

特集 1 脆弱性とレジリエンスの精神疾患研究

2. 発症リスクバリエントを有する精神疾患患者で
引き起こされる共通の神経発達異常有岡 祐子^{1, 2)}

抄録: ゲノム解析技術の進歩により、精神疾患の発症に強くかかわるゲノムバリエントが次々と同定されている。精神疾患の病態メカニズムを明らかにするためには、これら発症リスクバリエントがもたらす脳の変化をひとつずつ多方面から紐解いていくことが必要である。そのアプローチのひとつとして iPS 細胞がある。精神疾患研究における iPS 細胞の知見が蓄積されるにつれ、リスクバリエントを有する患者の発達期神経系細胞では、共通して突起伸長低下やシナプス形成低下、遊走異常など、神経発達異常の表現型が得られることが明らかとなってきた。つまり、分子・細胞レベルでの小さな神経発達異常が脆弱性となり、精神疾患発症に寄与している可能性が考えられる。本稿ではリスクバリエントを有する iPS 細胞を用いることで明らかとなってきた精神疾患研究の現状と今後について述べる。

日本生物学的精神医学会誌 34 (3) : 102-106, 2023

Key words : mental disorder, genomic study, risk variant, iPS cell, neuronal development

1. 精神疾患とリスクバリエント

精神疾患の根本的治療法の開発は、患者およびその家族の切なる願いである。これを実現するためには、精神疾患の根底にある生物学的なメカニズムを理解することが必要である。しかし、生きているヒトの脳を研究する限界と、精神疾患の動物モデルの限界が、精神疾患における生物学的研究の発展を制限してきた。こういった背景の中、ゲノム解析技術の進歩が相まることで、精神疾患の発症に強くかかわるゲノムバリエントが次々と同定され、精神疾患のメカニズム解明の糸口を提供している。その中でも筆者の所属する研究室で着目しているのは、発症へのエフェクトサイズが大きい *de novo* やまれなバリエントである。

ここ 10 年の間で、統合失調症 (SCZ) や自閉スペクトラム症 (ASD) を含むほとんどの精神疾患の発症には *de novo* やまれなバリエントが関与していることが明らかとなってきた^{10, 20)}。*de novo* やまれなバリエントは言葉のとおり出現頻度は 1% 未満と

低く、その遺伝子がコードするタンパク質の機能や発現に影響を及ぼすことが多い。これら発症のリスクバリエントがもたらす脳の変化を理解できれば、精神疾患の理解につながると考えられる。

しかし、これは簡単に解決できる課題ではない。遺伝的観点から精神疾患を理解するためには、リスクバリエントの機能的影響を明らかにするだけでなく、そのリスクバリエントが、脳内のどの細胞種あるいはどの領域、さらにはどのような時期にどのように協調しながら脳に影響を及ぼしているのかを明らかにしなければならない。さらに脳には分子から細胞、構造に至るまでヒト特異性が存在する^{9, 12, 13)}。これらをどのように打開するか。「一度に解決できる方法はない」というのが正解だろう。上述したピースをひとつずつ明らかにしていき、そのピースを包括的に理解して全体像のパズルを読み解いていく必要がある。そのために、疾患モデル動物や脳画像、死後脳解析、iPS 細胞など多方面から精神疾患の病態メカニズムにアプローチがなされているのは言うまでもない。本稿ではパズルのひとつのピース、特

Common neurodevelopmental abnormalities in patients with mental disorders carrying risk variants

1) 名古屋大学大学院医学系研究科 精神疾患病態解明学 (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Yuko Arioka : Pathophysiology of Mental Disorders, Nagoya University Graduate School of Medicine. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

2) 名古屋大学医学部附属病院 先端医療開発部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Yuko Arioka : Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8560, Japan

【有岡 祐子 E-mail : ariokay@med.nagoya-u.ac.jp】

に患者 iPS 細胞に焦点をおいて、リスクバリエントを起点とした精神疾患研究の現状と展望を述べる。

2. iPS 細胞から紐解く リスクバリエントがもたらす神経発達異常

iPS 細胞のメリットは、ほぼ無限に近い形で増殖できること、そしてさまざまな細胞に分化できることである。特に精神疾患研究において iPS 細胞を用いるメリットは、患者由来の神経系細胞を生きた状態で解析できること、そして、由来となった患者の遺伝的背景を保持していることだろう。これらのメリットは、「精神疾患発症リスクバリエントをもつ患者の脳では何が起きているのか?」という問いに対し、分子・細胞レベルでの解を導き出してくれると期待される。

