

## 先進的解析技術を用いた精神疾患の分子細胞病態の探索

久保健一郎

東京慈恵会医科大学 解剖学講座

### 【研究の背景】

統合失調症をはじめとする精神疾患は、罹患した個人や家族のみならず、職場や地域等の周囲に与える影響が大きく、社会的な課題としての取り組みが求められている。それにもかかわらず、精神疾患の病態は依然として不明な点が多い。また、新たな作用機序に基づいた薬剤の候補が存在しないなど、治療法の開発が滞っている。その要因の一つとして、ヒトの脳サンプルを得ることが著しく困難であることが挙げられる。ヒトの脳は他の動物に比べて高度に発達しており、ヒトに特徴的な細胞も存在する(紡錘細胞、白質神経細胞、等)。このため、精神疾患の脳における分子細胞生物学的な変化を知るためには、ヒトの死後脳を用いた解析が必須である。ところが、正常の脳を含めた、研究利用が可能なヒトの脳サンプルの数が極めて少ないため、精神疾患の脳の中でどのような細胞分子的な変化が起きているのかは未だに不明な点が多い。

### 【目 的】

本研究では、統合失調症に罹患した患者と正常対照者の死後脳を用いて、組織学的解析や単一細胞解析、さらには、Visium や GeoMX DSP などの先進的な空間的遺伝子発現解析を行う。得られた大規模データを用いて、インフォマティクス解析と死後脳を用いた検証を行い、統合失調症の脳において、空間的な遺伝子発現や細胞配置が変化している細胞集団を明らかにする。これらの先進的な解析によって、統合失調症の脳に生じる分子・細胞生物学的な変化を解明することで、精神疾患の病態理解における突破口を得ることを目的とする。

### 【方 法】

精神疾患死後脳・DNA バンクから供与された、統合失調症に罹患した患者と正常対照者の凍結脳組織4例ずつの前帯状皮質について、薄切した脳組織を解析用スライドグラスに貼付けた空間的遺伝子発現解析(10X Genomics 社 Visium、解析用スライドグラス上の1スポット 55  $\mu$ m の各スポットで遺伝子発現解析)を行なった。解析結果に基づいて、統合失調症に罹患した患者と正常対照者の脳組織標本を用いて、抗体を用いた免疫組織化学法およびプローブを用いた in situ ハイブリダイゼーション(RNA スコープ)法による組織学的検証を行なった。また、統合失調症の脳において白質神経細胞増加が見られる脳部位として知られる、前障の発生過程に関しては不明な点が多いため、マウスの脳の前障の神経細胞を可視化して経時的に観察することで、前障の発生における細胞機構の解析を行った。

### 【結 果】

Visium での解析によって得られたデータそのものは、各標本による違いが大きく、例えば、同じ白質であっても、異なる遺伝子発現を示すクラスターとして分類されていた。そのため、そのままの状態では、標本間での比較が難しい状態であった。このため、標準化のためのアルゴリズムである Harmony によるデータ統合を行ったところ、Visium で解析を行ったスライドグラス上の各スポットを、共通の組織ドメインに分類し直すことができた。その結果、遺伝子発現の情報から、それぞれの組織ドメインの特徴を抽出したところ、皮質第1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された。

さらに、同じ組織を用いて行った単一細胞核の遺伝子発現解析の結果をもとに、それぞれのドメインを細胞種特異的に分類して比較した。すると、統合失調症のサンプルでは、正常対照群と比較して、アストロサイトに関連する分子であるビメンチンや GFAP (グリア細胞繊維性酸性タンパク質) の遺伝子発現が増加していることを見いだした。

この空間的遺伝子発現解析で得られた結果に基づき、統合失調症に罹患した患者と正常対照者の脳組織標本を用いて、免疫組織化学法および in situ ハイブリダイゼーション (RNA スコープ) 法による組織学的検証を行なった。アストロサイトのマーカーであるビメンチンや GFAP について検証を行ったところ、確かに統合失調症 (SCZ) のサンプルでのビメンチンおよび GFAP シグナルの増強が確認された。

前障は大脳皮質の深部に位置する領域で、近年、精神疾患やその症状との関連が報告されている。マウスの妊娠 11.5 日目に蛍光色素 (CFSE) をマウス胎児の脳室内に注入したあと、1 日ごとに経時的な観察を行った。すると、前障の神経細胞は、妊娠 14.5 日目では最終目的地である前障の位置を一度通過した後、脳の表層に配置していた。その後、妊娠 15.5 日目および妊娠 16.5 日目になると、本来の最終目的地である将来の前障の位置に分布していた。この様子を脳のスライス培養を行った上で、時間経過を追ってタイムラプス撮影を行ったところ、移動方向を反転させ、来た経路を逆向きに移動して最終目的地にたどり着くという特徴的な移動をするを見出し、論文発表を行った (Oshima, et al., *J Neurosci.* 2023)。

## 【考 察】

アストロサイトは脳実質内において、脳血管を取り巻いて血液脳関門を形成するとともに、血流、代謝の維持・調節に重要な役割を担っている。精神疾患の発症には、発生・発達段階での様々な要因が関与することが想定されているが、それらの要因によって、今回見出されたアストロサイト関連シグナルの変化が生じている可能性がある。加えて、発生・発達段階での様々な要因は、同時期に脳で進行する神経細胞移動にも影響を及ぼす可能性があり、統合失調症の前障における白質神経細胞増加が、今回見出された前障の特徴的な細胞移動に関連して生じている可能性もあると推察される。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

精神疾患、なかでも統合失調症の発症に、今回見出されたアストロサイト関連シグナルの変化がどのように関与しているのかを今後明らかにすることによって、新たな病態仮説や治療戦略、さらには薬剤の治療標的が明らかになる可能性がある。

## 【参考・引用文献】

Oshima K, Yoshinaga S, Kitazawa A, Hirota Y, Nakajima K, Kubo KI. A Unique "Reversed" Migration of Neurons in the Developing Claustrum. *J Neurosci.* 2023 Feb 1;43(5):693-708. Epub 2023 Jan 11. PMID: 36631266 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0704-22.2022