

## 特集 2 精神神経疾患における体細胞変異研究の最前線

## 2. 血中体細胞モザイクは精神疾患と関連するのか

内山 竣介\*, 寺尾知可史\*

**抄録:** 近年のゲノム解析により、健常者において加齢とともにクローン造血の特殊な状態である血中体細胞モザイクが増加し、造血器腫瘍の発生リスクとなることが明らかとなった。正常脳の神経細胞においても、神経発生のさまざまな段階において一塩基レベルでの体細胞変異が蓄積していることに加え、DNMT3A などクローン造血に関連する変異が多いことが明らかになった。この結果は正常脳においても加齢と共に体細胞モザイクが蓄積することを示唆する。自閉症スペクトラム障害 (ASD) や統合失調症など精神疾患では、一塩基レベルや染色体レベルでの血中・脳の体細胞モザイクが増加していることが報告されており、病気の発症リスクになると考えられている。本稿では、正常脳の神経細胞における体細胞モザイクの関連を説明したうえで、一塩基レベル / 染色体レベルでの体細胞モザイクと、ASD、統合失調症の関連について最新の話題を解説した。

日本生物学的精神医学会誌 34 (4) : 156-160, 2023

**Key words :** somatic mutations, somatic mosaicism, neurodevelopmental disease, autism spectrum disorder, schizophrenia

## 緒言

近年、正常な加齢に伴い後天的な遺伝子変異をもつ造血幹細胞や前駆細胞がクローン性に増殖する現象であるクローン造血が注目されている。体細胞モザイクはクローン造血の特殊な病態であり、後天的な変異をもつ細胞やもたない細胞が混在した、いわゆる“モザイク”の状態である。体細胞モザイクは一塩基レベルだけでなく染色体レベルにも及び、後者を mosaic chromosomal alterations (mCA) とよぶ。近年、次世代シーケンサーの技術の進歩や DNA マイクロアレイの解像度が高くなったことで、個体や組織、またシングルセルレベルでこのような後天的な変異を同定することが可能となった。

mCA は腫瘍細胞において以前から観察され、悪性腫瘍の共通の徴候であることはわかっていたが<sup>7)</sup> 正常組織における生物学的な意義はわかっていたなかった。mCA を高感度に同定するためにロングレンジハプロタイプフェージングを用いた解析手法が開発され<sup>9)</sup>、この手法をバイオバンクレベルでの大規

模な DNA マイクロアレイのデータに使用することで、健常人においても mCA が加齢とともに増加し、造血器腫瘍の発生リスクとなることが明らかとなってきた<sup>9, 15)</sup>。

近年血液以外の組織においても体細胞変異が同定されており、健常のヒトの脳においても体細胞モザイクが存在することがわかってきた。ヒトの脳には約 860 億個の神経細胞があるが<sup>1)</sup>、個々のニューロンに数百万もの体細胞変異が存在することで多様性を生むことが知られている<sup>3, 8)</sup>。また、体細胞変異は多様性を生むよい側面だけではなく、神経変性疾患の発症リスクになることも報告されている。本稿では、まずはじめに正常脳における体細胞変異に関して述べた後、精神疾患と体細胞モザイクのかかわりを説明したい。

## 1. 正常脳の神経細胞における体細胞変異

近年脳の神経細胞のさまざまな発生段階において、単一細胞レベルで全ゲノム解析を行い、正常脳

Somatic mosaicism in blood and neurodevelopmental disease

\* 理化学研究所生命医学研究センター ゲノム解析応用研究チーム (〒 230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-7-22) Shunsuke Uchiyama, Chikashi Terao : RIKEN Center for Integrative Medical Science Laboratory for Statistical and Translational Genetics. 1-7-22 Suehiro, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