ここでひとつ考慮すべきことがある。iPS 細胞から誘導した神経系細胞は遺伝子発現の観点からすると胎児期の脳に近いことである^{4, 11, 23)}。つまり、iPS 細胞由来の神経系細胞は、患者の成人期の脳を反映しているとは言いにくい。そして実際に iPS 細胞から作られた神経系細胞は機能的にも未熟である。これはデメリットでもあるが、一方で、この特性を生かすことでリスクバリエントを有する患者の発達期の神経系細胞では、すでに健常者とは異なる表現型が生じることが見いだされている。

もっとも再現性よく報告がされているのは、神経突起長やシナプス形成など神経細胞の形態異常である。16p11.2 欠失および重複⁸⁾、22q11.2 欠失^{3, 22)}、1q21.1 欠失および重複⁵⁾ など SCZ や ASD の発症リスクバリエントを有する患者 iPS 細胞から誘導した神経系細胞では、健常者由来と比べて突起長が短く、シナプス形成不全が共通して認められている。また、筆者らは 2,940 例の SCZ 患者と健常者 2,402 例を対象とした全ゲノム解析の結果、新規の SCZ 発症リスクバリエントとして *ARHGAP10* 遺伝子のバリエントを同定し、当該 *ARHGAP10* バリエントを有する患者 iPS 細胞から誘導した神経細胞でも突起伸長の低下が認められた¹⁹⁾。つまり、神経細胞の突起伸長の低下は、リスクバリエント横断的な患者での表現型であると言えるだろう。

このように、リスクバリエントを有する患者の神経細胞では発達期の段階ですでに健常者と差異が存在する知見が蓄積されてきているが、神経突起伸長やシナプス形成に加え、発達期の脳内で起こる別のイベントとして神経細胞遊走がある。この機構は、脳構造および回路を正確に構築するために厳密に制

御されているとされており、その破綻は滑脳症など重度な発達障害を引き起こすほか、精神疾患の発症にも寄与するとされている¹⁵⁾。では、リスクバリエントを有する患者の神経細胞は細胞遊走異常を起こすのか? 答えは「Yes」だと筆者は考える。その根拠となる筆者らの研究成果を簡単にではあるが以下に紹介したい。

リーリンは発達期の神経細胞の遊走機構を制御する因子のひとつである。精神疾患患者を対象とした大規模なゲノム解析により、リーリンをコードする *RELN* のバリエントが SCZ や ASD の発症に関与することが示唆されている^{6, 14)}。さらに、マウスを用いた研究によっても *RELN* のバリエントが精神疾患に関与していることが考えられる^{18, 21)}。しかしながら、実際に *RELN* のバリエントを有する患者では脳内でどのようなことが生じているかは不明であった。そこで筆者らは、*RELN* 欠失が同定された SCZ 患者から iPS 細胞を樹立するとともに、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 によって患者を模倣した *RELN* 欠失 iPS 細胞を作製し、神経細胞へと誘導・解析を行った。

RELN 欠失 iPS 細胞から誘導した神経細胞 (*RELN* 欠失神経細胞) はリーリンの下流シグナル異常を呈し、さらに、細胞の動きに関連する遺伝子群の発現減少が認められた。次に、個々の神経細胞の動きを定量的に理解するため、ライブイメージングによる一細胞単位の遊走軌道解析に取り組んだ。その結果、健常者では動きの方向性が安定しているのに対し、*RELN* 欠失神経細胞は移動方向が定まらないことが明らかとなった¹⁾ (図 1 移動角度解析)。さらに、細胞の形態と動きとの相関を解析したところ、健常者では形態の方向性にしがって移動するのに対し、*RELN* 欠失神経細胞ではそのルールが破綻していた²⁾ (図 1 細胞形状と移動方向の関連解析)。これらの現象は、*RELN* 欠失患者由来の iPS 細胞およびゲノム編集 *RELN* 欠失 iPS 細胞から誘導した神経細胞のどちらでも認められた。これらの研究成果から言えることは、iPS 細胞から誘導した神経細胞であっても、健常者では一細胞単位から厳密な遊走機構が維持されており、精神疾患発症のリスクバリエントである *RELN* 欠失によりそれが破綻されるということである。

