients with bipolar disorder.* Biol Psychiatry 1997, 42: 871-5.
88. Sakuntabhai, A., Ruiz-Perez, V., Carter, S. et al. *Mutations in ATP2A2, encoding a Ca²⁺ pump, cause Darier disease.* Nat Genet 1999, 21: 271-7.
89. Baron, M. *Manic-depression genes and the new millennium: Poised for discovery.* Mol Psychiatry 2002, 7: 342-58.
90. Millar, J.K., Wilson-Annan, J.C., Anderson, S. et al. *Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia.* Hum Mol Genet 2000, 9: 1415-23.
91. James, R., Adams, R.R., Christie, S., Buchanan, S.R., Porteous, D.J., Millar, J.K. *Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) is a multicompartimentalized protein that predominantly localizes to mitochondria.* Mol Cell Neurosci 2004, 26: 112-22.
92. Baysal, B.E., Willett-Brozick, J.E., Badner, J.A. et al. *A mannosyltransferase gene at 11q23 is disrupted by a translocation breakpoint that co-segregates with bipolar affective disorder in a small family.* Neurogenetics 2002, 4: 43-53.

エピジェネティクス

epigenetics

理化学研究所・脳科学総合研究
センター精神疾患動態研究チーム

加藤忠史 (KATO Tadafumi)
岩本和也 (IWAMOTO Kazuya)

1. 語源

「エピジェネティクス (epigenetics)」は、1942年に Conrad Waddington によりつくられた言葉である。彼は、古代ギリシアの哲学者アリストテレスの言葉、“epigenesis”にもとづき、epigeneticsという用語をつくり、これを「表現型を存在へと導く遺伝子と環境の相互作用 (the interactions of genes with their environment, which bring the phenotype into being)」と定義した^{1)~3)}。アリストテレスは、卵や精子にすでに生体の原型があるという「前成説」と対立する立場として、卵や精子の時点では分化した構造はなく、発生が進むとともにいろいろな器官が形成されて成体となるという、“epigenesis (後成説)”を唱えた。言うまでもなく、その後の発生学研究により、アリストテレスの考えが正しいことが明らかにされたわけである。

このように発生学に近い概念として定義されたエピジェネティクスであったが、その後数十年の間、この言葉はほとんど使われることはなかった。

2. エピジェネティクス研究の隆盛

1980年代後半に、Holliday⁴⁾が、がん化におけるDNAメチル化の重要性を指摘したところから、この言葉は新たな色彩を帯びて用いられるようになり、今日のエピジェネティクス研究の隆盛を導いた⁵⁾。現在最もよく用いられている定義は、「体細胞分裂と減数分裂において伝達される遺伝子機能の多様性のうち、DNA配列の違いによって説明できないものについての研究 (the study of mitotically and/or meiotically heritable changes in gene function that cannot be explained by changes in DNA sequence)」というものである⁶⁾。

同じ個体から樹立した培養細胞は原則として同じDNA配列をもっているはずであるが、各細胞はそれぞれ異なった形態と機能を持ち、分裂してもその特徴は保

たれていく。このように、同じDNAをもちながら、その細胞独自の形態や機能が細胞分裂を経ても保たれているメカニズムと、それを研究する学問を、現在は「エピジェネティクス」とよんでいる。現在、エピジェネティクス研究は、生物学研究のなかでも最もホットな領域の一つとなっている。

DNA配列以外に、細胞分裂時に保存されて、遺伝子の発現に影響を与えることで、細胞の表現型に影響する分子メカニズムとしては、DNAメチル化とヒストン修飾がおもなものである。

3. DNAメチル化

DNAメチル化とは、DNA分子のうち、主としてシトシン塩基とグアニン塩基が連続しているCpG配列 (pは両塩基をつなぐリン酸基を示している)の部分で、シトシン塩基がメチル化修飾を受けることをいう。ヒトやマウスのゲノムでは約70%のCpG配列がメチル化されている。シトシンがメチル化されているかどうかは、DNA複製の際の塩基の対合や、翻訳されるアミノ酸の配列にはまったく影響しない。しかし、シトシンがメチル化されると、DNAと蛋白質との相互作用が変化する。ゲノムのなかで特にCpG配列が集中している場所をCpGアイランドとよび、遺伝子のプロモータ領域に含まれることが多い。通常は、CpGアイランド内のCpG配列がDNAメチル化されていないと、その遺伝子はよく発現し、メチル化されていると発現しない。

いったん固定したDNAメチル化のパターンは、細胞が分裂しても保存される。DNAの合成時には、メチル化シトシンであろうが非メチル化シトシンであろうが、同じようにグアニンと対合する。しかし、メチル化CGと非メチル化DNAが対合した配列 (ヘミメチル化DNA)に作用して、相手鎖のシトシンをメチル化する、維持メチル化を行う酵素がある。DNA合成後に維持メチル化が行われることで、メチル化パターンは細胞分裂

時にも維持される。この維持メチル化を担う酵素は、DNA methyltransferase 1 (DNMT 1) であり、メチル化の基質としては S-adenosyl-methionine が用いられる。

DNA メチル化は、減数分裂から発生の間にいったん解除され、その後の発生の間に再度メチル化される。この過程はリプログラミングとよばれる。この際の *de novo* メチル化は、DNMT 3a, DNMT 3b によって行われる。

4. ヒストン修飾

ヒストンは、DNA とともにクロマチンの立体構造をつくる蛋白質である。ヒストン修飾のうち、アセチル化、メチル化が代表的なもので、ほかにもユビキチン化、スモイル化、リン酸化、シトルリン化など多くの種類の修飾がある。ヒストンには5種類あるが、そのうち、H3およびH4とよばれる2種のヒストンが最もよく研究されている。ヒストンのアセチル化は転写活性化に関連し、メチル化は活性化にも抑制にも関係する。たとえばヒストンH3の9番目のアミノ酸であるリジン(記号Kで示される)のアセチル化はよく研究されており、これを「H3-K9のアセチル化」と略す。ほかにH3-K14のアセチル化、H3-K4のメチル化など、多数の修飾部位について詳細な研究が行われている。一方、ヒストンの修飾が細胞分裂時に保存されるメカニズムについては、十分わかっていない。

5. その他のエピジェネティック制御

DNA メチル化とヒストン修飾は互いに関連していると考えられている。また、酵母でRNAi (RNA 干渉) がヒストン修飾を誘導したり、植物でRNAi がDNA メチル化を起こしたり、哺乳類でRNAi とRNA 編集が相互作用することが報告されたりと、エピジェネティックな制御の分子メカニズムは、更なる広がりを見せている。

6. さまざまなエピジェネティックな現象

代表的なエピジェネティックな現象としては、X染色体の不活化、ゲノムインプリンティング、レトロトラ

ンスポゾンのメチル化とその次世代への伝播、クローン動物、エピジェネティック記憶などがよく研究されている。

X染色体の不活化は、女性もつ2本のX染色体のうち、男性と遺伝子発現量が等しくなるように、1本がDNA メチル化により不活化されている現象のことで、*Xist* 遺伝子が関与している。

ゲノムインプリンティングとは、父由来、母由来の2コピーの遺伝子のうち、どちらのみが発現する現象のことで、これまでに70以上の遺伝子がインプリンティングを受けることが知られている。インプリンティングを受ける遺伝子は染色体上に並んで存在していることが多く、ヒトでは11p15.5 [IGF2 (insulin-like growth factor II) など] や15q11-q13 (Prader-Willi 症候群および Angelman 症候群の原因部位) がよく知られている。