【内山 竣介 E-mail : s-uchiya@nms.ac.jp】

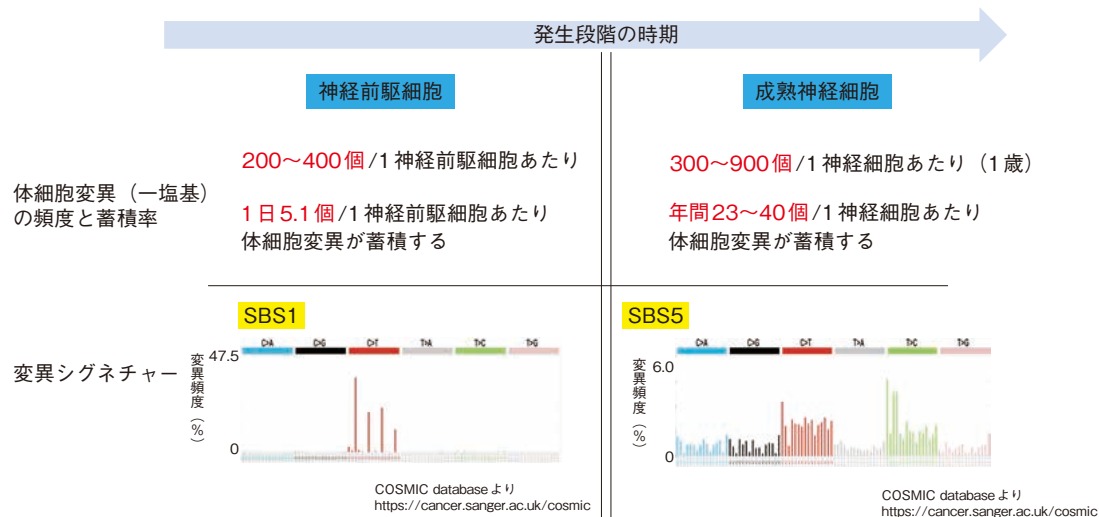


図1 異なる発達段階における脳の神経細胞のモザイクの頻度と変異シグネチャー

正常の脳の神経細胞では胎児期から成人期にわたり、異なる発生段階において一塩基レベルでの体細胞変異が蓄積する。また、正常脳における変異シグネチャーに関しては、神経発生の初期には加齢に伴って脱アミノ反応により CpG 部位に獲得される C > T 変異に特徴づけられる SBS1、成人期には加齢に伴って増加する SBS5 を認める (文献 3, 8 をもとに作成)。

の神経細胞における体細胞変異が同定されてきた (図 1)。Bae らは胎児の脳の神経細胞に注目し、受胎後 15 週から 21 週の死亡した胎児の脳の神経細胞からそれぞれ数千個の細胞を含む単一細胞由来のコロニーを作成し、単一細胞レベルで全ゲノム解析を行った (図 1 左上)<sup>3)</sup>。その結果、胎児の脳の神経細胞において、1 細胞あたり 200 ~ 400 の一塩基レベルでの体細胞変異が観察された。また、神経前駆細胞 1 細胞あたり 5.1 個 / 日 (細胞分裂あたり 8.6 個) の体細胞変異 (一塩基) が蓄積することが観察された<sup>3)</sup>。接合後の最初の 2 ~ 3 回の細胞分裂では、2.4 ~ 2.8 の体細胞変異が観察されることから、脳の神経前駆細胞では初期胚形成期よりも高確率で体細胞変異を獲得することが示唆された。

また、Lodato らは乳児期から成人後期の脳の神経細胞に注目し加齢に伴い、体細胞変異が蓄積するかという仮説を検証する研究を行った (図 1 右上)<sup>8)</sup>。加えて、神経変性疾患と体細胞変異の関連を調査した。前頭前野が加齢に伴う認知機能の低下や神経変性疾患と関連していると言われていたため、神経学的に健常の 15 人 (年齢 4 カ月 ~ 82 歳) の前頭前野から 91 の単一神経細胞を採取し、全ゲノム解析を行った<sup>8)</sup>。さらに海馬歯状回はアルツハイマー型認知症など加齢変性疾患の病巣であるため、6 人の海馬歯状回から 26 個の神経細胞を採取し、全ゲノム解析を行った。同様に、Cockayne 症候群や色素性乾皮症の神経変性疾患患者 9 人の前頭前野から 42 個の神経細胞を採取し、全ゲノム解析を行った。