ここで次の疑問が生じる。「この患者は細胞遊走を制御するリーリンが欠失しているから神経細胞遊走異常が生じているのであって、リーリンが欠失していない患者では神経細胞遊走異常は生じないのであるか?」この問いに対し、筆者らは「No」と

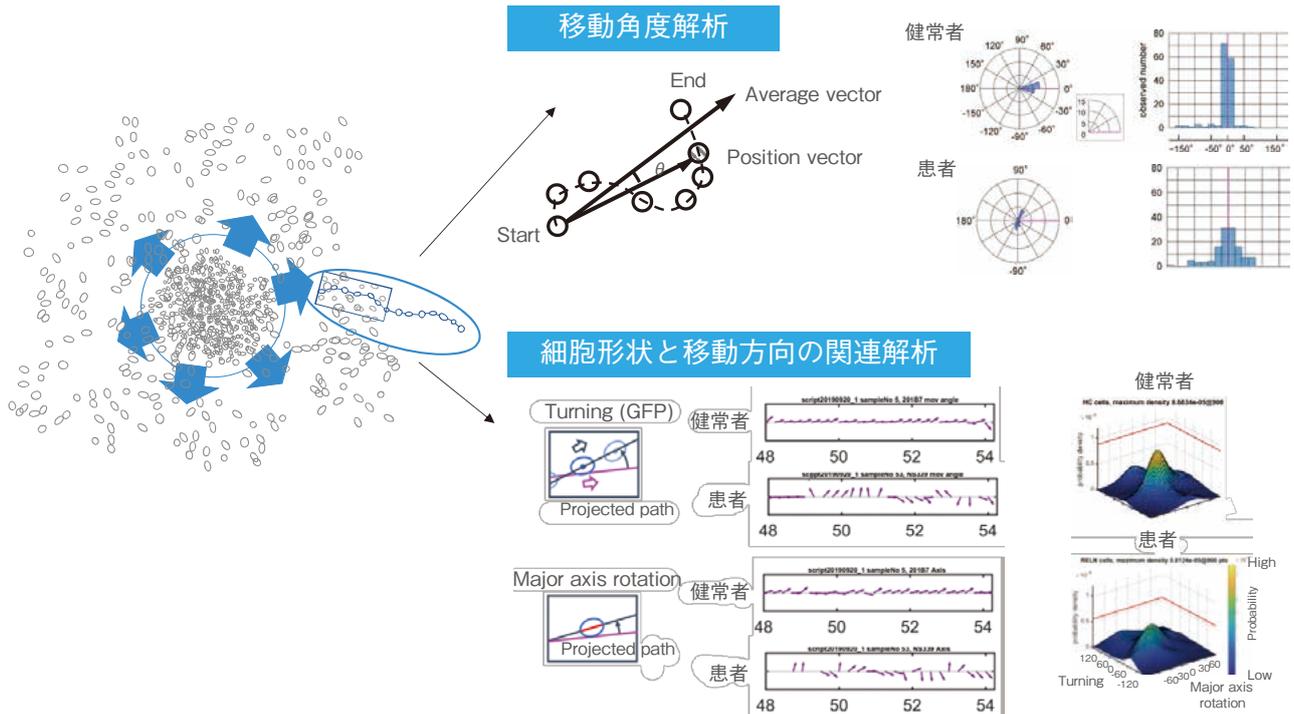


図1 RELN 欠失ヒト神経細胞の遊走異常 (文献1, 2より引用)

答える。リーリンが欠失していない患者であっても細胞遊走異常は認められる。筆者らは *RELN* 欠失患者に加え、その他さまざまなリスクバリエントを有する患者 iPS 細胞を用いて多方面から神経細胞の遊走解析を行ったところ、リスクバリエント横断的な遊走異常を見いだしている。未発表データのため本稿では紹介しないが、後日発表する機会を得られれば幸いである。