Agouti というマウスでは、*Agouti* 遺伝子の制御領域内のレトロトランスポゾンのDNA メチル化状態がマウスの体毛の色を決定している。この部分のメチル化状態は、親のメチル化状態を受け継いでおり、これはDNA メチル化状態が次世代に伝播する場合があることを示している。DNA メチル化状態は、食事からのメチル基供与体摂取量に影響される場合があることから、これは進化論上大きな議論となっていた「獲得形質の遺伝」の分子基盤ともなりうる現象である。

体細胞クローン動物は、体重増加、免疫機能低下などの表現型異常を示すが、これはクローン動物が、ドナー体細胞のメチル化状態を一部受け継いでいるためと考えられる。

DNA メチル化については、発達期の遺伝環境相互作用により決定したDNA メチル化状態が長期に固定され、終生にわたり遺伝子発現を変化させるという説がある。最近、Weaver⁷⁾は、グルココルチコイド受容体遺伝子の上流配列のメチル化が親の養育により変化することを見出し、このエピジェネティック記憶説のはじめの実例として期待されている。

がん抑制遺伝子の過剰なメチル化、発がん遺伝子の脱メチル化などが発がんに関与すると考えられており、これは細胞分裂時にDNA メチル化の維持に失敗し、エピジェネティックな変異 (epimutation) が生じたことが

原因と考えられる。

インプリンティング遺伝子の DNA メチル化状態の違いが、一卵性双生児における Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) の不一致の原因となる場合が知られている。最近、体外受精が BWS の危険因子となることが報告され、生殖補助医療が DNA メチル化異常の危険因子になる可能性が懸念されている。

文 献

- 1) Waddington C : The epigenotype. *Endeavour* **1** : 18-20, 1942
- 2) Jablonka E, Lamb MJ : The changing concept of epigenetics. *Ann NY Acad Sci* **981** : 82-96, 2002
- 3) Murrell A, Rakyan VK, Beck S : From genome to epigenome. *Hum Mol Genet.* Apr 15 ; 14 Spec No 1 : R 3-R 10, 2005
- 4) Holliday R : DNA methylation and epigenetic defects in carcinogenesis. *Mutat Res* **181** : 215-217, 1987
- 5) 佐々木裕之編 : エピジェネティクス. シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京, 2004
- 6) Russo VEA, Martienssen RA, Riggs AD : *Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 1996
- 7) Weaver IC, Szyf M, Meaney MJ : From maternal care to gene expression : DNA methylation and the maternal programming of stress responses. *Endocr Res* **28** : 699, 2002

躁うつ病（双極性障害）における小胞体ストレスの意義

加藤忠史, 垣内千尋, 林 朗子, 笠原和起

われわれは、一卵性双生児不一致例の遺伝子発現解析から、双極性障害（躁うつ病）に小胞体ストレス系が関与していることを示した。小胞体ストレス応答を低下させる XBP1 遺伝子の-116 多型については、当初双極性障害との関連を報告したが、欧米人における追試で否定された。一方、リチウム反応性との関係、統合失調症との関連について、一致した結果が報告された。われわれは XBP1 が神経細胞内で樹状突起・軸索から細胞体に神経可塑的变化を伝える転写因子として機能しているのではないかと仮説を立て、検討を進めている。

キーワード ● XBP1, 双極性障害（躁うつ病）, リチウム, 統合失調症

はじめに

躁うつ病（双極性障害）は躁状態、うつ状態を反復し、人口のおよそ0.8%が罹患する精神疾患である。遺伝的素因が関与すること、血液細胞で細胞内カルシウム濃度変化がみられること、磁気共鳴画像で皮質下に高信号領域が多くみられることなどが確立した所見であるが、その病因には未だ不明な点が多い。経過とともに次第に病相間隔が短縮するという特徴から、神経可塑性の異常ではないかと考えられている。双極性障害の予防に有効な薬剤である気分安定薬（リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン）の作用機序として、イノシトール系、GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 β)、ヒストン脱アセチル化阻害、小胞体ストレス系、ミトコンドリア、グルタミン酸系など、多くの系の関与が示唆されているが、どれが重要なかは未だに明らかではない¹⁾。

われわれは、双極性障害の分子基盤を探るため、一卵性双生児双極性障害不一致例 2 組の培養リンパ芽球を用いて、DNA マイクロアレイにより遺伝子発現解

析を行った²⁾。その結果、どちらのペアでも患者において XBP1 と HSPA5 (GRP78) という 2 種類の小胞体ストレス関連遺伝子の発現量が低下していた。バルプロ酸が GRP78 を増加させることと合わせて³⁾、小胞体ストレス応答系が双極性障害に関連する可能性が示唆された。

1 XBP1-116 多型による小胞体ストレス応答の低下

双極性障害患者由来培養リンパ芽球で小胞体ストレス応答を調べたところ、サブシガルジンに対する XBP1 と GRP78 の発現誘導が減弱していた。XBP1 遺伝子上流の、XBP1 結合部位と予測される配列内に一塩基多型 (-116C/G と命名。その後、別の転写開始点が報告されたため、-197C/G としている論文もある) が存在し、この多型により XBP1 依存性のプロモーター活性が変化し、サブシガルジン刺激による XBP1 および GRP78 の反応が低下することがわかった。-116G による小胞体ストレス応答の低下は、バルプロ酸で改善

Role of ER stress in bipolar disorder

Tadafumi Kato/Chihiro Kakiuchi/Akiko Hayashi/Takaoki Kasahara : Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, Brain Science Institute, RIKEN (理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム)

し、この改善はATF6を増加させる作用によるものであった。われわれはこの多型が双極性障害の遺伝的危険因子の候補となりうると考え、関連研究を行ったところ、この多型は日本人（患者197名、対照群451名）、米国人〔NIMH（米国精神保健研究所）の88家系〕の両方で双極性障害と関連していた（表）²⁾。

2 XBP1-116多型と双極性障害の関連に関する追試

Cichonらは、XBP1-116多型と双極性障害の関連について、米国とヨーロッパの多数のサンプルを用いた追試の結果を報告した⁴⁾。彼らは、われわれが調べたNIMHの88家系のトリオサンプル（両親と発端者）に、まだ一般公開されていなかったためわれわれが入手できなかったサンプルも加え、計323家系における解析を行った。われわれが調べたサンプルの遺伝子型の結果はすべて一致していたが、新たなサンプルを加えた結果、有意な関連は消失した。したがって、われわれのNIMHサンプルにおける所見は、Type I error*と考えられた⁵⁾。彼らはさらに、ブルガリアの173トリオ、イギリスの90トリオ、およびヨーロッパ人の症例対照研究（患者1,181名、対照群1,717名）のいずれにおいても、有意な関連はみられなかったと報告している。この追試は、双極性障害の遺伝子研究としては過去最大のサンプル数を用いたものであり、米国人およびヨーロッパ人においてXBP1の-116多型は双極性障害の危険因子とはならないと結論してよいと思われる。

ただし、XBP1-116多型は、白人ではG型の頻度が約30%であるのに対し、日本人ではG型の頻度が約70%と、アリル頻度が逆転している。このような白人と日本人の間の遺伝子頻度の大きな差は、セロトニントランスポーターやBDNF（脳由来神経栄養因子）の遺伝子でもみられ、いずれも海外で報告された関連が日本人では否定されていることから⁶⁾、日本人においてXBP1-116多型が双極性障害と関連しているかどうかについては、やはり検討が必要である。われわれよ

りも少数のサンプルではあるが、患者153名、対照群174名の台湾サンプルにおける検討でも否定的な結果が報告されており⁷⁾、双極性障害全体の発症におけるXBP1-116多型の関与は、あったとしても大きなものではないと考えられる。

