

特集 2 精神疾患研究におけるヒト iPSC 研究最前線

1. bHLH 型転写因子による神経分化プラットフォームを用いた神経疾患解析へのアプローチ

石川 充*

抄録: ヒト人工多能性幹細胞 (induced-Pluripotent Stem : iPS) 細胞を利用した *in vitro* での細胞分化技術を用いた研究は、疾患患者特異的な細胞を観察・操作できる点から、中枢神経系研究においては有用性の高い手段といえる。しかし、*in vitro* での神経疾患のモデル化には未だ課題が多い。その理由のひとつとして、ヒト多能性幹細胞からのサブタイプ特異的な神経細胞分化誘導の技術が未だ発展途上なためでもある。本研究では NEUROG2 や ASCL1 といった basic-Helix-Loop-Helix (bHLH) 型転写因子に代表される分化マスター因子の遺伝子導入による神経細胞分化を行うことで、精神疾患の病態や創薬スクリーニングを加速する研究プラットフォームを紹介し、その有用性と今後の課題について述べる。

日本生物学的精神医学会誌 34 (2) : 72-74, 2023

Key words : bHLH transcription factor, Tet-On, NEUROG2, ASCL1, scRNA-seq

1. ヒト ES/iPS 細胞からの神経分化技術の概観と精神疾患モデリングの試み

脳を構成する細胞は、いくつかの例外を除き、発生学的には外胚葉由来である。培養皿内でヒト ES/iPS 細胞から神経外胚葉へ分化させる方法としてもっとも一般的なものが、2 経路の SMAD (Dual-SMAD : 1. Activin/Nodal および 2. BMP) シグナル阻害法である¹⁾。一方、創薬スクリーニングの現場では、標的神経サブタイプへ迅速な分化誘導を促す方法も利用されている。bHLH 型転写因子に代表される分化マスター遺伝子を導入する方法はこの典型といえる。

ここ 10 年ほどの間、統合失調症患者由来 iPSC 細胞を用いた実験では、神経幹細胞から神経細胞への終末分化が十分に進まないという報告が複数なされている。すなわち健常者と比較すると、神経細胞数の存在割合が低かったり、神経突起の進展が不十分であったりする²⁾。実際に筆者らも Reelin (RELN) 遺伝子のコピー数異常の統合失調症患者、および protocadherin 15 (PCDH15) 遺伝子のコピー数異常の双極性障害患者由来の iPSC 細胞を用いて、Dual

-SMAD シグナル阻害の神経分化を行ったところ、神経細胞の突起進展が不十分であった³⁾。

この結果は精神疾患が神経発達過程で生じる表現型をもつという意味で重要である一方、実際に脳の中でそのように劇的に神経突起の進展異常があるという明確な剖検報告は見当たらない (一方で、スパイン形態に関する所見は存在する)。そのため、実質的にこの表現型だけを指標に病態研究や治療法開発に臨むのは難しい。さらに、この状態のままでは、スパイン形態やネットワーク解析など、まさに対象としたい表現型へのアプローチが困難である。そこで ES/iPS 細胞から体性“幹”細胞培養を介さずに直接的に標的終末分化細胞に転換させる分化法として bHLH 型転写因子の遺伝子導入が効力を発揮する。ここでは、neurogenin2/ngn2 (NEUROG2) についての活用例を述べる。

2. bHLH 型転写因子導入による神経細胞分化誘導

神経細胞の初期分化時に高発現する NEUROG2 などの bHLH 型転写因子を遺伝子導入することで、

Analysis of Psychiatric Diseases Using Neuronal Cell Induction Technology with bHLH-type Transcription Factors

*慶應義塾大学医学部生理学教室 (〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35) Mitsuru Ishikawa : Department of Physiology, Keio University School of Medicine. 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan

【石川 充 E-mail : ishimi@keio.jp】

ルブミン⁺GABA 神経細胞, ソマトスタチン⁺GABA 神経細胞などの作出を継続して試みている。これを応用すると, 健常と疾患とで異なる細胞種ごとの共培養を行うことで, どの神経サブタイプに精神疾患の病態中心があるのかを見いだす手がかりにもなるかもしれない。一方, 実際の脳機能を再現するにはそれらの細胞の適切な組み合わせからなる複雑なネットワークにまで拡大する必要がある。また, エピジェネティック制御や外部入力依存的な神経発生機構, さらにはグリア・血管系細胞の関与も考慮する必要はある。今後は遺伝子導入法をさらに応用して, 脳オルガノイドや, 動物脳への移植実験も組み合わせるべきであろう。

本論文の研究は主に慶應義塾大学医学部生理学教室 (岡野栄之研究室) で行われた。また, 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) Chambers SM, Fasano CA, Papapetrou EP, et al (2009) Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nat Biotechnol*, 27 (3) : 275-280.
- 2) Dubonyte U, Asenjo-Martinez A, Werge T, et al (2022) Current advancements of modelling schizophrenia using patient-derived induced pluripotent stem cells. *Acta Neuropathol Commun*, 10 (1) : 183.
- 3) Ishii T, Ishikawa M, Fujimori K, et al (2019) In vitro modeling of the bipolar disorder and schizophrenia using patient-derived induced pluripotent stem cells with copy number variations of PCDH15 and RELN. *eNeuro*, 6 (5) : ENEURO.0403-18.2019.
- 4) Ishikawa M, Aoyama T, Shibata S, et al, (2020) miRNA-based rapid differentiation of purified neurons from hPSCs advances towards quick screening for neuronal disease phenotypes in vitro. *Cells*, 9 (3) : 532.
- 5) Yang N, Chanda S, Marro S, et al (2017) Generation of pure GABAergic neurons by transcription factor programming. *Nat Methods*, 14 (6) : 621-628.
- 6) Yoo AS, Sun AX, Li L, et al (2011) MicroRNA-mediated conversion of human fibroblasts to neurons. *Nature*, 476 (7359) : 228-231.
- 7) Zhang Y, Pak C, Han Y, et al (2013) Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells. *Neuron*, 78 (5) : 785-798.

■ ABSTRACT

Analysis of Psychiatric Diseases Using Neuronal Cell Induction Technology with bHLH-type Transcription Factors

Mitsuru Ishikawa

Department of Physiology, Keio University School of Medicine

In vitro neuronal differentiation from induced pluripotent stem (iPS) cells is a highly useful technology in neuronal disease research since it allows observation and manipulation of patient-specific cells. However, there are still many challenges in disease modeling *in vitro*. One of the major reasons is that the technology for inducing subtype-specific neuronal differentiation from iPS cells still needs to be improved. In this study, we introduce a research platform for pathophysiology of psychiatric disorders and drug screening by using gene transfer of bHLH (basic-Helix-Loop-Helix) type transcription factors such as NEUROG2 and ASCL1, and discuss its usefulness and future challenges.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (2) : 72-74, 2023)