3. リスクバリエント横断的な表現型

近年、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 の普及もあって、iPS 細胞由来神経系細胞におけるリスクバリエントの機能解析が増えている。例えば、ASD 発症リスク遺伝子 (*AFF2/FMR2*, *ANOS1*, *ASTN2*, *ATRX*, *CACNA1C*, *CHD8*, *DLGAP2*, *KCNQ2*, *SCN2A*, *TENM1*) をひとつずつ欠失させた iPS 細胞を作製し、それぞれ神経細胞へと誘導させ解析した報告がある。この研究では、ASD のリスクバリエント横断的に収斂する分子パスウェイとして neuron projection development が同定されるとともに、共通する表現型としてはシナプスの活動低下が認められた⁷⁾。さらに、患者由来の iPS 細胞を用いて、リスクバリエント横断的な解析の試みもされはじめている。脳オルガノイドを用いて、異なるリスクバ

リエントで表現型が収斂する細胞種を解析したところ、ASD の発症リスクである SYV420H1, ARID1B, CHD8 のバリエントは共通して GABA ニューロンと deep-layer excitatory projection neurons の発生異常を生み出すことが見いだされた¹⁶⁾。これら成果は、異なるリスクバリエントであっても精神症状として同様の ASD になるメカニズムに切り込んだ成果と言えるだろう。今後このようなアプローチの研究が増えていくと予想され、注目していきたい。

最後に

これまでの iPS 細胞を用いた精神疾患研究では、個々のリスクバリエントに着目したアプローチが主であったが、知見が増えていくにつれ、リスクバリエントに関係なく神経発達異常という共通の表現型が存在することが明らかになってきている。ひとつひとつは分子・細胞レベルの小さな異常かもしれないが、これが精神疾患発症への脆弱性を生み出していると考えられる。神経突起伸長や細胞遊走などは発達期のイベントであり、成人期の患者の脳を反映していないのは事実であるが、発達期の変化を理解することが精神疾患の病態メカニズムの根底を明らかにする糸口だと期待される。筆者のこの戦略を支持するように、リスクバリエントによって変化する

ヒト神経発達初期の転写プログラムが、精神疾患と関与する遺伝子に集積すること、そしてその後のヒトでの成熟神経機能に影響をもたらすことが報告されている¹⁷⁾。つまりは、患者 iPS 細胞から得られる分子情報は、神経発達期だけに限ったことではなく、創薬標的にもなりうると言えるだろう。引き続き、リスクバリエーション、特にリスクバリエーション横断的な解析を進めていき、未だ明らかにされない精神疾患の病態メカニズムというパズルの解明をめざす。