3 双極性障害における治療反応とXBP1-116多型の関連

一方、XBP1-116G多型による小胞体ストレス応答低下がバルプロ酸により改善し、リチウムでは改善しなかったという*in vitro*の結果から、この多型と治療反応についての関連が調べられ、-116G型がリチウムに反応しないことと関連していると報告されている⁸⁾。この結果はわれわれの報告⁹⁾と同じ方向を示し、リンバ芽球を用いた*in vitro*での実験結果の方向性とも矛盾しない。リチウムに反応する患者としない患者では多くの生物学的所見に差異が報告されており¹⁰⁾、小胞体ストレスは、リチウム非反応性の双極性障害の病態に関与する可能性も考えられる。

4 統合失調症との関連

統合失調症は、幻覚・妄想などの精神病症状と、慢性再発性の経過を特徴とする精神疾患であり、その病態にはグルタミン酸神経伝達異常、神経発達障害などが関与すると考えられている。統合失調症と双極性障害は、症状、経過に共通点があり、脳画像研究でも、脳室拡大、海馬の体積減少など、共通の所見が多く報告されている。両疾患は遺伝子連鎖解析においても、8p22, 10p14, 13q33, 18p11, 22q11といった多数の連鎖部位を共有しており、特に13q33に存在するG72（D-amino acid oxidase activator）が両者に関連することが注目を浴びている¹¹⁾。XBP1が双極性障害と統合失調症の共通の連鎖部位である22qに存在していることから、統合失調症と関連するかどうかに興味もたれ、患者374名、対照群371名で検討された結果、この多型が統合失調症と関連していることが報告され

*：最初のサンプルで有意差がみられたが、これが全体の結果を代表していなかったとみなされる場合。

表 XBP1-116多型と精神疾患に関する関連研究

疾患など	人種	サンプル数	関連	文献
双極性障害	日本人	患者197名, 対照群451名	有	2
	米国人	88家系	有	2
	米国人+ヨーロッパ人	323家系 (上の88家系を含む)	無	4
	ヨーロッパ人	患者1,181名, 対照群1,717名	無	4
	台湾人	患者153名, 対照群174名	無	7
双極性障害における	日本人	患者66名	有	8
リチウム反応	日本人	患者56名	有	9
統合失調症	中国人	患者374名, 対照群371名	有	12
	日本人	患者234名, 対照群451名	有	13
性格傾向	日本人	健常者195名	有	14
薬物依存	日本人	患者153名, 対照群200名	無	15

た¹²⁾。われわれの患者234名における検討でも、同じ方向の所見が得られた¹³⁾。

その他、-116多型については、健常者において性格と関連すること¹⁴⁾、薬物依存とは関連しないこと¹⁵⁾などが報告されている。

6 双極性障害と小胞体ストレスの関連

双極性障害における小胞体ストレス応答低下には、XBP1遺伝子のほかの多型やほかの小胞体ストレス応答関連遺伝子が関与している可能性もあり、これらの点についてもさらなる検討が必要であろう。少なくとも日本人ではGRP78遺伝子のハプロタイプも双極性障害と関連していた⁵⁾ことから、小胞体ストレス応答の個体差は複数の機能的多型の相互作用により規定されていると思われる。

双極性障害における小胞体ストレスの関与を示唆する所見としてはその他、躁状態、うつ状態を惹起するマラリア治療薬メフロキンが、脳内で小胞体ストレスを惹起すること¹⁶⁾、高頻度に双極性障害を合併する遺伝性疾患 Wolfram 病の原因遺伝子 WFS1 が小胞体ストレスにより誘導されること¹⁷⁾、精神刺激剤メタンフェタミンが脳内でGRP78発現を誘導すること¹⁸⁾、うつ病の動物モデル2種類で、共通に遺伝子発現が低下している遺伝子を探索したところ、XBP1が見出されたこと¹⁹⁾などが報告されている。

6 XBP1の脳内機能

しかしながら、小胞体ストレス応答が双極性障害と関係しているとしても、そのメカニズムは不明である。これまで、神経疾患における小胞体ストレス研究は主として、フォールディング異常をきたしたタンパク質が蓄積し、細胞死を起こすという方向で進められてきた(高橋らの稿、参照)。双極性障害でも、気分安定薬が共通して神経保護的な作用をもつことから、細胞の生存能の異常がその病態に関与するとの説もある¹⁾。しかしながら、双極性障害は躁状態、うつ状態という可逆性の症状を呈する疾患であるため、神経変性では説明しがたい。

1つの可能性は、Ca²⁺シグナリングへの関与である。GRP78はCa²⁺結合作用をもち、小胞体のCa²⁺シグナリングに影響することから、小胞体ストレス応答障害がCa²⁺シグナリング異常を招く可能性もある。しかしながら、XBP1-116多型は血小板細胞内Ca²⁺反応とは関連がなかった²⁰⁾。もう1つは、神経伝達に必要なタンパク質の成熟や輸送に小胞体シャペロンが必要である可能性であり、セロトニントランスポーターの機能発現にGRP78などの小胞体シャペロンが関与することが報告されている²¹⁾。また、XBP1がスプライスされなくなる線虫の変異体でAMPA型グルタミン酸受容体のトラフィック異常を引き起こすことが報告されている²²⁾。

■ おわりに

現在われわれは、XBP1が神経可塑性に關与する転写因子ではないかという仮説を立てて研究を進めている。小胞体ストレスへの關与が森らによって発見されるまで²³⁾、XBP1は発生・分化にかかわる転写因子として、リンパ球の分化、肝臓の形成などへの關与が知られていた。特にBリンパ球では、抗体産生増加に伴い、抗体産生細胞に分化させる役割をもつ(吉田の稿、参照)。神経細胞でも、タンパク質フォールディングの需要増加に応じて神経細胞の機能を変化させる役割を果たしている可能性が考えられる。XBP1は、小胞体膜上という核外で成熟mRNAがつくられうる唯一のmRNAであり、神経細胞のように、樹状突起や軸索という核から遠く離れた構造をもつ細胞でこそ、その特性が発揮されるかもしれない。われわれは現在、XBP1が樹状突起や軸索における神経可塑的变化を核に伝える転写因子として機能しているのではないかという仮説を立て、これを検証すべく研究を進めており、この仮説を支持する所見が得られつつある。

文献

- 1) 加藤忠史：臨床精神薬理，8：289-296, 2005
- 2) Kakiuchi, C. et al. : Nature Genet., 35 : 171-175, 2003
- 3) Bown, C. D. et al. : Bipolar Disord., 4 : 145-151, 2002
- 4) Cichon, S. et al. : Nature Genet., 36 : 783-784, 2004
- 5) Kakiuchi, C. et al. : Nature Genet., 36 : 784-785, 2004
- 6) 加藤忠史：神経研究の進歩，48 : 789-797, 2004
- 7) Hou, S. J. et al. : Neurosci. Lett., 367 : 232-234, 2004
- 8) Masui, T. et al. : Int. J. Neuropsychopharmacol., Jun 1 : 1-6, 2005

