

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 尾崎 優樹

学位論文名 アルツハイマー型認知症患者における *TREM2* 遺伝子イントロン 1
領域の DNA メチル化率と mRNA 発現量の変化

学位論文の要約

諸言

アルツハイマー型認知症(Alzheimer's Disease : AD)は、認知症の中で最も頻度の高い疾患であり、脳内でのアミロイドβやタウの凝集がみられる。Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (*TREM2*) は、希少な常染色体潜性遺伝性疾患である那須-ハコラ病の原因遺伝子の一つであるが、ミクログリア細胞の表面に発現し、アポトーシスニューロンやミスフォールド蛋白の貪食能の促進作用やサイトカイン産生を抑制することによる炎症遅延作用を有する。2013年に *TREM2* の機能欠損を引き起こす点変異が AD 発症のリスク上昇に有意に関連していることが報告され、AD 群における *TREM2* mRNA 発現量が健常群と比較して有意に高いことを我々は報告していた [Mori et al, 2015 : 参考論文]。私は、エピジェネティックな変化により *TREM2* の遺伝子発現量が増加し、AD 発症や重症度に関与すると予想し、*TREM2* の遺伝子発現調節部位 CpG sites の DNA メチル化率と AD 群、健常対照群の末梢血白血球 mRNA 発現量や、AD 群の臨床症状との関連を調べることで、AD の診断や治療のバイオマーカーとなると考え検討した。

対象および方法

本研究では、愛媛大学医学部附属病院精神科および同連携病院にて治療中の AD 群 50 例と性年齢を一致させた健常対照群 50 例を対象とした。AD 群では、発症年齢、服薬内容などの臨床的特徴の聴取に加え、Mini-Mental State Examination (MMSE)、Neuropsychiatric Inventory (NPI)、Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale (ADAS-cog) などの神経心理検査を施行した。対象者の末梢血白血球から常法により、mRNA および遺伝子 DNA 分画を抽出し精製した。RNA 分画からは逆転写反応により cDNA を作成し Taqman probe 法を用いた real time PCR 法にて解析した。DNA メチル化率は遺伝子 DNA をバイサルファイト処理後にパイロシーケンス法を用いて測定した。*TREM2* の DNA メチル化率は、主要な転写因子が結合すると予測されたイントロン 1 の 4 つの CpG sites を選択した。その後、AD 群の臨床的特徴と *TREM2* m

RNA 発現量、イントロン 1 の DNA メチル化率を統計学的に比較した。本研究は、愛媛大学医学部ヒトゲノム倫理委員会にて承認を得ており、全ての対象者またはその保護者に、書面を用いた説明および同意を得たうえで研究に参加いただいた。

結果

私の研究室の先行する報告と同様、AD 群では、健常群と比較し末梢血白血球 *TREM2* mRNA 発現量は有意に増加していることが再認された ($p = 0.007$)。そして AD 群の *TREM2* の 3 つの DNA メチル化率は健常群と比較して有意に低下していた (CpG1、CpG2、CpG3 のいずれも $p < 0.001$)。さらに *TREM2* mRNA 発現量と DNA メチル化率には、有意な負の相関が認められた (CpG1; $r = -0.416$ 、CpG2; $r = -0.510$ 、CpG3; $r = -0.504$ 、CpG4; $r = -0.356$ 、いずれも $p < 0.001$)。 *TREM2* mRNA 発現量や DNA メチル化率と各種臨床データ、神経心理検査の間に有意な相関はなかった。4 つの CpG サイトのメチル化率から判別分析を行ったところ、AD 群と健常群を感度 78.0%、特異度 84.0%で判別できた。

まとめ

本研究では、AD 群の末梢血白血球 *TREM2* mRNA 発現量とイントロン 1 の DNA メチル化率との間に有意な相関を初めて見出した。一般的にプロモーターの DNA 低メチル化は遺伝子発現を促進することが知られており、*TREM2* ではイントロン 1 の DNA メチル化率の変化が遺伝子発現に影響を与えているのかもしれない。今回の解析では、*TREM2* mRNA 発現量や DNA メチル化率と臨床的データとの間に有意な相関は認めなかった。今後、さらに例数を増やして解析するべきだと思われた。末梢血白血球 *TREM2* DNA メチル化率による判別分析を行うと AD 群と健常群を感度 78.0%、特異度 84.0%と高い精度で判別できたことから、*TREM2* mRNA 発現量や DNA メチル化率が AD の診断バイオマーカーとなりうることが示唆された。なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文に既に公表済である。

主論文：

Yuki Ozaki, Yuta Yoshino, Kiyohiro Yamazaki, Tomoko Sao, Yoko Mori, Shinichiro Ochi, Taku Yoshida, Takaaki Mori, Jun-ichi Iga and Shu-ichi Ueno : DNA methylation changes at *TREM2* intron1 and *TREM2* mRNA expression in patients with Alzheimer's disease. *Journal of psychiatric reserch* 92 : 74-80, 2017. DOI : nothing.

参考論文：

Yoko Mori, Yuta Yoshino, Shinichiro Ochi, Kiyohiro Yamazaki, Kentaro, Kawabe, Masao Abe, Tomoji Kitano, Yuki Ozaki, Taku Yoshida, Shusuke Numata, Takaaki Mori, Junichi Iga, Norio Kuroda, Tetsuro Ohmori and Shu-ichi Ueno : *TREM2* mRNA Expression in Leukocytes Is Increased in Alzheimer's Disease and Schizophrenia. *Plos one* 10, 2015. DOI : nothing.