

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成 23 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

加藤忠史

(独) 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
チームリーダー

精神疾患のエピゲノム病態の解明に向けた新技術創出

§ 1. 研究実施体制

(1) 加藤グループ (理化学研究所)

- ① 研究代表者: 加藤忠史 (独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 精神疾患動態研究センター、チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・精神疾患のエピゲノム解析

(2) 中島グループ (九州大学)

- ① 主たる共同研究者: 中島欽一 (大学院医学研究院、教授)
- ② 研究項目
 - ・動物モデルを用いたエピゲノム病態の解析

(2) 五十嵐グループ (星薬科大学)

- ① 主たる共同研究者: 五十嵐勝秀 (先端生命科学研究センター 先端生命科学研究センター、副センター長・准教授)
- ② 研究項目
 - ・動物モデルにおけるエピゲノム病態の解析

§ 2. 研究実施の概要

1) 神経細胞における低メチル化が精神疾患を引き起こすメカニズムの解析

私たちはこれまで、精神疾患患者さんの死後脳から、神経細胞の核を取り出して、その DNA を DNA マイクロアレイを用いて解析し、さまざまな DNA メチル化変化を見出してきました。しかし、DNA メチル化変化が精神症状の原因なのか、結果なのかについては、わかりません。そこで、DNA メチル化変化と精神症状の因果関係を明らかにするため、神経細胞のみで DNA メチル化酵素 Dnmt1 を失わせた神経細胞を作成し、遺伝子発現解析、および形態の解析を行いました。その結果、この神経細胞において、さまざまな遺伝子発現変化および形態変化を示すことがわかりました。そのメカニズムに DNA メチル化変化が関与しているかどうかについて、検討を進めています。

2) セロトントランスポーター (Slc6a4) メチル化マウス開発に向けた基礎的検討

私たちはこれまで、一人だけが双極性障害(躁うつ病)にかかっている一卵性双生児の間で、DNA メチル化状態を比較することによって、双極性障害におけるセロトントランスポーター遺伝子 (Slc6a4) の DNA メチル化上昇を見出しました。セロトントランスポーターは、抗うつ薬の標的分子であることから、病気との関連が疑われますが、病気の結果によって変化しているのか、このメチル化変化が病気の原因なのかを明らかにする必要があります。

Slc6a4 がメチル化されていることが精神疾患の原因なのかどうかを、動物モデルを用いて明らかにするためには、神経細胞のゲノムで Slc6a4 がメチル化されたマウスを作る必要がありますが、人為的に特定の遺伝子に DNA メチル化を導入したマウスを作成する技術は、未だ確立していません。そこで、特定の遺伝子に DNA メチル化を亢進させたモデルマウスを作る技術を開発するため、マウスの Slc6a4 において、DNA メチル化がその制御に関与しているゲノム部位の探索を行いました。

その結果、マウスにおいて、組織特異的な Slc6a4 発現に関わっているゲノム部位を同定しました。さらに、母子分離・隔離飼育モデルにおいて、DNA メチル化が変化する Slc6a4 遺伝子のゲノム領域を確認しました。

3) 死後脳における DNA メチル化解析

私たちはこれまで、亡くなった患者さんの脳から、神経細胞の細胞核を取り出して、DNA メチル化解析を行ってきました。しかし、神経細胞以外は、「非神経細胞」としてひとまとめにして解析していました。しかし、実際には、非神経細胞の中にも、オリゴデンドロサイト、アストロサイトなど、多くの細胞種が含まれています。これらの細胞も、精神疾患との関連が指摘されていることから、これらについても、各々調べる必要があります。そこで、オリゴデンドロサイトの神経核を選択的に集める方法を検討しました。密度勾配遠心分離法に、オリゴデンドロサイトのみが発現している蛋白質である Olig2 の抗体を用いてセルソーターにより、Olig2 陽性の細胞核を集める方法を併用した結果、選択的にオリゴデンドロサイト核を集めることに成功し、現在、この方法を用いた解析を進めています。

また、私たちはこれまで、亡くなった精神疾患患者さんの脳の神経細胞のDNAで、DNAメチル化変化を見いだしてきました。最近、脳では、メチル化の他に、ヒドロキシメチル化という修飾が多く見られ、これが脱メチル化のメカニズムに関わっている可能性が考えられています。そこで、死後脳において、ヒドロキシメチル化についての分析を行いました。ヒドロキシメチル化シトシンに対する抗体によりDNAを集め、タイリングアレイを用いて解析することにより、神経細胞と非神経細胞におけるヒドロキシメチル化の状態を比較し、これまでに報告されているような神経細胞に特徴的なヒドロキシメチル化修飾を確認しました。