- 9) Kakiuchi, C. & Kato, T. : Int. J. Neuropsychopharmacol., Apr 19 : 1-2, 2005
- 10) Ikeda, A. & Kato, T. : Psychiatry Clin. Neurosci., 57 : 243-250, 2003
- 11) DePaulo, J. R. Jr. : Am. J. Psychiatry, 161 : 595-597, 2004
- 12) Chen, W. et al. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 319 : 866-870, 2004
- 13) Kakiuchi, C. et al. : Psychiatry Clin. Neurosci., 58 : 438-440, 2004
- 14) Kato, C. et al. : Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet., 136 : 103-105, 2005
- 15) Morita, Y. et al. : Neurosci. Lett., 383 : 194-198, 2005
- 16) Dow, G. S. et al. : Malar. J., 2 : 14, 2003
- 17) Yamaguchi, S. et al. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 325 : 250-256, 2004
- 18) Jayanthi, S. et al. : FASEB. J., 18 : 238-251, 2004
- 19) Wang, G. et al. : Int. J. Neuropsychopharmacol., 7 (suppl 1) : S356, 2004
- 20) Kusumi, I. et al. : Neurosci. Lett., 369 : 1-3, 2004
- 21) Tate, C. G. et al. : J. Biol. Chem., 274 : 17551-17558, 1999
- 22) Shim, J. et al. : Mol. Biol. Cell, 15 : 4818-4828, 2004
- 23) Yoshida, H. et al. : Cell, 107 : 881-891, 2001

参考図書

『双極性障害—躁うつ病の分子病理と治療戦略』(加藤忠史/著), 医学書院, 1999

Profile

筆頭著者プロフィール

加藤忠史：1988年東京大学医学部卒。医学博士。滋賀医科大学精神科助手、東大精神神経科講師などを経て、2001年より理研脳センター精神疾患動態研究チーム・チームリーダー。'04年より同センター老化・精神疾患研究グループ・グループディレクターを兼任。チームの主たる目標は、ミトコンドリア機能障害、小胞体ストレス、およびエピジェネティクスの研究を通して、双極性障害の原因を解明することである。

売れ行き絶好調!!

好感をもってアクセプトされるために...

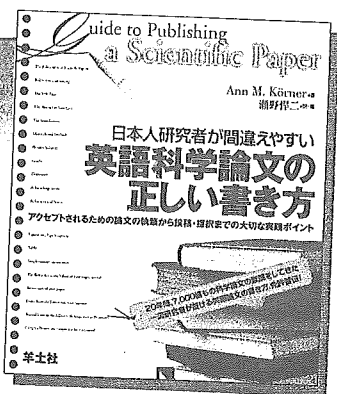
日本人研究者が間違えやすい
英語科学論文の正しい書き方

著/Ann M. Körner
訳・編/瀬野悍二

アクセプトされるための論文の執筆から投稿・採択までの大切な実践ポイント

■ B5変型判 ■ 2色刷 ■ 150頁
■ 定価2,730円(本体2,600円+税5%)
■ ISBN4-89706-486-4

新刊



発行 羊土社

精神疾患とエピジェネティクス

Mental disorders and epigenetics



加藤忠史(写真) 岩本和也

Tadafumi Kato and Kazuya Iwamoto

理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム

◎精神疾患の病因としてエピジェネティクスの関与が示唆されている。統合失調症患者の死後脳ではオリゴデンドロサイト関連遺伝子群の発現が広範に低下しており、オリゴデンドロサイト特異的転写因子 SOX10 の DNA メチル化がこれと関連していた。また、reelin 遺伝子の DNA メチル化亢進が患者での GABA 作動性ニューロンの機能障害と関連しているという報告もある。また、一卵性双生児不一致例における DNA メチル化差異を探索する研究が行われており、興味深い結果が得られつつある。

Key word : 統合失調症, 双極性障害, reelin, Sox10, オリゴデンドロサイト

統合失調症や躁うつ病など、多くの精神疾患で、遺伝要因の関与が明らかにされている。しかし、遺伝要因の関与は3~7割ほどであり、発症には遺伝要因と環境要因の複雑な相互作用が背景にあると考えられている。精神疾患におけるエピジェネティクス研究は、遺伝環境相互作用の結果として細胞・組織レベルに刻印された持続的な変化を検出する試みといえる。精神疾患におけるエピジェネティクスの意義についてはすでに多くの総説があるが¹⁻³⁾、本格的な研究ははじまったばかりである。

エピジェネティック記憶

DNA メチル化は発生過程で大きく変化するが、成熟後は細胞ごとにある程度一定と考えられている。発生前後に、DNA メチル化がいったん解除され、発達の中にリプログラミングされ、しだいに固定化していくことを考えると、DNA メチル化にもある種の“臨界期(「サイドメモ」参照)”があり、そのために遺伝環境相互作用が DNA メチル化状態の変化として記憶されている可能性が考えられ

る。こうした説は以前から存在しており、わずかながら分子レベルでの研究も行われている。たとえば、胎児期の低栄養が成人後に耐糖能異常、糖尿病、高血圧などの原因となるという、胎児プログラミングとよばれる現象の分子基盤として DNA メチル化の関与が疑われ⁴⁾、グルコキナーゼ遺伝子の DNA メチル化が調べられた。しかし、この場合は胎児期の栄養状態により DNA メチル化状態の変化は認められなかった。

最近になって母性行動の発達における遺伝環境

サイド
メモ

臨界期

脳では発達の中に環境の影響を受ける時期が決まっており、これを“臨界期(または感受性期)”とよぶ。たとえば、一次視覚野は出生後に物を見ることで発達するため、出生後数年間の間に白内障などのために物を見ることができないと、その後視力を得ることができても物を見ることはできない。この場合、出生後数年が“臨界期”である。DNA メチル化に関して臨界期が存在するかどうかは明らかではない。

相互作用に、エピジェネティックプログラミング機構が関与していることが明らかにされた⁵⁾。Meaney らのグループは、高養育ラットから生まれた仔ラットと、低養育ラットから生まれた仔ラットでは成熟後の母性行動やストレスに対する脆弱性が異なることを示し、その分子メカニズムに関して長く研究を行ってきた。しかし、なぜ、出生直後に受けた養育の影響が成熟後にまで残るのが謎であった。彼らは、出生後の環境を脳が何らかの形で記憶しているのではないかと考え、DNAメチル化に着目した。

出生直後に十分な母性行動を受けた仔ラットではセロトニンが放出され、セロトニン7受容体を介して転写因子 NGFI-A が誘導され、これが海馬グルココルチコイド受容体(GR)上流配列に作用する。母性行動を受けた仔ラットは GR 上流配列に NGFI-A が結合しているため、DNAメチル化を免れ、GRの発現量が保たれる。一方、十分な母性行動を受けなかったラットでは生涯にわたり海馬 GR 上流配列が DNAメチル化され、GR発現量が低下し、これが仔ラットの行動に長期的な影響を与えると考えられた⁵⁾。

この結果は幼少期の遺伝環境相互作用が DNAメチル化という形で記憶されていることを示すはじめての例であるが、検証とともにさらなる研究が必要であろう。

統合失調症における死後脳研究

1. SOX10

DNAマイクロアレイを用いた統合失調症患者の死後脳における解析では、オリゴデンドロサイト関連遺伝子群の発現低下という一致した所見が得られている⁶⁻⁹⁾。著者らは、患者死後脳で発現が低下していた遺伝子群のなかから、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現を制御する転写因子、SOX10(sex determining region Y-box containing gene 10)に着目した。まず、患者で SOX10 の DNA配列を調べ変異検索を行ったが、特徴的な変異は見出されなかった。つぎに、死後脳サンプルから抽出した DNA を用い、SOX10 の CpG アイランドの DNAメチル化状態を調べたところ、SOX10 のメチル化の程度は、SOX10 およびその他のオリゴ

デンドロサイト遺伝子の発現量と有意な逆相関がみられた¹⁰⁾。一方、他のオリゴデンドロサイト遺伝子(OLIG2, MOBP)の DNAメチル化状態では、このような関連は認められなかった。

