

## 論文の内容の要旨

論文題目：一卵性双生児双極性障害不一致例サンプルを用いた

双極性障害における DNA メチル化異常の同定

指導教員：笠井 清登 講師

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月 入学

医学博士課程

脳神経医学専攻

倉富 剛

本研究では、双極性障害と関連する DNA メチル化異常を同定するために、一卵性双生児双極性障害不一致例（片側のみが双極性障害を発症している一卵性双生児ペア）を用いて、MS-RDA 法（Methylation-sensitive representational difference analysis 法）を行った。また、双極性障害患者群・健常者群を用いて、メチル化異常についてのケースコントロール研究を行った。

双極性障害とは感情障害の一種で、躁状態、うつ状態という 2 種類の病相を繰り返す疾患である。一卵性双生児における双極性障害の発症一致率は 70%程度で、その発症には遺伝学的要因が大きく関わっていると考えられる。しかし一卵性双生児双極性障害不一致例が存在することは、双極性障害の発症に DNA メチル化などの後生遺伝学的要因（エピジェネティクス）が関わっている可能性を示唆する。

そこで本研究では MS-RDA 法を用いて、一卵性双生児双極性障害不一致例間における DNA メチル化差異を包括的に探索した。MS-RDA 法は、2 ゲノム間の

DNA メチル化差異を包括的に探索し、同定するために用いられる手法である。2 つのゲノムを DNA メチル化感受性酵素 *HpaII* で切断後、2 ゲノム間でサブトラクションを行うことによって DNA メチル化差異の同定を行う。本研究では、不一致例双生児由来のリンパ芽球様細胞ゲノムを用い、そのメチル化差異を探索した。

MS-RDA 法の結果、既知遺伝子と EST (Expressed Sequence Tag) の 5'側上流領域に由来する計 10 領域が得られた。これら 10 領域に DNA メチル化差異が実際に存在するかを確認するために、双生児リンパ芽球様細胞由来 DNA を用いてバイサルファイトシーケンス法を行った。その結果、計 10 領域のうち 4 領域で、実際に DNA メチル化状態の差異が認められた。4 領域はそれぞれ、*PIP5KL1* (Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase-like 1)、*ARMC3* (Armadillo repeat containing 3)、*SMS* (Spermine synthase)、*PPIEL* (Peptidylprolyl isomerase E-like) の第 1 エクソン周辺に存在していた。計 4 領域のうち、最も広範な DNA メチル化差異が見られたのは *PPIEL* のプロモーター領域であった。*PPIEL* のプロモーター領域は、健常双生児ではほぼ完全にメチル化されているが、患者双生児ではメチル化が全体的に低下していた。

計 4 領域のメチル化差異が双極性障害患者群でも同様に認められるかを調べるために、健常者群と双極性障害患者群との間でケースコントロール研究を行った。双極 I 型障害患者群、双極 II 型障害患者群、健常者群のリンパ芽球様細胞由来 DNA を用い、パイロシーケンス法を用いてメチル化状態を測定した。その結果、*PPIEL* 遺伝子の第 1 エクソン近傍において、有意な DNA メチル化差異が認められた。*PPIEL* では、健常群に対し双極 II 型障害患者群においてメチル化率が有意に低くなっていた。また、健常群に対し双極 II 型障害患者群において、*PPIEL* の発現量が高くなっていた。*PPIEL* の DNA メチル化レベルと遺伝子発現量との間には負の相関が見られた。一方、他の 3 領域は、DNA メチル化状

態と双極性障害との間に有意な関連は見られなかった。

本研究では次の 2 点の結果が得られた。第一に、MS-RDA 法を用いて、一卵性双生児双極性障害不一致例由来のリンパ芽球様細胞の間に 4 個のメチル化差異が存在することが示された。第二に、双極 II 型障害と関連する DNA メチル化異常として、*PPIEL* のメチル化異常が同定された。本研究の結果は、*PPIEL* のメチル化異常が双極 II 型障害の病態生理と関わっている可能性を示唆している。本研究は、DNA メチル化が双極性障害の病態生理に関わる可能性を示した、初めての直接的な研究である。