

自閉症モデルマウス RNA-seq データを用いた転移因子 L1 の大規模発現解析

仲地ゆたか

熊本大学大学院生命科学研究部 分子脳科学講座

【研究の背景】

自閉症スペクトラム (Autism Spectrum Disorder; ASD) など精神疾患では遺伝要因の強い関与が示唆されるものの、近年のゲノムワイドな遺伝解析だけでは十分に遺伝要因を説明できない。近年ゲノム中で多くの領域を占めるレトロトランスポゾンによる精神疾患の病因や病態への関与が注目されており、我々は統合失調症などの精神疾患患者死後脳におけるレトロトランスポゾン long interspersed nuclear element 1 (LINE-1, L1) の新規挿入の増加を報告している (Bundo 2014)。ヒトゲノム配列の 2 割弱を占める L1 (Cordaux 2009) は逆転写酵素など転移に必要な酵素を自身でコードし、自らの RNA を逆転写してゲノム中に新規挿入させることで、挿入先の遺伝子や周辺遺伝子の発現・スプライシング動態に影響を与える。

これまでも NGS 解析による L1 RNA 発現検出法が数多く報告されているが、多くは L1 全体の発現量を検出する手法であり、また変異が蓄積され新規転移に寄与しない L1 を参照配列している。酵素のコード領域に変異がなく全長が保存された転移可能な L1 (retrotransposition-capable L1; rc-L1) はヒトゲノム中に 146 座位、マウスゲノム中に 2,811 座位存在するため (Penzkofer 2017)、座位ごとの rc-L1 の発現解析が可能な手法が必要であった。

我々は、これまで開発してきた L1 新規挿入同定法 (MORE 法; mobile element originated read enrichment) の知見を元にこれまでに同定された rc-L1 を独自に精査して L1 解析用 reference を構築し、様々な既存 RNA-seq データから rc-L1 発現を同定可能な MORE-RNAseq (Mobile-Element Originated Reads Enrichment RNA sequencing) 法を開発した (Nakachi 2025)。本方法では実験時のライブラリ調整やプラットフォームに依存せず、既存のヒトおよびマウス RNA-seq データを利用し再解析することが可能であり、また、多くの類似手法では不可能なゲノム中の個別の rc-L1 の発現解析が可能である。この手法を用いて、公共データベースにすでに登録されている ASD モデルマウスや ASD 関連遺伝子に関する RNA-seq データを網羅的に解析することで、ASD の病因や病態における L1 の関与についての新たな知見が得られると考えられた。

【目 的】

申請者が新規開発した LINE-1 発現解析法である MORE-RNAseq 法を用いて、ASD スペクトラムモデルマウス脳由来 RNA-seq データを用いた LINE-1 発現解析を網羅的に行い、LINE-1 と自閉症関連遺伝子との統合的な発現動態とその相互作用を明らかにする。

【方 法】

本研究では RNA-seq データから転移可能な全長 L1 の発現解析パイプラインである MORE-RNAseq 法により、公開されている ASD モデルマウス脳由来 RNA-seq データを収集し、rc-L1 の発現解析を行った。ASD 関連データベース SFARI (<https://gene.sfari.org>) において登録された ASD 関連ヒト遺伝子群の中から、Rolland *et al.* (2023) にて高 Odds Ratio を示した loss-of-function 遺伝子群に特に着目し、相同遺伝子のノックアウトマウス脳由来 RNA-seq データを公共データベース GEO および SRA から網羅的に収集した。

各データセットについて、品質コントロールや不要配列除去などの前処理を行い、MORE-RNAseq 法により rc-L1 と通常遺伝子の発現変化を検出し、ノックアウトした遺伝子との機能的相関や全発現変化への寄与率などを解析した。

計算環境には Nabe international 社の Takeru Lite for Sequencer (CentOS 7.4) を使用した。

【結 果】

SFARI に ASD 関連遺伝子として登録されたヒト自閉症関連遺伝子 1,176 遺伝子中における、Rolland *et al.* (Nature Med 2023) にて検証された遺伝子 148 個のうち、相同遺伝子におけるノックアウトマウス脳由来 RNA-seq データについて 55 遺伝子についての変異マウスデータ (計 50 件) が利用可能であり、合計 438 サンプルの RNA-seq データが取得できた。

このデータセットを用いて、各遺伝子変異マウスでの L1 の総発現量を wild type マウスと比較したところ、3 遺伝子 (*Arid1b*, *Csnk2a1*, *Slc6a1*) にて発現の亢進が、また 6 遺伝子 (*Grin2b*, *Kcnma1*, *Rfx3*, *Scn2a*, *Tcf20*, *Tsc2*) にて発現の減少が検出された。

加えて、50 データセットのうち、11 データセットにおいて 6 番染色体上に位置する特定の L1 (chr6:35, 349, 395-35, 338, 998) による発現が共通して検出された。また各データセットで発現変化を示した L1 について、当該 L1 座位を遺伝子内部に有する遺伝子群を用いて Gene Ontology 解析を行ったところ、シナプス関連の機能が有意に集積していることがわかった。

【考 察】

本研究に先立ち、すでに予備的解析から *Ash1l* や *Shank3* といった ASD 関連遺伝子の変異によって有意に発現変化を示す rc-L1 が同定されていたが、それらに加えて今回 9 つの ASD 関連遺伝子の変異により L1 の発現変化を同定することができた。L1 による ASD 病態・病因への関与はまだ不明な点が多く残されているが、MORE-RNAseq 法による発現解析に加えてゲノム解析・エピゲノム解析を統合したゲノム研究のアプローチにより、未解明な病態部分への新たな知見が飛躍的に集積できると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

今後もこのような L1 を網羅的に同定していくことで ASD における発症機序の解明、層別化や創薬標的の開発への新たな知見を得ることが可能になる。

【参考・引用文献】

1. Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, *et al.* Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron*. 2014; 81(2):306-13.
2. Cordaux R and Batzer MA. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet* 2009; 10(10):691-703.
3. Penzkofer T, Jäger M, Figlerowicz M, *et al.* L1Base 2: more retrotransposition-active LINE-1s, more mammalian genomes. *Nuc Acid Res* 2017; 45(D1) D68-D73.
4. Nakachi Y, Du J, Watanabe R, *et al.* MORE-RNAseq: a pipeline for quantifying retrotransposition-capable LINE1 expression based on RNA-seq data. *Front Bioinform* 2025; 5:1575346.
5. Rolland T, Cliquet F, Anney RJL, *et al.* Phenotypic effects of genetic variants associated with autism. *Nature Med* 2023; 29(7):1671-1680.