

死後脳空間的遺伝子発現解析に基づく動物モデル作成による精神疾患病態解明

吉永 怜史

東京慈恵会医科大学 解剖学講座

【研究の背景】

統合失調症(SCZ)は、人口の約1%が発症して長期的治療を要す。精神医学者が生物学的病気であることを示してきた一方、再現性ある神経病理学的所見に乏しい。SCZは「神経病理学者の墓場」といわれ、病態生理の全容は不明である。過去数10年の疫学研究と基礎研究の蓄積から、SCZが出生前とその後の神経発達における異常を基盤に発症する可能性が提唱されている。筆者は遺伝・環境相互作用の場として回路異常や細胞集団の異常が存在すると仮説を立てた。近年、単一細胞(核)遺伝子発現解析でヒト脳細胞の多様性が解明され始め、さらに、空間情報を保持した形で網羅的遺伝子発現解析が可能になったことから、組織中の細胞レベルの異常を分子的に解明することが可能になった。一方、ヒト死後脳研究では種々の交絡が問題となる。単に死後脳所見を記載するだけでなく、細胞集団の変化をマウスで忠実に再現して死後脳所見の病的意義を確認することで、はじめて病気の本態に迫れる。

【目 的】

SCZ患者死後脳で生じている分子的・細胞的变化を単一細胞レベルおよび空間的に把握する。動物モデルを用い、この所見と病態との因果関係を解明する。

【方 法】

福島医大ブレインバンクから供与されたSCZ患者・対照群(CON)の前帯状回について単一細胞核トランスクリプトミクス(snRNA-seq)(現時点で2例ずつ)と空間的トランスクリプトミクス(10X Genomics 社 Visium、1スポット55 μmの各スポットでトランスクリプトミクス解析)(現時点で4例ずつ)、ホルマリン固定パラフィン切片(3例ずつ)について空間的トランスクリプトミクス(Nanostring 社 GeoMx Human Whole Transcriptomics Atlas、組織染色に基づき、任意のROIにおいて18000遺伝子を解析)解析に供した。組織学的検証を併用し分子・細胞レベルの変化を検討し、i-GONAD法でゲノム編集マウスを作成した。子宮内電気穿孔法により、部位・誕生日特異的にニューロンを操作した。

【結 果】

Harmonyによるデータ統合により、Visiumの各スポットを、組織ドメイン(皮質第I層、灰白質5ドメイン、白質2ドメイン、抑制性ニューロン、皮髄境界領域、血管周囲関連クラスター、血管関連クラスター)に分類できた。皮質層マーカーを援用し、さらにII/III, V, VI層に分類できた。同時に作成した単一細胞核サンプルへのトランスアノテーションにより細胞種特異的ニッチを同定し、SCZでのアストロサイト分子シグナルの増加を見いだした。これと一致して、多くの組織ドメインでアストロサイト関連遺伝子の発現が増加していた。組織ドメイン間の比較では、抑制性ニューロンに多く発現変動遺伝子が集積していた。GeoMXでは、皮質II/III, V, VI、白質に存在するニューロンを免疫組織化学的に同定し、それぞれに発現する遺伝子を特異的に解析した。皮質層ごとのトランスクリプトームの特徴がSCZ群において消失する傾向が認められ、ニューロンの配置異常/分化異常の可能性が示唆された。白質ニューロンにおいて、一部の抑制性ニューロンマーカーの発現変化も認められた。

アストロサイトマーカーGFAPの免疫組織化学で、SCZ群において皮質第I層から灰白質中央まで長い突起を伸ばす層間アストロサイト(ILA)の形態変化と皮質II/III層のGFAP+細胞増加を認めた。マウスモデルとして、手始めに*Clu*のノックアウトマウスを成功し、今後解析予定である。また発生期のニューロン配置異常について、*Dab1* flox マウスにCreを子宮内電気穿孔法で導入し、既知の細胞自律的な移動障害だけでなく、早生まれの異常配置細胞と遅生まれの移動ニューロンの異常相互作用で連鎖的に配置異常が生じることを発見した¹⁾。さらに、白質ニューロンに対応するマウス細胞集団が適切に配置される様子を詳細に観察して従来の仮説を覆し、その分子機構を解明した。

【考 察】

SCZ患者脳において①アストロサイトの変化②灰白質ニューロンの配置/分化異常③白質ニューロンの変化を同定した。今回、単にSCZ患者における脳発生の異常や神経炎症を示唆しただけでなく、ILAの特徴的な形態からアストロサイトと広範な皮質ニューロンの相互作用変化が病態と関連するという仮説を提起する。今後、リガンド・リセプターネットワーク解析も含めた重層的な分子的解析でこの仮説を精緻化し、さらにマウスモデルに落とし込んで病態との因果関係を解明したい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

空間的トランスクリプトミクスをSCZ病態解明に本格的に活用する研究である。今後、解析を深めることで病態を分子・細胞・発生学のレベルで解明し、従来の病態仮説に依存しない診断と治療の開発につなげたい。

【参考・引用文献】

1. [Yoshinaga S](#), Honda T, Kubo K, and Nakajima K. *Dab1*-deficient deep layer neurons prevent *Dab1*-deficient superficial layer neurons from entering the cortical plate. *Neurosci. Res.*,180, 23-35 (2022).