

## Longitudinal DNA methylation dynamics as a practical indicator in clinical epigenetics

### 臨床における実用的な指標としての DNA メチル化変動

小巻翔平<sup>1</sup>, 大桃秀樹<sup>1</sup>, 八谷剛史<sup>1</sup>, 須藤洋一<sup>1</sup>, 小野加奈子<sup>1</sup>, 古川亮平<sup>1,2</sup>, 梅影創<sup>1</sup>, 大塚-山崎弥生<sup>1</sup>, 丹野高三<sup>3,4</sup>, 佐々木真理<sup>5,6</sup>, 清水厚志<sup>1,7</sup>

1. 岩手医科大学 災害復興事業本部 いわて東北メディカル・メガバンク機構 生体情報解析部門
2. 慶應義塾大学 自然科学研究教育センター 生物学教室
3. 岩手医科大学 災害復興事業本部 いわて東北メディカル・メガバンク機構 臨床研究・疫学研究部門
4. 岩手医科大学 衛生学公衆衛生学講座
5. 岩手医科大学 災害復興事業本部 いわて東北メディカル・メガバンク機構
6. 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 超高磁場 MRI 診断・病態研究部門
7. 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生体情報解析部門

#### 【研究のポイント】

- DNA メチル化状態の安定性やその特徴を理解するために、健常者2名より3ヶ月間で24回採集した血液サンプルを用いて解析を行いました
- その結果、経時的に安定したDNA メチル化部位と安定していない部位はそれぞれ異なる生物学的意味や疾患との関わりをもつ可能性が示されました
- DNA メチル化状態の経時的な安定性は、疾患発症におけるDNA メチル化の関与を理解するうえでの新たな視点となると考えられます

#### 【概要】

DNA メチル化はDNA 分子（とくにシトシンとグアニンが並んだ部位：CpG サイト）にメチル基が付加する現象です。またメチル基が外れる場合を脱メチル化と呼びます。ヒトゲノムには約3,000万箇所のCpG サイトが存在し、受精以降にそれぞれがメチル化や脱メチル化を受けます。DNA メチル化状態は同一人物でも時間の経過や、あるいは体内の組織や細胞によって変化することが知られ、さらに喫煙などの外的要因によって変化するCpG サイトも知られています。またCpG サイトのDNA メチル化状態が変化することで、周辺の遺伝子の働きが変化する場合があります。一般的にはDNA がメチル化すると、近傍の遺伝子の働きが抑制されると考えられています。

現在は世界中で様々な疾患や環境ストレス等と関連するCpG サイトの探索が行われ、疾患の早期発見やストレスの評価、あるいは発症機序を理解するための手がかりとして注目を集めています。また老化状態や健康状態を測る指標としても活用され、生活改善などによる老化抑制や、健康状態の改善に向けた取り組みも行われています。

これらの研究は、DNA メチル化状態が個人内で変化することを前提としています。しかしながら、平常時にヒトのDNA メチル化状態がどれほど変化するのか、基礎的な理解

が欠落していました。そこで本研究では、いわて東北メディカル・メガバンク機構にて論文発表した過去のデータ (Furukawa *et al.*, 2016, DOI: 10.1038/srep26424) を再解析し、DNA メチル化の安定性を評価・考察しました。

解析したのは健常な日本人男性 2 名から 3 ヶ月間で合計 24 回採集した血液 (末梢血単核球と単球) より測定した、約 43 万箇所の DNA メチル化情報です。解析の結果、約 43 万箇所の CpG サイトのほぼ全てで、DNA メチル化率の経時変動が 10%以下に収まることになり、DNA メチル化状態は短期的に安定していることがわかりました。

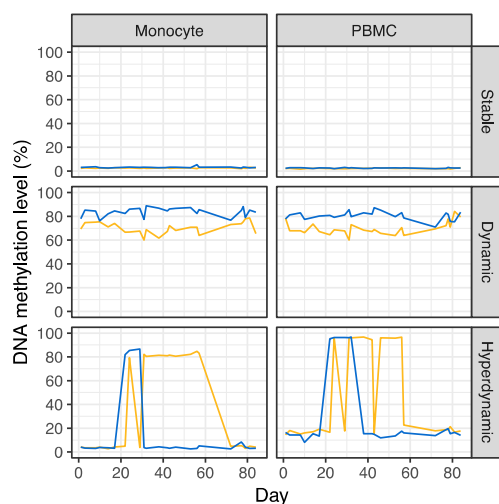


図 1. DNA メチル化率の変動パターン例. 2 名 (青・黄色) より得られた単球 (Monocyte) と末梢血単核球 (PBMC) の DNA メチル化データに基づく. 安定した CpG (Stable)、不安定な CpG (Dynamic)、変動の大きな CpG (Hyperdynamic) に分類される CpG サイトの 3 ヶ月間の変化を示す。

とくに変動幅が 1%以下の CpG サイト (図 1. Stable) はプロモーター領域に多く、遺伝子の安定した転写を担保している可能性があり、またこれらの CpG は代謝に関わる遺伝子の周辺に存在していました。これらの CpG サイトと疾患やストレスとの関連は報告例が少なく、すなわち様々な疾患・環境ストレス下でも安定した状態が維持されていると考えられます。しかしながらこれら安定した CpG サイトの多くはメタボリック症候群やうつ病を発症した人で変化すると報告されていました (図 2)。

