

## 特集

## 単一モダリティの大規模データを起点とした階層性データベース構築の意義

3. 統合失調症における網羅的 DNA メチル化データの  
利用について池亀 天平<sup>1)</sup>, 岩本 和也<sup>2)</sup>

**抄録:** 統合失調症の発症には遺伝と環境の複雑な相互作用が関係していると考えられている。エピジェネティクスは環境因子の影響を分子レベルで解析する手法であり、精神疾患分野では DNA メチル化に関する解析が盛んである。疾患の生物学的知見を基にした候補遺伝子解析に加え、疾患の多因子性を踏まえた網羅的 DNA メチル化解析も広く行われ、神経系遺伝子以外にも免疫や炎症にかかわる遺伝子群のメチル化変化が報告されている。大規模に集積された DNA メチル化データは、精神疾患のバイオマーカーとしての可能性を示すエピジェネティッククロックや機械学習アプローチによる疾患予測アルゴリズムの開発へと進展している。本稿ではこれら一連の研究を概説する。

日本生物学的精神医学会誌 35 (2) : 73-77, 2024

**Key words :** epigenetics, DNA methylation, methylome-wide association study, epigenetic clock

## 1. 精神疾患のゲノム研究

マイクロアレイや次世代シーケンサーといったゲノム解析技術の発展により、さまざまなヒト疾患の遺伝的構造が明らかになってきている。統合失調症や双極性障害といった精神疾患は過去の疫学研究から遺伝率の高い疾患と考えられており、Psychiatric Genomics Consortium (PGC) を中心に主要な精神疾患に対する数万~数10万例に及ぶ大規模ゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study : GWAS) が行われている<sup>23, 29)</sup>。しかし、報告された疾患リスク因子のオッズ比は 1.1~1.2 程度と低く、合算しても疫学研究より推定される高い遺伝率とは大きな乖離が認められる。GWAS の結果から、精神疾患の多くは効果量の小さな複数の遺伝要因が関連する多因子性疾患であることが広く認識され、個人の遺伝的な疾患リスクを集約的に推定するポリジェニックリスクスコア (polygenic risk score : PRS) が考案されている。PGC が行った統合失調症発症リスク評価では、PRS

の上位 10% にある個体と下位 10% の個体間で統合失調症診断がされるオッズ比は最大 15.8 の高値を示し<sup>29)</sup>、PRS による疾患リスク予測が精神医療分野にも適応し得る可能性が示唆された。しかし、Zheutlin らによる臨床医療データを用いた同様の解析においてはオッズ比が最大 4.6 とリサーチレベルの結果より低く、患者-健常者を高精度に識別可能にするほどではないことも報告されている<sup>34)</sup>。GWAS に加え、エクソーム解析や全ゲノム解析による、一般集団のなかでの頻度はまれだが効果量の大きいコピー数変異や *de novo* 変異の探索が進められているが、遺伝要因に限定した疾患研究だけでは将来的なゲノム医療の実現化は困難であると予想される。

## 2. エピジェネティクスと精神疾患

統合失調症や双極性障害の一卵性双生児の疾患一致率は約 70% 程度とされ、高い遺伝的負因を示すものの、発症には環境要因の関与も示唆されている。

The utilization of comprehensive DNA methylation data in schizophrenia

1) 東京大学大学院医学系研究科精神医学 (〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1 クリニカルリサーチセンター 1F) Tempei Ikegame : Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo. Clinical Research Center 1F, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

2) 熊本大学大学院生命科学研究部 分子脳科学講座 (〒860-8556 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1 基礎医学研究棟) Kazuya Iwamoto : Department of Molecular Brain Science, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, Japan. Basic Research Building 7F, 1-1-1 Honjo, Chuo-ku, Kumamoto 860-8556, Japan