SOX10 を発現していない細胞株では CpG アイランドが完全にメチル化されていたが、SOX10 を発現しているメラノーマ細胞株(A2058)ではメチル化されていないアレルが認められた。このことから、この領域のメチル化は SOX10 の遺伝子発現のコントロールに重要であると考えられた。また、健常人群での SOX10 のメチル化の程度はオリゴデンドロサイトが多い白質部で、灰白質部と比べて低かったことから、オリゴデンドロサイトではメチル化の程度が低いと考えられた¹⁰⁾。

今回の結果から統合失調症患者の死後脳で発現が低下していたオリゴデンドロサイトの遺伝子群は転写因子 SOX10 により制御されており、SOX10 の発現量は SOX10 の DNAメチル化で制御されている可能性が考えられた。これが統合失調症という病態によるものか、一般にみられる遺伝子発現制御機構なのかは今後さらなる検討が必要である。また、この所見がそれぞれのオリゴデンドロサイトにおけるメチル化異常を示すのか、オリゴデンドロサイトの数が全体に減っていることを反映しているのかは不明であり、細胞数の減少を反映しているとする今回の所見はそのメカニズムの手がかりとなるかもしれない。

2. reelin

reelin は neuronal migration に関与する分泌性の蛋白質をコードしている遺伝子であり、統合失調症・双極性障害患者死後脳において発現量の低下が比較的一致して報告されている。Costa らのグループは reelin 遺伝子を中心に、統合失調症におけるエピジェネティクスの意義について検討してきた¹¹⁾。L-methionine は DNAメチル化反応におけるメチル基供与体である S-adenosyl-methionine (SAM)の前駆体であり、統合失調症患者への投与は症状を増悪させることが知られていた。L-methionine 投与マウスでは、reelin 遺伝子の発現量低下とプロモーター領域のメチル化亢進がみられた。また、*in vitro* の実験では reelin 遺伝子の発現はプロモーター領域の DNAメチル化の影響を

受けることを示した。L-methionine 投与マウスが統合失調症に類似した行動異常を示すことと合わせて、彼らは reelin 遺伝子の異常なメチル化が統合失調症の原因と考察している¹¹⁾。

彼らはさらに、マウスの初代培養神経細胞を用いて、L-methionine 投与が reelin 遺伝子プロモーター領域のメチル化と発現低下を招くが、Dnmt-1 の発現をアンチセンスオリゴヌクレオチドの投与により抑制すると、この作用が阻害されることを示し、reelin 発現低下は Dnmt-1 を介していることを示した⁷⁾。また、統合失調症患者死後脳を用いた *in situ* hybridization による実験で、大脳新皮質第 I, II, IV 層で reelin 陽性細胞が少なく、Dnmt-1 陽性細胞が多いこと、reelin と Dnmt-1 がいずれも GABA 作動性介在ニューロンで発現していることを示し、統合失調症における GABA 作動性ニューロンのエピジェネティック異常仮説を提唱している¹¹⁾。最近では統合失調症患者の死後脳で実際に、reelin プロモーターの-134~-139 部位というプロモーター活性に重要な部位の DNA メチル化が亢進していたと報告している¹²⁾。

Numachi らは、metamphetamine 投与ラットの海馬では Dnmt-1 の発現が低下する一方、reelin 遺伝子の発現変化は認められないと報告しており¹³⁾、Dnmt-1 と reelin 遺伝子の DNA メチル化の関係は単純ではないと思われる。

Abdolmaleky ら¹⁴⁾も統合失調症患者死後脳由来ゲノム DNA において reelin 遺伝子の hypermethylation の傾向を認めており、同方向の結果を示している。

しかし、これらの所見が reelin に特異的かどうかは統合失調症患者の死後脳における DNA メチル化変化をより網羅的・包括的に解析しなければ結論できないと思われる。

末梢血液

DNA メチル化の組織特異性を考えると、脳における研究に比べると、末梢血液での研究で得られる所見の意義は限られるが、すくなくともゲノムインプリンティングの異常などについては末梢血液由来サンプルでもみられる可能性がある。

Murphy ら¹⁵⁾は、多数の脳領域で、ドパミンの代

謝酵素である COMT (catechol-O-methyltransferase) 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化状態を調べた。多くの CpG 部位は完全にメチル化されていたが、メチル化されていないアシルを含む CpG 部位を見出し、これに着目して末梢血 DNA で調べたところ、この部位が完全にメチル化されている統合失調症患者 1 名を見出した。しかし、その意義は評価困難である。

一卵性双生児不一致例における研究

DNA 配列がほぼ 100% 同じと考えられる一卵性双生児における表現型の差異は、エピジェネティックな要因によると考えられる。しかし、一卵性双生児研究で実際に研究に使用できるのは血液由来サンプルに限定され、上述のように、脳における変化を反映するかどうかという問題が残る。また、結果がどの程度一般化できるかという点も検討が必要となる。

一卵性双生児で一方のみが精神疾患に罹患した不一致例における先駆的な研究は Tsujita ら¹⁶⁾によるものである。彼らは RLGS (restriction landmark genomic scanning) 法を用いて統合失調症一卵性双生児不一致例の間に、メチル化感受性制限酵素によるゲノム DNA 切断パターンに差異がみられることを報告した。差異の原因となる遺伝子は同定されていない。

Deb-Rinker ら¹⁷⁾は、RDA (representational differential analysis) 法により、罹患した双生児でのみ DNA メチル化が喪失しているレトロウイルス様配列 (schizophrenia-related retrovirus) を検出した。また、McDonald ら¹⁸⁾はメチル化感受性制限酵素を用いたゲノム RDA 法を用い、統合失調症不一致例で差異を検索した。しかし、唯一みられた差異は細菌のコンタミネーションによるものであり、彼らの報告では双生児間で DNA 配列にもメチル化にも差異はみられなかった。

Petronins らは統合失調症不一致例では一致例に比べ、ドパミン D2 受容体のプロモーター領域の“エピジェネティック距離”(DNA メチル化部位の差異)が大きいと報告している¹⁹⁾。しかし、D2 受容体が発現していない組織での微妙な DNA メチル化状態の差がいかなる意味をもつかについて

は不明である。

著者らは双極性障害不一致例の培養リンパ芽球でDNAマイクロアレイ解析を行い、不一致例で発現変動を示す遺伝子として、XBP1, HSPA5などを同定した²⁰⁾。XBP1をはじめ主要な遺伝子のCpG islandのDNAメチル化状態を調べたが、不一致例間で差はみられなかった(岩本ら, 未発表データ)。現在, 不一致例間でDNAメチル化に差を示す遺伝子の網羅的解析を行い, いくつかの候補遺伝子と同定し, 解析を進めているところである。