一方で変動幅が 10%以上の CpG サイト (図 1. Dynamic および Hyperdynamic) は、従来はノイズとして扱われ注目されていませんでしたが、本研究により生物学的な意味のある変動であることが示唆されました。具体的には、これらの CpG サイトは免疫応答や炎症反応に関与する遺伝子の周辺に存在しており、実際に自己免疫疾患患者などで特徴的なメチル化状態を示すことが報告されていました (図 2)。これは、健常な人では日常的に変動する CpG サイトが、患者ではメチル化 (あるいは脱メチル化) した状態に維持されていること、それが慢性的な炎症反応に関与している可能性を示唆しています。

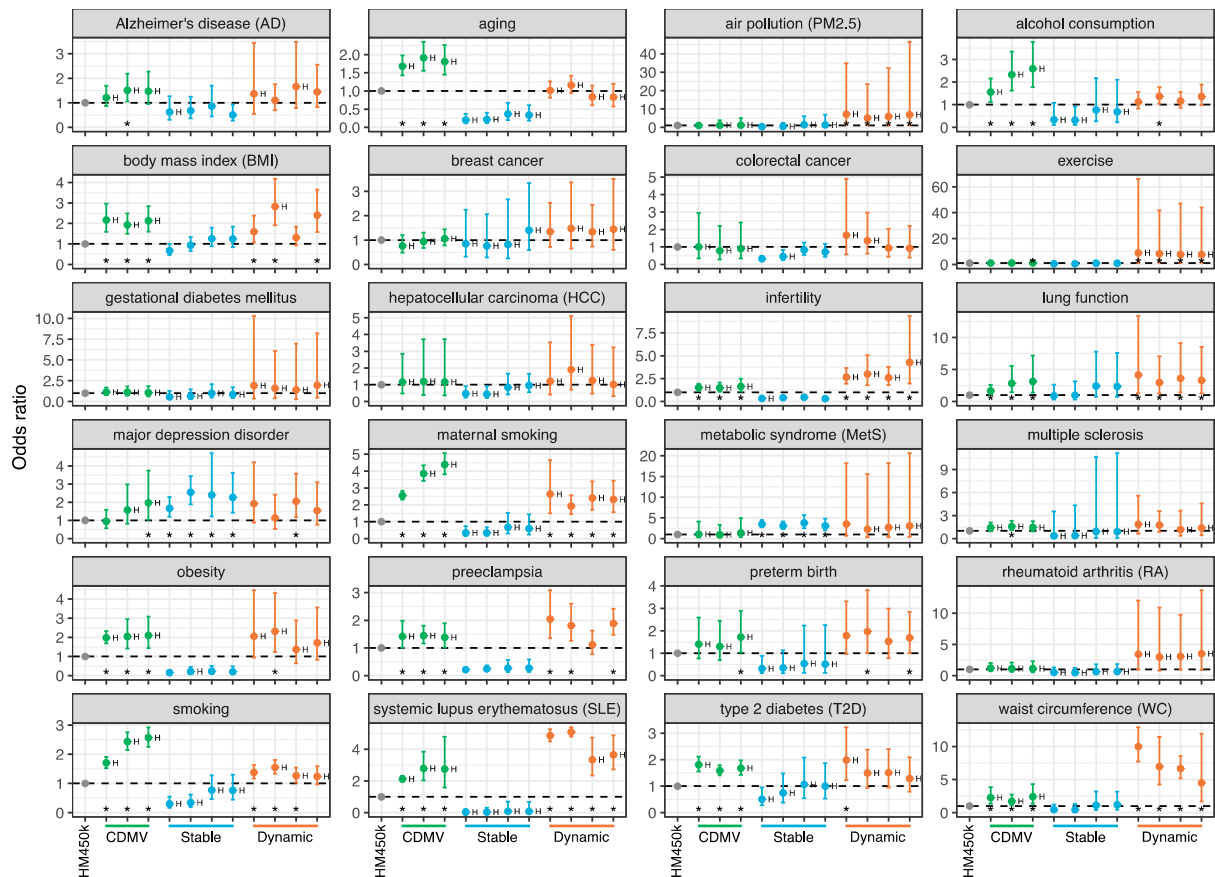


図2. DNAメチル化率の安定性と疾患との関連. 安定したCpGサイト(Stable)や不安定なCpGサイト(Dynamic)と、各種疾患で報告されているCpGサイトとの重複をオッズ比(Odds ratio)で示している. アスタリスクはオッズ比が統計的に有意に1よりも大きいことを示している. HM450kは実験に用いたマイクロアレイ(Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip)を、CDMVは個人間で変動が見られたCpGサイト(Common DNA Methylation Variation)を示している.

以上の結果から、DNAメチル化状態が安定に維持されている部分、変化しやすい部分には異なる生物学的意味があり、それぞれ異なる疾患や環境ストレスに関与している可能性が示されました。一時点で測定されたDNAメチル化状態だけでなく、経時的な特徴も考慮することで、疾患とDNAメチル化のつながりをより良く理解できると期待されます。