【池亀 天平 E-mail : tempeiikegame@g.ecc.u-tokyo.ac.jp】

エピジェネティクスは環境要因を分子レベルで説明する概念の一つであり、「塩基配列の変化を伴わずに、子孫や娘細胞に伝達される遺伝子発現調節機構」と定義されている。エピジェネティクスと精神疾患の関連が示唆される例として、自閉症様症状を主徴とするレット症候群 (Rett syndrome) の発症にメチル化関連遺伝子の変異がかかわっていること<sup>6)</sup>、バルプロ酸や抗精神病薬、電気けいれん療法などがエピジェネティックに作用すること<sup>3, 5, 9)</sup>、動物モデルにおいて養育環境に起因する行動異常と脳内のエピゲノム状態の変動が連動していること<sup>32)</sup>、などが挙げられる。精神疾患分野ではエピジェネティクスの代表的システムの一つである DNA メチル化に関する研究がもっとも盛んに行われている。DNA メチル化は主に、シトシン塩基とグアニン塩基が連続している CpG 配列とよばれる部位の、シトシン塩基 5 位の炭素がメチル化修飾を受けている状態を指す。統合失調症患者や双極性障害患者の死後脳・末梢血・唾液などを用いた精神疾患候補遺伝子解析からは、ドーパミン代謝酵素 catechol-O-methyltransferase (*COMT*)、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (gamma-aminobutyric acid : GABA) 合成酵素 glutamate decarboxylase1 (*GAD1*)、ドーパミン受容体遺伝子 dopamine receptor D2 (*DRD2*)、神経発達関連遺伝子 reelin (*RELN*)、電位依存性カリウムイオンチャンネル potassium voltage-gated channel subfamily Q member 3 (*KCNQ3*)、セロトニントランスポーター遺伝子 solute carrier family 6 member 4 (*SLC6A4*)、その他多数の候補遺伝子でメチル化変化が報告されている<sup>10, 27)</sup>。

精神疾患の多因子性を踏まえた網羅的 DNA メチル化解析 (methylome-wide association study : MWAS) も推進され、統合失調症患者を中心に 100 例以上の死後脳や数 100 ~ 1,000 例以上の末梢血を用いた大規模解析が行われている<sup>1, 11, 15, 22, 25, 31)</sup>。網羅的解析では通常多数の CpG を対象とするため {DNA メチル化アレイでは数万~数 10 万箇所、次世代シーケンシング (next-generation sequencing : NGS) では 1,000 万箇所以上}、多重検定補正の点から統計的有意なメチル化変化の再現は容易ではないが、興味深いことに *COMT* や *RELN* などは候補遺伝子 DNA メチル化解析で得られた知見と重複している<sup>1,7)</sup>。また、機能的アノテーション解析からは、死後脳と末梢血の両方の解析で神経炎症や免疫機能に関連する遺伝子群が繰り返し検出されており、このことは感染症や自己免疫疾患が統合失調症の危険因子であることを示唆する大規模疫学研究の結論と

も一致している<sup>2)</sup>。

### 3. 網羅的 DNA メチル化情報の利用

網羅的 DNA メチル化情報を利用し、生老病死に伴うさまざまな生命現象を予測する手法が考案されている。2013 年、Horvath らは臍帯血や胚性幹細胞 (embryonic stem cell : ES 細胞) を含む 30 種類以上の細胞から得られた 8,000 以上の DNA メチル化アレイデータを数理的に解析し、353 箇所の CpG のメチル化状態を基に生物学的年齢予測法、Horvath's clock とよばれるエピジェネティッククロックを開発した<sup>13)</sup>。Horvath's clock の開発以降、対象となる組織や CpG を絞ったさまざまなエピジェネティッククロックが提案されているが、その正確性と細胞種に依存しない汎用性の面から Horvath's clock が基準として広く利用されている。Horvath's clock は正確な生物学的年齢予測が可能であるが、一方で炎症反応や血糖値といった臨床的機能変化指標との関連性は低く、同年代の個人間で罹患率や死亡率のリスクを差別化するには不十分であることが指摘されている。Levine らは血液組織より見いだした 513 の CpG に加え、血中アルブミン、クレアチニン、血糖値、c-reactive protein (CRP)、リンパ球割合、平均細胞体積、赤血球分布幅、アルカリフォスファターゼ、白血球数といった、身体状態を反映する表現型も取り入れたエピジェネティッククロック PhenoAge を開発した<sup>17)</sup>。この測定法は年齢推定の点では Horvath's clock に劣るが、心臓血管疾患や免疫疾患などの疾患リスクと健康寿命の予測の点で優れている。また、喫煙習慣に関連する CpG を含む 1,030 の CpG に、プラスミノゲン活性化インヒビター 1 (plasminogen activator inhibitor-1 : PAI-1) や成長分化因子 15 (growth and differentiation factor-15 : GDF-15) といった血漿タンパク質推定値を加味したエピジェネティッククロック GrimAge は、死亡リスクと老化関連疾患の発症リスクの推定に優れている<sup>20)</sup>。