その結果、すべての正常の神経細胞において前頭前野、海馬歯状回のいずれの部位においても加齢に比例するように一塩基レベルでの体細胞変異の蓄積が観察された。具体的には、1 歳時点で 1 神経細胞あたり 300 ~ 900 個の体細胞変異が観察されたが、80 歳の時点では 2,000 ~ 4,000 個まで体細胞変異は蓄積した。また異なる脳領域における体細胞変異の蓄積に差があるかを調べるため、6 例において同一患者で前頭前野と海馬歯状回のペアの検体を採取し、1 細胞あたりの年間の体細胞変異 (一塩基) の蓄積率を比較検討した。その結果、前頭前野では 1 細胞あたりの年間の変異の蓄積数は 23 個であったのに対し、海馬では年間 40 個であり、約 2 倍体細胞変異の蓄積が多いことがわかった。これは、海馬歯状回が他の脳部位とは異なり、出生後も神経新生が起るため体細胞変異が多く生じていると考えられる。

また、Cockayne 症候群や色素性乾皮症など神経変性疾患では、年齢をマッチさせた健常の前頭前野の部位と比較し、2 ~ 3 倍体細胞変異の蓄積を認め、神経変性疾患では体細胞変異が増加する可能性が示唆された。

このように、正常脳においては、胎児期のように神経発達の初期から、成人期に至るまであらゆる時期において体細胞変異が蓄積することがわかってきている。さらに、近年 Bae らは加齢に伴い多量の体細胞変異が蓄積することを報告している<sup>2)</sup>。Bae らは、131 人の脳のサンプル (健常者: 44 人、

Tourette 症候群：19 人，統合失調症：9 人，自閉症スペクトラム障害 (autism spectrum disorder：ASD)：59 人) から DNA を抽出し，全ゲノム解析を行った。その結果，脳のサンプル 1 つあたり 20～60 の一塩基レベルでの体細胞変異が同定されたが，約 6% の脳では体細胞変異が数百同定された。これらは“hypermutable brain (変異が多量にある脳)”と名付けられた。興味深いことに，“hypermutable brain”は加齢とともに増加することがわかり (約 2%：年齢 40 歳以下，約 16%：年齢 60 歳以上)，また“hypermutable brain”に認める体細胞変異は DNMT3A, TET2, MTOR などクローン造血や悪性腫瘍に関連する変異が多いことがわかった。この結果から，加齢に伴い末梢血でクローン造血が生じるのと同様に，脳においても加齢に伴い体細胞変異をもった細胞がクローン性に増殖する可能性が示唆された。

## 2. 正常脳の神経細胞における変異シグネチャー

変異シグネチャーとは，特定の突然変異プロセスに関連する体細胞変異の組み合わせである。Catalogue of somatic mutations in cancer (COSMIC)<sup>14)</sup> は，がんにおいて認める体細胞変異シグネチャーのデータベースであり，既知の特定の原因に関連するものである。変異シグネチャーを COSMIC の既知の参照変異シグネチャーと比較解析することで，遺伝子変異が蓄積する原因を知ることが可能となる<sup>4)</sup>。前項で述べたとおり，正常脳では神経発生のさまざまな段階において体細胞変異が生じるが，それぞれの時期で異なる変異シグネチャーが同定された (図 1)。

まず，胚形成初期や胎生期など神経発生の初期の段階では，CpG 部位に C > T 変異が生じる<sup>5, 8)</sup>。この変異は，シトシンが脱アミノ化することでチミンに変化し，G : C から A : T への突然変異を引き起こすことを意味する。このような，脱アミノ化により CpG 部位に獲得される C > T 変異に特徴づけられる変異シグネチャーは SBS1 と考えられる (図 1 左下)。SBS1 は変異数が加齢に伴って増加する。また SBS1 の変異の獲得は，正常組織に対してがん組織に多く顕著に異なる。これらの違いは組織間での幹細胞の分裂速度の推定値と相関していることから，SBS1 は“cell division clock (細胞分裂時計)”と考えられる<sup>14)</sup>。Lodato らの報告でも，胎生期の正常脳で SBS1 が同定され，同一サンプルでみた場合に前頭前野と比較し海馬歯状回で多く認めている