文献

- 1) Petronis, A. et al. : Schizophrenia : an epigenetic puzzle? *Schizophr Bull*, **25**(4) : 639-655, 1999.
- 2) Abdolmaleky, H. M. et al. : Methylomics in psychiatry : Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **127**(1) : 51-59, 2004.
- 3) Kato, T. et al. : Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Mol. Psychiatry*, **10**(7) : 622-630, 2005.
- 4) Bogdarina, I. et al. : Investigation of the role of epigenetic modification of the rat glucokinase gene in fetal programming. *Life Sci.*, **74**(11) : 1407-1415, 2004.
- 5) Weaver, I. C. et al. : Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.*, **7**(8) : 847-854, 2004.
- 6) Hakak, Y. et al. : Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**(8) : 4746-4751, 2001.
- 7) Tkachev, D. et al. : Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet*, **362**(9386) : 798-805, 2003.
- 8) Iwamoto, K. et al. : Molecular characterization of bipolar disorder by comparing gene expression profiles of postmortem brains of major mental disorders. *Mol. Psychiatry*, **9**(4) : 406-416, 2004.
- 9) Iwamoto, K. et al. : Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum. Mol. Genet.*, **14**(2) : 241-253, 2005.
- 10) Iwamoto, K. et al. : DNA methylation status of SOX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J. Neurosci.*, **25**(22) : 5376-5381, 2005.
- 11) Costa, E. et al. : GABAergic cortical neuron chromatin as a putative target to treat schizophrenia vulnerability. *Crit. Rev. Neurobiol.*, **15**(2) : 121-142, 2003. (review)
- 12) Grayson, D. R. et al. : Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, Jun 16. (Epub ahead of print)
- 13) Numachi, Y. et al. : Psychostimulant alters expression of DNA methyltransferase mRNA in the rat brain. *Ann. NY Acad. Sci. USA*, **1025** : 102-109, 2004.
- 14) Abdolmaleky, H. M. et al. : Hypermethylation of the reelin(RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients : a preliminary report. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **134**(1) : 60-66, 2005.
- 15) Murphy, B. C. et al. : Site-specific cytosine methylation in S-COMT promoter in 31 brain regions with implications for studies involving schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.*, **133**(1) : 37-42, 2005.
- 16) Tsujita, T. et al. : Genomic discordance between monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, **155**(3) : 422-424, 1998.
- 17) Deb-Rinker, P. et al. : Molecular characterization of a 2.7-kb, 12q13-specific, retroviral-related sequence isolated by RDA from monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Genome*, **45**(2) : 381-390, 2002.
- 18) McDonald, P. et al. : Appraisal of genetic and epigenetic congruity of a monozygotic twin pair discordant for schizophrenia. *J. Med. Genet.*, **40** : E16, 2003.
- 19) Petronis, A. et al. : Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences : clues to twin discordance? *Schizophr. Bull.*, **29** : 169-178, 2003.
- 20) Kakiuchi, C. et al. : Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat. Genet.*, **35**(2) : 171-175, 2003.

* * *

特集：精神疾患におけるエピジェネティクス

81-86

精神疾患とエピジェネティクス—統合失調症と双極性障害における DNA メチル化研究に関する最近の話題

岩本 和也*, 加藤 忠史*

Key words : epigenetics, reelin, DNA methylation, postmortem, twin, bipolar disorder, schizophrenia

1. Questions of nature vs nurture are meaningless, and we must turn to epigenetics

統合失調症や双極性障害の発症には遺伝と環境双方の要因が複雑に関与しているという見解が一般的である。よく知られているように、一卵性双生児の発症一致率は統合失調症で50%程度¹³⁾、双極性障害で70%程度¹⁴⁾と、遺伝的負因の影響を示す一方、完全に一致しないことから環境因の関与もまた示唆されているのである。しかしながら、実際の研究現場では発症要因の探索として nature (遺伝的解析が中心)あるいは nurture (疫学的解析が中心)と分離している傾向があり、それぞれ方法論が確立している。もちろん、遺伝子型毎に環境要因の影響を調べるという手法もあるが³⁾、遺伝—環境相互作用の分子メカニズムに迫ることは容易ではない。冒頭の引用は Gottesman らの文献¹²⁾によるが、彼らは遺伝—環境相互作用の結果は細胞・組織レベルでの持続的な変化 (adaptation) として顕れ

るはずであり、epigenetics という視点が理解の手助けになるであろう、と提案している。epigenetics は、「DNA 配列の変化を伴わずに子孫や娘細胞に伝達する遺伝子機能の変化に関する学問」と解釈されているが⁴⁶⁾、実際、単なる遺伝子発現制御の研究という枠組みを超えて、遺伝—環境相互作用の痕跡を研究する新しい領域になりつつある。

本稿では、「持続的な変化」を最も説明しやすい DNA シトシン残基のメチル化に関連する研究を比較的最近の話題を中心に紹介したい。epigenetics と精神疾患については、Petronis や Abdolmaleky らによって優れた総説^{229,311)}が書かれており詳しくはそちらも参照されたい。

2. 患者由来試料における研究

1. 一卵性双生児由来試料を用いた研究

Tsujita らは、統合失調症一卵性双生児不一致例由来ゲノム DNA を用い、RLGS (restriction

Mental disorders and epigenetics

* 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム [〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1] Kazuya Iwamoto, Tadafumi Kato : Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, Brain Science Institute, RIKEN. 2-1 Hirosawa Wako-city, Saitama 351-0198, Japan

【岩本和也 E-mail : kazuwamoto@brain.riken.jp】

landmark genomic scanning) 法¹⁶⁾により2箇所以上のメチル化感受性制限酵素による切断パターンの差異を報告した³⁹⁾。また、Deb-RinkerらはRDA (representational differential analysis) 法⁴⁰⁾により罹患した双生児でのみDNAメチル化が喪失しているレトロウイルス様配列 (schizophrenia-related retrovirus) を検出しており⁹¹⁰⁾、これらの詳しい同定と解析が待たれる。一方 McDonaldらは、RDA法を用い統合失調症不一致例で差異を検索したが、genetic および epigenetic な差異はなかったと報告している²²⁾。Petroninsらは、ドーパミンD2受容体のプロモーター領域のDNAメチル化状態を調べ、統合失調症一致例と比べて不一致例の方がDNAメチル化の差異 (“epigenetic distance” と呼ばれるDNAメチル化程度の違い) が大きいことを報告している³²⁾。我々は、双極性障害不一致例由来サンプルを用い網羅的遺伝子発現解析を行い、不一致例でのみ発現変動を示す遺伝子を同定した。XBP-1を始め主要な遺伝子のCpG islandのDNAメチル化状態を調べたが、不一致例間で差は認めていない¹⁸⁾。その後の解析により、不一致例間でDNAメチル化に差を示す遺伝子を数個同定しており、現在その病理学的な意義を検討中である。

一卵性双生児由来サンプル、特に精神疾患に関して不一致である双生児サンプルは epigenetics 研究のための最良の試料であることは疑いない²⁰⁾。しかしながら、研究に使用できるのは実質的に血液由来サンプルに限定されており、どの程度まで脳神経系という組織特異的な異常を反映しているか検証が必要であろう。また、少数例からの知見が多く、異常が疾患に特異的かどうかとも検討されなければならない。加えて、一卵性双生児のゲノムDNA自体に差異がある可能性も除外できない。古典的には、統合失調症不一致例間で94個のマイクロサテライトマーカーの genotype に差はなく³⁴⁾、レトロウイルス様配列の多型も検出されず⁹⁾、異常伸張したトリプレットリピートも検出されていない⁴³⁾など、genetic な異常の報告はない。しかし、Nguyenら

は、ゲノム上の位置を特定できていないものの、CAGリピートを含む周辺配列の多型が不一致例間で一致例間よりも大きいことを見出しており、ゲノム安定性という観点からCAGリピートを含む特定の fragile な領域が発症に関与していると推測している²⁴⁾。