統合失調症における症例対照研究も複数行われている。McKinney らの 195 例の患者死後脳と 232 例の健常者死後脳、592 例の患者末梢血と 709 例の健常者末梢血の比較解析からは生物学的年齢の有意差は認めず<sup>21)</sup>、Kowalec らの患者末梢血 190 例と健常者末梢血 126 例の比較でも有意差は認めなかった<sup>16)</sup>。Wu らは 1,069 例の患者末梢血と 1,264 例の健常者末梢血、さらに 500 例の患者死後脳と 711 例の健常者死後脳の比較により、患者有意な生物学

的年齢の遅れを見いだした<sup>33)</sup>。Talarico らは 60 例の抗精神病薬未投薬の初回エピソード患者末梢血と 60 例の健常者末梢血より、患者有意な生物学的年齢の遅れを報告している<sup>28)</sup>。Li らも抗精神病薬未投薬の初回エピソード患者末梢血 38 例と健常者 38 例の比較解析により、患者有意な生物学的年齢の遅れを確認している<sup>18)</sup>。Iftimovici らは統合失調症超ハイリスク群のうち、顕在発症した 15 例と未発症の 23 例の末梢血を用いた解析により、顕在化群で有意な生物学的年齢の遅れを確認した<sup>14)</sup>。上記の先行研究はすべて Horvath's clock を基準とした解析である。一方、Higgins-Chen らの行った患者末梢血 567 例と健常者 594 例の比較解析においては、Horvath's clock による生物学的年齢差は認めなかったが、PhenoAge や GrimAge では患者有意な生物学的年齢の加速を見いだしている<sup>12)</sup>。また、Ori らは患者末梢血 1,090 例と健常者 1,206 例の比較において、Horvath's clock で有意差を認めず PhenoAge では有意な生物学的年齢の加速を報告している<sup>26)</sup>。これらから、PhenoAge や GrimAge は疾患リスクや加齢予測といった臨床応用の可能性が示唆される。

歴年齢を教師データとし生物学的年齢を推定するクロックを第 1 世代 (Horvath's clock, Hannum's clock) とするならば、代謝情報など生体情報を教師データとし残寿命を推定するクロックは第 2 世代 (PhenoAge, GrimAge) であると考えられる。現在、さらに、コホート情報を利用し老化に伴う変化量を教師データとし、個人の加齢のペースを推定する第 3 世代 (DunedinPACE) などが開発されている。統合失調症では、DunedinPACE により複数のコホートサンプルで加齢ペースが加速していることが示されている<sup>4)</sup>。

また、機械学習アプローチを用いて統合失調症と健常者を分別する、統合失調症ポリメチレーションスコア (polymethylation score : PMS) 研究が報告されている<sup>8)</sup>。この研究では、Gene Ontology データベースを用いてカテゴリー化した 2,846 の遺伝子パスウェイに含まれる CpG 群 (1 パスウェイ最低 10 箇所以上) を統合失調症患者末梢血 353 例と健常者 322 例の MWAS データより抽出し、パスウェイごとに 1 つの機械学習モデルを生成した。その後、パスウェイレベルの特徴をシステムレベルの分類器に統合することで、被験者が統合失調症群に属する可能性を定量化した PMS としてスコア化している。この PMS はテストデータのクロスバリデーションでは area under the curve (AUC) = 0.78、統合失

調症患者末梢血 414 例と健常者 433 例の独立した MWAS に対しては AUC = 0.69、統合失調症患者死後脳 108 例と健常者 136 例の MWAS に対しては AUC = 0.63 と有意な再現性を示している。興味深いことに死後脳 MWAS から PMS を構築し末梢血 MWAS で検証した場合は、患者健常者の分別はできなかった。また、双極性障害、大うつ病性障害、自閉スペクトラム症といったほかの精神疾患の分別はできず、疾患特異的 PMS であることを支持した。さらに、統合失調症 PMS に有意に寄与している 10 のパスウェイが同定されたが、これらには免疫関連、シナプス・神経機能、アポトーシス関連の遺伝子が含まれ、先行研究で示唆された統合失調症と関連する遺伝子群と重複していた。

#### 4. 今後の展望

網羅的 DNA メチル化解析は、現在、イルミナ社の DNA メチル化アレイ情報を基に構築されている。共通のメチル化アレイを用いることで、異なる人種や細胞・組織間でも高いデータ互換性が維持され、多施設大規模メチロームデータの集約・比較解析を可能にしている。PRS で測定される遺伝的背景の影響に加え、エピジェネティッククロックなど環境要因の集約化スコアを加味することにより、精神疾患の分子診断や層別化が進展すると期待される。