結果であり，海馬が出生後も神経新生を生じ細胞分裂が盛んであるためと考えられる<sup>8)</sup>。

また，成人期の段階では，加齢に伴い C > T および T > C 変異に特徴づけられる変異シグネチャーである SBS5 が知られている (図 1 右下)。SBS5 は正常組織とがん組織両方において存在するが<sup>10)</sup>，その明確な理由は不明である。ただし，加齢に伴い増加することから“clocklike”シグネチャーであると考えられる。以上のように正常の脳組織において発生段階の異なる段階で，異なる変異シグネチャーが存在していることが明らかとなってきている。

## 3. 精神疾患とモザイク

これまで述べたように，正常の脳では体細胞変異が蓄積する。ときにその体細胞変異が遺伝子の機能変化を引き起こすことで神経変性疾患のリスクとなると言われているが，その機序は十分解明されてはいない。本項では，神経変性疾患のうち，ASD と統合失調症に注目し，体細胞モザイクとの関連をご説明する。

ASD は，コミュニケーションや対人関係の障害を特徴とする精神発達障害の 1 つである。ASD と一塩基レベルでの後天的変異の関連は以前より報告があり，ASD 家族の血液や唾液の DNA を用いて全ゲノムシーケンスで一塩基レベルでの体細胞変異を同定した大規模な複数の研究の結果，ASD 発症患者やその両親に存在する体細胞変異は，ASD 発症リスクの約 3～5% に寄与すると言われている<sup>6)</sup>。また，近年一塩基レベルでの体細胞変異に加え，染色体レベルでのより広範囲なモザイク (gains, loss, CN-LOH) が ASD の発症リスクになるという報告がある<sup>13)</sup>。Sherman らは，ASD 患者 12,077 人と ASD 患者と同じ家系で ASD の診断を受けていない家族 (主に兄弟姉妹) 5,500 人で染色体レベルでのモザイクを同定した。その結果，59 人において合計 65 個のモザイクを検出し，モザイクを持つ細胞の割合 (cell fraction) は 2.8～73.8% (中央値 = 27.1%)，サイズは 49.3～249.2Mb (中央値 = 2.5Mb) であった。モザイクを有する頻度は ASD 患者で 0.36% (44/12,077 人)，ASD の診断を受けていない家族で 0.27% (15/5,500 人) であった。興味深いことに，サイズが大きいモザイク (> 4Mb) を有したのが ASD 患者では 25 人であったのに対し，ASD の診断を受けていない家族では 1 人であった (OR : 11.4, 95% CI : 1.5～84.2,  $P = 7.4 \times 10^{-4}$ )。また，モザイクのサイズは ASD の重症度スコアと

正に相関した。以上の結果は、体細胞モザイクは染色体レベルで及ぶ範囲が大きいと神経発達に関連する領域の遺伝子を障害し、ASD の発症リスクになっている可能性を示唆する。

また、Rodin らは、ASD 患者 59 人と対照群 15 人の脳組織で全ゲノム解析を行い後天的な体細胞変異を同定した<sup>11)</sup>。その結果、1 つの脳サンプルあたり平均 25 個の一塩基レベルでの体細胞変異が同定され、ASD 群と対照群では差がなかった。ただし、ASD では対照群と比較してエンハンサー領域にモザイク変異を多く認めていた (OR : 11.9, 95% CI : 1.97 ~ 487,  $P = 8.0 \times 10^{-4}$ )。このように、一塩基レベルや染色体レベルでの体細胞変異が ASD の発症リスクを増加することがわかってきているが、生殖細胞系列の変異と比較して、どの程度病態に関与するかは依然として不明である。

このように ASD と体細胞変異の関連は明らかとなってきたが、統合失調症と体細胞モザイクの関連は ASD と比較して不明な点が多い。最近の comparative genomic hybridization アレイを用いた研究では、統合失調症の候補遺伝子を含む複数の染色体レベルでのコピー数異常が、統合失調症患者の脳では対照群と比較して増加していたことが報告されている<sup>12)</sup>。また、血液の mCA に関しては自験例において、若年の統合失調症患者で対照群と比較し常染色体のモザイクが増加していることが示されている。これらの結果は、統合失調症でも ASD と同様にモザイクが病態のリスクになる可能性を示唆されるが、今後さらに多くの症例の解析による確認が必要である。