2. 患者死後脳を用いた研究

Costaらのグループは、*in vitro* で reelin 遺伝子の発現がプロモーター領域のDNAメチル化で制御されること⁹⁾、患者死後脳で reelin 遺伝子の発現量が減少していること¹⁴⁾¹⁷⁾から、DNMT1 (DNA methyltransferase1) に注目し reelin 遺伝子発現との関係を調べた。DNMT1はhemimethylated状態(2本鎖DNAの片側だけがメチル化されている状態)のCpG部位を認識し、DNAメチル化を行う維持型のDNA methylaseである³⁵⁾。彼らは、死後脳サンプルで *in situ* hybridization を行い、mRNAのシグナルを有する細胞数を三次元的に計測し、統合失調症患者の脳新皮質第I、II、IV層で reelin 陽性細胞が少なく、逆にDNMT1陽性細胞が多いことを示した⁴¹⁾。DNMT1陽性細胞の増加は、同じグループによって双極性障害患者死後脳でも認められている⁴²⁾。また、Abdolmalekyらも、統合失調症患者死後脳由来ゲノムDNAにおいて reelin 遺伝子の hypermethylation の傾向を認めている¹⁾。reelinはGABA作動性ニューロンで発現しており、DNMT1の発現上昇もこのニューロンで選択的に見られることから、Costaらは統合失調症におけるGABA作動性ニューロンの epigenetic 異常仮説を提唱している⁷⁾。仮に彼らの主張どおり患者死後脳のGABA作動性ニューロンにおいてDNMT1が発現上昇し、標的遺伝子のDNAメチル化を介して遺伝子発現を負に調節しているとしても、reelinだけが特異的な標的遺伝子とは考えにくく、その他多くの遺伝子が epigenetic な制御を受けている可能性があり興味深い。

Murphyらは、COMT (catechol-O-methyltransferase) 遺伝子のプロモーター領域のDNAメチ

ル化状態を31の脳領域に渡って調べ、多くの CpG 部位は全ての脳領域でほぼ完全にメチル化されている一方、ある特定の CpG 部位が全ての領域でヘテロなメチレーションパターンを示すことを見出した。この特定の CpG 部位を末梢血由来ゲノム DNA で調べたところ、統合失調症患者で完全にメチル化されているサンプルを見出している²³⁾。

3. 動物・細胞モデルにおける研究

1. L-methionine と DNA メチレーション

主に1960年代に行われた統合失調症患者への L-methionine の投与実験により、L-methionine は統合失調症様症状を増悪させることが知られていた⁹⁾。前述の Costa らのグループは、これらの所見にヒントを得て L-methionine 投与の実験系を確立した。マウス個体への L-methionine 連続投与により、reelin 遺伝子プロモーター領域の hyper-methylation, 発現量の低下と共に prepulse inhibition, social interaction など行動レベルでの異常がおこることを報告している³⁶⁾³⁷⁾。生体内で L-methionine は DNA メチレーションのために使われるメチル基を供与する S-adenosyl-methionine (SAM) の前駆体であり、L-methionine 投与マウスで SAM 量の上昇が見られることから、epigenetic な異常の source となっていると考えられている。また、マウス皮質初代培養系への L-methionine 投与により、やはり reelin 遺伝子プロモーター領域の hyper-methylation と発現低下が確認されている²⁷⁾。この皮質初代培養系にアンチセンスオリゴヌクレオチドを投与し DNMT1 の発現を抑えると、reelin 遺伝子の発現を上昇させること、また、L-methionine 誘導性の reelin 遺伝子の発現低下を阻害することが報告されている。しかし、L-methionine の投与により reelin と共に DNMT1 の発現も有意に低下しており²⁷⁾、結果の解釈には注意を要するであろう。また、Numachi らは、methamphetamine 投与ラットの海馬領域において DNMT1, DNMT2 の発現が低下

することを示した²⁸⁾。海馬では reelin 遺伝子の発現変化が認められず、皮質領域では投与3時間後に減少を示すが24時間後には発現が回復していた。methamphetamine 投与前後における reelin 遺伝子の DNA メチル化状態は明らかではなく、DNMT2 は DNA メチル化に直接関与していないとされているが、DNMT 遺伝子群の発現と reelin 遺伝子発現制御の関係は GABA 作動性ニューロン以外では、Costa らが提唱しているような単純な機構ではない可能性が示唆され興味深い。

2. 母親の母性行動と仔の DNA メチレーション

Weaver らは、通常よりも多く licking や grooming などの母性行動を示す (High-LG) ラットの仔では、そうでない (Low-LG) ラットの仔と比べて GR (glucocorticoid receptor) 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化状態が異なることを示した⁴⁴⁾。DNA メチル化の異常は GR 遺伝子の発現を制御する既知の転写因子 NGFI-A (nerve growth factor-induced gene A) の結合部位で起こり、High-LG ラットの仔ではほとんどメチル化されておらず、Low-LG ラットの仔では高度にメチル化されている。この差異は、それぞれの仔でその後保持される GR 遺伝子発現量の差異 (High-LG ラットの仔 > Low-LG ラットの仔) を説明できることから、冒頭に述べた環境変化による「持続的な変化」を epigenetics で示した初めての例であろう。

3. 投薬効果と DNA メチレーション

抗精神病薬や各種治療法も特定遺伝子の DNA メチル化を変動させる可能性がある。双極性障害の治療薬として用いられるバルプロ酸には、よく知られているように histone deacetylase (HDAC) 阻害剤の効果が³⁸⁾、HDAC 阻害活性を介して神経保護作用を示すこと¹⁹⁾や細胞分化を促すこと¹⁹⁾など多面的な作用のあることが注目されている。HDAC 阻害剤が DNA メチル化に与える詳細な機構は明らかではないが、前述の L-methionine 連続投与マウスでは、バルプロ酸の投与で reelin 遺伝子の hyper-methylation を

含む様々な異常が改善すること³⁷⁾, Low-LG ラットにおける低 GR 遺伝子発現もやはり HDAC 阻害剤である Tricostatin A の投与より改善されること⁴⁰⁾が報告されている。

難治性うつ病などの患者に用いられる電気けいれん療法 (electroconvulsive therapy) も様々な遺伝子発現変動を伴うことが推測されている。electroconvulsive seizures (ECS) 処理をしたラットでは, c-fos, BDNF (brain-derived neurotrophic factor), trkB (tropomyosin receptor kinase B), CREB (cyclic AMP response element binding protein) などの遺伝子発現が上昇²⁵⁾²⁶⁾し, 一部の遺伝子では長期にわたる発現変動が報告されている⁴⁵⁾。Tsankova らは c-fos, BDNF, CREB の遺伝子について ECS 処理後のラット海馬でクロマチン免疫沈降を行い, これら遺伝子の発現変動がヒストン修飾状態の変動を伴っていることを示した³⁸⁾。同定したヒストン修飾の中でも c-fos, CREB 遺伝子のプロモーター領域におけるヒストン H4 リジン残基アセチル化の低下, BDNF 遺伝子のプロモーター II, III 領域におけるヒストン H3 リジン残基アセチル化の上昇が, 急性および慢性 ECS 処理 24 時間後でも認められたことから, これらの修飾が長期的なものである可能性を示唆している³⁸⁾。これらのヒストン修飾が DNA メチレーションの変動を伴っているかどうかは明らかではない。しかし, BDNF に関してはマウス培養神経細胞系において KCl 誘導性の BDNF 遺伝子の発現上昇が, プロモーター III 領域上の DNA メチル化の低下を伴っていることが報告されており⁴²⁾¹⁾, 類似の修飾がおきている可能性がある。

4. 今後の展望

現在のところ, epigenetic な差異が統合失調症や双極性障害に関与しているという確実な所見はまだないといってよい。しかし, DNA メチル化状態の解析と遺伝子発現量の測定を主体とした研究は, 今後これまでに同定されてきた様々

な候補遺伝子に適用されていくと思われる。また, 近年のアレイ技術と方法論の進歩により全ゲノムレベルで DNA メチル化状態やヒストン修飾状態を網羅的に解析することも非現実的ではなくなりつつある。また, epigenetic な異常はゲノム上の塩基配列の異常と異なり回復できる余地があり, 創薬研究に寄与することが期待される。一方で, 生体内の遺伝子発現の変動には, 必ずヒストン修飾状態の変化などクロマチン構造の変換が伴う。従ってヒストン修飾状態やおそらく DNA メチル化に関しても, 持続的・特異的な変化であるかどうかという視点が必要になってくるであろう。