精神疾患への応用をさらに推進するためには、多様な人種由来の組織サンプルに加え、脳画像データ、死後脳データ、認知機能指標、症状重症度指標、投薬の影響評価データなどを取り入れた複合的なエピジェネティッククロックの開発が望まれる。また、中年から老年期の情報を多く取り入れた DunedinPACE では若年層の統合失調症での検出は困難であることが示されていることから、特に精神疾患の罹患リスクに直結する周産期環境や思春期発達に着目したクロックの開発が有用であると考えられる。一方、哺乳類全般に保存されたゲノム配列を基にカスタム設計された DNA メチル化アレイの開発により、種を超えた老化など生命現象の基盤を探る試みも進んでいる<sup>19)</sup>。筆者らは、コモンマーモセットやカニクイザルに特化した解析法を確立しており、特に精神疾患分野でのトランスレーショナル研究を行ううえでヒトのデータと直接比較することが可能である<sup>24, 30)</sup>。今後、国内で進められているさまざまなコホート研究や、非ヒト霊長類モデルでの研究と連携した領域横断的な研究が期待される。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫

理的配慮を行っている。

開示すべき利益相反は存在しない。

## 文 献

- 1) Aberg KA, McClay JL, Nerella S, et al (2014) Methylome-wide association study of schizophrenia : identifying blood biomarker signatures of environmental insults. *JAMA Psychiatry*, 71 (3) : 255-264.
- 2) Benros ME, Nielsen PR, Nordentoft M, et al (2011) Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for schizophrenia : a 30-year population-based register study. *Am J Psychiatry*, 168 (12) : 1303-1310.
- 3) Burghardt KJ, Khoury AS, Msallaty Z, et al (2020) Antipsychotic medications and DNA methylation in schizophrenia and bipolar disorder : a systematic review. *Pharmacotherapy*, 40 (4) : 331-342.
- 4) Caspi A, Shireby G, Mill J, et al (2023) Accelerated pace of aging in schizophrenia : five case-control studies. *Biol Psychiatry*, online ahead of print.
- 5) Castro SCC, Bicca C, Bicca B, et al (2023) A systematic mini-review of epigenetic mechanisms associated with electroconvulsive therapy in humans. *Front Hum Neurosci*, 17 : 1143332.
- 6) Chahrouh M and Zoghbi HY (2007) The story of Rett syndrome : from clinic to neurobiology. *Neuron*, 56 (3) : 422-437.
- 7) Chen C, Zhang C, Cheng L, et al (2014) Correlation between DNA methylation and gene expression in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Bipolar Disord*, 16 (8) : 790-799.
- 8) Chen J, Zang Z, Braun U, et al (2020) Association of a reproducible epigenetic risk profile for schizophrenia with brain methylation and function. *JAMA Psychiatry*, 77 (6) : 628-636.
- 9) Dong E, Chen Y, Gavin DP, et al (2010) Valproate induces DNA demethylation in nuclear extracts from adult mouse brain. *Epigenetics*, 5 (8) : 730-735.
- 10) Gürel Ç, Kuşçu GC, Yavaşoğlu A, et al (2020) The clues in solving the mystery of major psychosis : the epigenetic basis of schizophrenia and bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*, 113 : 51-61.
- 11) Hannon E, Dempster E, Viana J, et al (2016) An integrated genetic-epigenetic analysis of schizophrenia : evidence for co-localization of genetic associations and differential DNA methylation. *Genome Biol*, 17 (1) : 176.
- 12) Higgins-Chen AT, Boks MP, Vinkers CH, et al (2020) Schizophrenia and epigenetic aging biomarkers : increased mortality, reduced cancer risk, and unique Clozapine effects. *Biol Psychiatry*, 88 (3) : 224-235.
- 13) Horvath S (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*, 14 (10) : 3156.
- 14) Iftimovici A, Kebir O, Jiao C, et al (2022) Dysmaturational longitudinal epigenetic aging during transition to psychosis. *Schizophr Bull Open*, 3 : sgac030.
- 15) Jaffe AE, Gao Y, Deep-Soboslay A, et al (2016) Mapping DNA methylation across development, genotype and schizophrenia in the human frontal cortex. *Nat Neurosci*, 19 (1) : 40-47.
- 16) Kowalec K, Hannon E, Mansell G, et al (2019) Methylation age acceleration does not predict mortality in schizophrenia. *Transl Psychiatry*, 9 (1) : 157.
- 17) Levine ME, Lu AT, Quach A, et al (2018) An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*, 10 (4) : 573-591.
- 18) Li Z, Zong X, Li D, et al (2023) Epigenetic clock analysis of blood samples in drug-naive first-episode schizophrenia patients. *BMC Psychiatry*, 23 (1) : 45.
- 19) Lu AT, Fei Z, Haghani A, et al (2023) Universal DNA methylation age across mammalian tissues. *Nat Aging*, 3 (9) : 1144-1166.
- 20) Lu AT, Quach A, Wilson JG, et al (2019) DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*, 11 (2) : 303-327.
- 21) McKinney BC, Lin H, Ding Y, et al (2018) DNA methylation age is not accelerated in brain or blood of subjects with schizophrenia. *Schizophr Res*, 196 : 39-44.
- 22) Montano C, Taub MA, Jaffe A, et al (2016) Association of DNA methylation differences with schizophrenia in an epigenome-wide association study. *JAMA Psychiatry*, 73 (5) : 506-514.
- 23) Mullins N, Forstner AJ, O'Connell KS, et al (2021) Genome-wide association study of more than 40,000 bipolar disorder cases provides new insights into the underlying biology. *Nat Genet*, 53 (6) : 817-829.
- 24) Nakachi Y, Ishii K, Bundo M, et al (2020) Use of the Illumina EPIC methylation array for epigenomic research in the crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*). *Neuropsychopharmacol Rep*, 40 (4) : 423-426.