## おわりに

正常な脳の神経細胞において、神経発達のさまざまな段階で体細胞変異が蓄積し増加することが明らかとなった。また、近年一塩基レベルや染色体レベルでの血中の体細胞モザイクが ASD や統合失調症などの精神疾患と関連することが報告されている。ただし、体細胞モザイクがどの細胞サブセットに多く存在し、どのような病態機序で精神疾患と関連するかについてはまだ十分に解析されておらず、今後さらなる研究の発展が期待される。

本論文に記載した著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) Azevedo FA, Carvalho LR, Ginberg LT, et al (2009) Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol*, 513 : 532-541.
- 2) Bae T, Fasching L, Wang Y, et al (2022) Analysis of somatic mutations in 131 human brains reveals aging-associated hypermutability. *Science*, 377 : 511-517.
- 3) Bae T, Tomasini L, Mariani J, et al (2018) Different mutational rates and mechanisms in human cells at pregastrulation and neurogenesis. *Science*, 359 : 550-555.
- 4) Bizzotto S and Christopher AW (2022) Genetic mosaicism in the human brain : from lineage tracing to neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*, 23 : 275-286.
- 5) Bizzotto S, Dou Y, Ganz J, et al (2021) Landmarks of human embryonic development inscribed in somatic mutations. *Science*, 6535 : 1249-1253.
- 6) D’Gama AM (2021) Somatic Mosaicism and Autism Spectrum Disorder. *Genes (Basel)*, 12 : 1699.
- 7) Liu X, Kamatani Y and Terao C (2021) Genetics of autosomal mosaic chromosomal alteration (mCA). *J Hum Genet*, 66 : 879-885.
- 8) Lodato MA, Robin RE, Bohrsen CL, et al (2018) Aging and neurodegeneration are associated with increased mutations in single human neurons. *Science*, 359 : 555-559.
- 9) Loh PR, Genovese G, Handsaker RE, et al (2018) Insights into clonal haematopoiesis from 8, 342 mosaic chromosomal alterations. *Nature*, 559 : 350-355.
- 10) Moore L, Cagan A, Coorens THH, et al (2021) The mutational landscape of human somatic and germline cells. *Nature*, 597 : 381-386.
- 11) Rodin RE, Dou Y, Kwon M, et al (2021) The landscape of somatic mutation in cerebral cortex of autistic and neurotypical individuals revealed by ultra-deep whole-genome sequencing. *Nat Neurosci*, 24 : 176-185.
- 12) Sakai M, Watanabe Y, Someya T, et al (2015) Assessment of copy number variations in the brain genome of schizophrenia patients. *Mol Cytogenet*, 8 : 46.
- 13) Sherman MA, Rodin RE, Genovese G, et al (2021) Large mosaic copy number variations confer autism risk. *Nat Neurosci*, 24 : 197-203.
- 14) Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al (2019) COS-

MIC : the Catalogue Of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res*, 47 : D941-D947.

15) Terao C, Suzuki A, Momozawa Y, et al (2020) Chro-

mosomal alterations among age-related haematopoietic clones in Japan. *Nature*, 584 : 130-135.

---

■ ABSTRACT

**Somatic mosaicism in blood and neurodevelopmental disease**

Shunsuke Uchiyama, Chikashi Terao

*RIKEN Center for Integrative Medical Science Laboratory for Statistical and Translational Genetics*

Recent advances in genome analysis have revealed that somatic mosaicism, a specific condition of clonal hematopoiesis, increases with age and confers a risk of hematological malignancy in healthy individuals. Recent studies have demonstrated that somatic mutations occur in the normal brain neurons by different mechanisms and at different rates during development through ageing. Some mutations in normal brain were found to be involved in clonal hematopoiesis, such as DNMT3A. This result suggests that somatic mosaicism in neurons accumulate with age. Somatic mosaicism, from point mutations to large-scale chromosomal alteration, are thought to be enriched in blood or neurons of neurodevelopmental diseases like autism spectrum disorder and schizophrenia, and may be related to the development of neurodevelopmental diseases. Here, we will present the somatic mosaicism in normal neurons and relationships between somatic mosaicism and neurodevelopment diseases.

(*Japanese Journal of Biological Psychiatry* 34 (4) : 156-160, 2023)

---