本論文に記載し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) Arioka Y, Shishido E, Kubo H, et al (2018) Single-cell trajectory analysis of human homogenous neurons carrying a rare RELN variant. *Transl Psychiatry*, 8 : 129.
- 2) Arioka Y, Shishido E, Kushima I, et al (2020) Cell body shape and directional movement stability in human-induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons. *Sci Rep*, 10 : 5820.
- 3) Arioka Y, Shishido E, Kushima I, et al (2021) Chromosome 22q11.2 deletion causes PERK-dependent vulnerability in dopaminergic neurons. *EBioMedicine*, 63 : 103138.
- 4) Brennand K, Savas JN, Kim Y, et al (2015) Phenotypic differences in hiPSC NPCs derived from patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 20 : 361-368.
- 5) Chapman G, Alsaqati M, Lunn S, et al (2022) Using induced pluripotent stem cells to investigate human neuronal phenotypes in 1q21.1 deletion and duplication syndrome. *Mol Psychiatry*, 27 : 819-830.
- 6) De Rubeis S, He X, Goldberg AP, et al (2014) Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 515 : 209-215.
- 7) Deneault E, White SH, Rodrigues DC, et al (2018) Complete disruption of autism-susceptibility genes by gene editing predominantly reduces functional connectivity of isogenic human neurons. *Stem Cell Reports*, 11 : 1211-1225.
- 8) Deshpande A, Yadav S, Dao DQ, et al (2017) Cellular phenotypes in human iPSC-derived neurons from a genetic model of autism spectrum disorder. *Cell Rep*, 21 : 2678-2687.
- 9) Fang R, Xia C, Close JL, et al (2022) Conservation and divergence of cortical cell organization in human and mouse revealed by MERFISH. *Science*, 377 : 56-62.
- 10) Fu JM, Satterstrom FK, Peng M, et al (2022) Rare coding variation provides insight into the genetic architecture and phenotypic context of autism. *Nat Genet*, 54 : 1320-1331.
- 11) Griesi-Oliveira K, Fogo MS, Pinto BGG, et al (2021) Transcriptome of iPSC-derived neuronal cells reveals a module of co-expressed genes consistently associated with autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry*, 26 : 1589-1605.
- 12) Hodge RD, Bakken TE, Miller JA, et al (2019) Conserved cell types with divergent features in human versus mouse cortex. *Nature*, 573 : 61-68.
- 13) Kaiser T and Feng G (2015) Modeling psychiatric disorders for developing effective treatments. *Nat Med*, 21 : 979-988.
- 14) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al (2017) High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry*, 22 : 430-440.
- 15) Pan YH, Wu N and Yuan XB (2019) Toward a better understanding of neuronal migration deficits in autism spectrum disorders. *Front Cell Dev Biol*, 7 : 205.
- 16) Paulsen B, Velasco S, Kedaigle AJ, et al (2022) Autism genes converge on asynchronous development of shared neuron classes. *Nature*, 602 : 268-273.
- 17) Sanders B, D'Andrea D, Collins MO, et al (2022) Transcriptional programs regulating neuronal differentiation are disrupted in DLG2 knockout human embryonic stem cells and enriched for schizophrenia and related disorders risk variants. *Nat Commun*, 13 : 27.
- 18) Sawahata M, Mori D, Arioka Y, et al (2020) Generation and analysis of novel Reln-deleted mouse model corresponding to exonic Reln deletion in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 74 : 318-327.
- 19) Sekiguchi M, Sobue A, Kushima I, et al (2020) ARHGAP10, which encodes Rho GTPase-activating protein 10, is a novel gene for schizophrenia risk. *Transl Psychiatry*, 10 : 247.
- 20) Singh T, Walters JTR, Johnstone M, et al (2017) The contribution of rare variants to risk of schizophrenia in individuals with and without intellectual disability. *Nat Genet*, 49 : 1167-1173.

- 21) Sobue A, Kushima I, Nagai T, et al (2018) Genetic and animal model analyses reveal the pathogenic role of a novel deletion of RELN in schizophrenia. *Sci Rep*, 8 : 13046.
- 22) Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, et al (2016) Analysis of induced pluripotent stem cells carrying 22q11.2 deletion. *Transl Psychiatry*, 6 : e934.
- 23) Urresti J, Zhang P, Moran-Losada P, et al (2021) Cortical organoids model early brain development disrupted by 16p11.2 copy number variants in autism. *Mol Psychiatry*, 26 : 7560–7580.

■ ABSTRACT

Common neurodevelopmental abnormalities in patients with mental disorders carrying risk variants

Yuko Arioka^{1,2)}

1) *Pathophysiology of Mental Disorders, Nagoya University Graduate School of Medicine*

2) *Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital*

Advances in genomic analysis technologies have led to the identification of a number of genomic variants that are strongly associated with the pathogenesis of mental disorders. In order to elucidate the pathological mechanisms of mental disorders, it is necessary to unravel the changes in brains caused by these risk variants from various aspects. One of the approaches is the used of iPS cells. As more and more findings are reported by using iPS cells in mental disorder research, it has become clear that neuronal cells derived patients with risk variants share a common phenotype of neurodevelopmental abnormalities such as in neurite elongation, synaptic function, and neuronal migration. Small abnormalities at the molecular and cellular levels in developing brain may be vulnerability for the onset of mental disorders. In this article, we discuss the trend and future of research on mental disorders using iPS cells with risk variants.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (3) : 102–106, 2023)