文 献

- 1) Abdolmaleky HM, Cheng KH, Russo A, et al (2005) Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 134 : 60-66.
- 2) Abdolmaleky HM, Smith CL, Faraone SV, et al (2004) Methyloomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 127 : 51-59.
- 3) Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, et al (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, 301 : 386-389.
- 4) Chen WG, Chang Q, Lin Y, et al (2003) Derepression of BDNF transcription involves calcium-dependent phosphorylation of MeCP2. *Science*, 302 : 885-889.
- 5) Chen Y, Sharma RP, Costa RH, et al (2002) On the epigenetic regulation of the human reelin promoter. *Nucleic Acids Res*, 30 : 2930-2939.
- 6) Cohen SM, Nichols A, Wyatt R, et al (1974) The administration of methionine to chronic schizophrenic patients: a review of ten studies. *Biol Psychiatry*, 8 : 209-225.
- 7) Costa E, Davis JM, Dong E, et al (2004) A GABAergic cortical deficit dominates schizophrenia

- pathophysiology. *Crit Rev Neurobiol*, 16 : 1-23.
- 8) Deb P, Klempan TA, O'Reilly RL, et al (1999) Search for retroviral related DNA polymorphisms using RAPD PCR in schizophrenia. *Biochim Biophys Acta*, 1453 : 216-220.
 - 9) Deb-Rinker P, Klempan TA, O'Reilly RL, et al (1999) Molecular characterization of a MSR-like sequence identified by RDA from monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Genomics*, 61 : 133-144.
 - 10) Deb-Rinker P, O'Reilly RL, Torrey EF, et al (2002) Molecular characterization of a 2.7-kb, 12q13-specific, retroviral-related sequence isolated by RDA from monozygotic twin pairs discordant for schizophrenia. *Genome*, 45 : 381-390.
 - 11) Goodwin F & Jamison K (1990) *Manic-depressive illness* (Oxford University Press, New York).
 - 12) Gottesman, II & Hanson DR (2005) Human development: biological and genetic processes. *Annu Rev Psychol*, 56 : 263-286.
 - 13) Gottesman II (1991) *Schizophrenia Genesis: The Origins of Madness* (W.H. Freeman, New York).
 - 14) Guidotti A, Auta J, Davis JM, et al (2000) Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry*, 57 : 1061-1069.
 - 15) Gurvich N, Tsygankova OM, Meinkoth JL, et al (2004) Histone deacetylase is a target of valproic acid-mediated cellular differentiation. *Cancer Res*, 64 : 1079-1086.
 - 16) Hayashizaki Y, Hirotsune S, Okazaki Y, et al (1993) Restriction landmark genomic scanning method and its various applications. *Electrophoresis*, 14 : 251-258.
 - 17) Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, et al (1998) A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95 : 15718-15723.
 - 18) Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M, et al (2003) Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat Genet*, 35 : 171-175.
 - 19) Kanai H, Sawa A, Chen RW, et al (2004) Valproic acid inhibits histone deacetylase activity and suppresses excitotoxicity-induced GAPDH nuclear accumulation and apoptotic death in neurons. *Pharmacogenomics J*, 4 : 336-344.
 - 20) Kato T, Iwamoto K, Kakiuchi C, et al (2005) Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Mol Psychiatry*, in press.
 - 21) Martinowich K, Hattori D, Wu H, et al (2003) DNA methylation-related chromatin remodeling in activity-dependent BDNF gene regulation. *Science*, 302 : 890-893.
 - 22) McDonald P, Lewis M, Murphy B, et al (2003) Appraisal of genetic and epigenetic congruity of a monozygotic twin pair discordant for schizophrenia. *J Med Genet*, 40 : E16.
 - 23) Murphy BC, O'Reilly RL & Singh SM (2005) Site-specific cytosine methylation in S-COMT promoter in 31 brain regions with implications for studies involving schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 133 : 37-42.
 - 24) Nguyen GH, Bouchard J, Boselli MG, et al (2003) DNA stability and schizophrenia in twins. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 120 : 1-10.
 - 25) Nibuya M, Morinobu S & Duman RS (1995) Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci*, 15 : 7539-7547.
 - 26) Nibuya M, Nestler EJ & Duman RS (1996) Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J Neurosci*, 16 : 2365-2372.
 - 27) Noh JS, Sharma RP, Veldic M, et al (2005) DNA methyltransferase 1 regulates reelin mRNA expression in mouse primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102 : 1749-1754.
 - 28) Numachi Y, Yoshida S, Yamashita M, et al (2004) Psychostimulant alters expression of DNA methyltransferase mRNA in the rat brain. *Ann N Y Acad Sci*, 1025 : 102-109.
 - 29) Petronis A (2001) Human morbid genetics revisit-

- ed: relevance of epigenetics. *Trends Genet*, 17 : 142-146.
- 30) Petronis A (2003) Epigenetics and bipolar disorder: new opportunities and challenges. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 123 : 65-75.
- 31) Petronis A (2004) The origin of schizophrenia: genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. *Biol Psychiatry*, 55 : 965-970.
- 32) Petronis A, Gottesman, II, Kan P, et al (2003) Monozygotic twins exhibit numerous epigenetic differences: clues to twin discordance? *Schizophr Bull*, 29 : 169-178.
- 33) Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, et al (2001) Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem*, 276 : 36734-36741.
- 34) Polymeropoulos MH, Xiao H, Torrey EF, et al (1993) Search for a genetic event in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Psychiatry Res*, 48 : 27-36.
- 35) Robertson KD (2002) DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. *Oncogene*, 21 : 5361-5379.
- 36) Tremolizzo L, Carboni G, Ruzicka WB, et al (2002) An epigenetic mouse model for molecular and behavioral neuropathologies related to schizophrenia vulnerability. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99 : 17095-17100.
- 37) Tremolizzo L, Doueiri MS, Dong E, et al (2005) Valproate corrects the schizophrenia-like epigenetic behavioral modifications induced by methionine in mice. *Biol Psychiatry*, 57 : 500-509.
- 38) Tsankova NM, Kumar A & Nestler EJ (2004) Histone modifications at gene promoter regions in rat hippocampus after acute and chronic electroconvulsive seizures. *J Neurosci*, 24 : 5603-5610.
- 39) Tsujita T, Niikawa N, Yamashita H, et al (1998) Genomic discordance between monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 155 : 422-424.
- 40) Ushijima T, Morimura K, Hosoya Y, et al (1997) Establishment of methylation-sensitive-representational difference analysis and isolation of hypo- and hypermethylated genomic fragments in mouse liver tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94 : 2284-2289.
- 41) Veldic M, Caruncho HJ, Liu WS, et al (2004) DNA-methyltransferase 1 mRNA is selectively overexpressed in telencephalic GABAergic interneurons of schizophrenia brains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 : 348-353.
- 42) Veldic M, Guidotti A, Maloku E, et al (2005) In psychosis, cortical interneurons overexpress DNA-methyltransferase 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102 : 2152-2157.
- 43) Vincent JB, Kalsi G, Klempan T, et al (1998) No evidence of expansion of CAG or GAA repeats in schizophrenia families and monozygotic twins. *Hum Genet*, 103 : 41-47.
- 44) Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al (2004) Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, 7 : 847-854.
- 45) Winston SM, Hayward MD, Nestler EJ, et al (1990) Chronic electroconvulsive seizures down-regulate expression of the immediate-early genes c-fos and c-jun in rat cerebral cortex. *J Neurochem*, 54 : 1920-1925.
- 46) Wu C & Morris JR (2001) Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*, 293 : 1103-1105.