- 25) Numata S, Ye T, Herman M, et al (2014) DNA methylation changes in the postmortem dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Front Genet*, 5 : 280.
- 26) Ori AP, Olde Loohuis LM, Guintivano J, et al (2019) Schizophrenia is characterized by age- and sex-specific effects on epigenetic aging. *bioRxiv*, doi : 10.1101/727859.
- 27) Smigielski L, Jagannath V, Rössler W, et al (2020) Epigenetic mechanisms in schizophrenia and other psychotic disorders : a systematic review of empirical human findings. *Mol Psychiatry*, 25 (8) : 1718-1748.
- 28) Talarico F, Xavier G, Ota VK, et al (2021) Aging biological markers in a cohort of antipsychotic-naïve first-episode psychosis patients. *Psychoneuroendocrinology*, 132 : 105350.
- 29) Trubetskoy V, Pardiñas AF, Qi T, et al (2022) Mapping genomic loci implicates genes and synaptic biology in schizophrenia. *Nature*, 604 (7906) : 502-508.
- 30) Ueda J, Murata Y, Bundo M, et al (2017) Use of human methylation arrays for epigenome research in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Neurosci Res*, 120 : 60-65.
- 31) van den Oord EJ, Clark SL, Xie LY, et al (2016) A whole methylome CpG-SNP association study of psychosis in blood and brain tissue. *Schizophr Bull*, 42 (4) : 1018-1026.
- 32) Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al (2004) Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, 7 (8) : 847-854.
- 33) Wu X, Ye J, Wang Z, et al (2021) Epigenetic age acceleration was delayed in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 47 (3) : 803-811.
- 34) Zheutlin AB, Dennis J, Linnér R, et al (2019) Penetrance and pleiotropy of polygenic risk scores for schizophrenia in 106,160 patients across four health care systems. *Am J Psychiatry*, 176 (10) : 846-855.

---

**■ ABSTRACT**

---

**The utilization of comprehensive DNA methylation data in schizophrenia**

Tempei Ikegame<sup>1)</sup>, Kazuya Iwamoto<sup>2)</sup>

1) *Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo*

2) *Department of Molecular Brain Science, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University*

It is believed that the onset of schizophrenia involves complex interactions between genetic and environmental factors. Epigenetic approaches, such as DNA methylation analysis, provide a method for analyzing the influence of environmental factors at the molecular level. In the field of psychiatric disorders, comprehensive DNA methylation analysis, in addition to candidate gene analysis, has been widely conducted. The accumulation of large-scale DNA methylation data has facilitated the application of various epigenetic clocks. Here, we summarize the current status of the application of epigenetic clocks in schizophrenia.

---

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 35 (2) : 73-77, 2024)

---