

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

| | | |
|---------|-------|---|
| 事業名 | | 革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト |
| 研究開発課題名 | | 大規模脳画像解析とヒトー霊長類トランスレータブル脳・行動指標開発にもとづく精神・神経疾患の病態神経回路解明（精神疾患に関わる稀な遺伝子変異の探索による病態関連神経回路の解明） |
| 機関名 | | 国立大学法人名古屋大学 |
| 研究開発 | 所属 役職 | 大学院医学系研究科 教授 |
| 担当者 | 氏名 | 尾崎 紀夫 |

2. 研究開発成果の内容

【臨床研究総括チーム】

- ① 精神神経疾患患者及び健常者のゲノム・脳画像(既存データ及び、平成 27 年度の各疾患チームの新規計測データ)のとりまとめ

精神疾患患者と健常者を対象に CNV 解析を実施し、発症に影響を与えるゲノム変異を同定した。さらに同被験者に関して、高解像度 T1 強調画像、拡散テンソル画像、安静時 fMRI、課題 fMRI の撮像を行い、脳画像データを収集した。安静時 fMRI を用いた解析では、統合失調症群と健常群を高い精度で判別する手法を開発した。

- ② 「神経変性疾患チーム」や「脳血管障害(脳神経回路の機能回復)チーム」と連携

神経変性疾患の 1 つ、パーキンソン病の原因遺伝子 *PARK2* は、統合失調症を含む精神疾患との関連が報告されているため、CNV データを用いて検討を行った。その結果、統合失調症患者 20 名、自閉スペクトラム症 5 名でエクソン領域を含む欠失を同定した。また imaging genetics 解析に向けて、*PARK2* 欠失をもつ 2 名の統合失調症患者から MRI データを取得した。

【精神疾患研究チーム】

- ① 精神疾患の稀な遺伝子変異解析

CNV 解析では、平成 27 年度までに双極性障害患者約 400 名の解析を終え、患者 6%弱に発症に影響を与える CNV を同定した。この中には、反復性 CNV、非反復性の大規模 CNV、疾患関連遺伝子の小規模 CNV が含まれた。また他の精神疾患・神経発達症との関連が報告されている CNV も多数見出した。また CNV 解析データから、双極性障害を含む精神疾患の発症に関与する遺伝子として、*PCDH15* を絞り込んだ。ターゲットリシークエンス解析は、統合失調症患者 370 名、自閉スペクトラム症患者 192 名を対象に実施した。同定した SNV の中で、タンパク質機能に影響を与えるものに関して、独立サンプルを用いた関連解析を実施した。その結果、統計学的に有意な関連性は認めなかったが、患者群に多く存在する変異を複数同定した。

② 稀な遺伝子変異を有する患者の臨床表現型・中間表現型の検討

①で同定したタンパク質機能に影響を与える SNV に関して、詳細な患者臨床情報の聴取を行ない、変異と臨床表現型との関係性を評価した。クロマチン関連遺伝子 **CHD8** の変異を持つ統合失調症患者において、既報と同様に、知的能力障害、消化管障害、不眠症状などの表現型を認めた。

③ 稀な遺伝子変異に基づく遺伝子改変マウスの作製と解析

①の CNV 解析に基づき、脳での発現量が高く、重要な機能を持つ可能性が高い精神疾患の候補遺伝子の絞り込みを行った。その結果、双極性障害患者 3 名および統合失調症患者 1 名で CNV が同定された **PCDH15** (**protocadherin-15**) を選択し、CRISPR/Cas9 法による遺伝子改変モデルマウスの作製に着手した。また、国立大学法人東京大学と共同で 22q11.2 欠失症候群 (3Mb 欠失) のモデルマウスの作製に着手した。

④ 稀な遺伝子変異を有する患者死後脳の神経病理学的検討

平成 26 年度に引き続き、患者死後脳の収集を行い、平成 27 年度は 10 例程度の死後脳を収集した。22q11.2 欠失統合失調症患者の死後脳において、**Tyrosine hydroxylase (TH)** (カテコラミン神経系)、**Neuropeptide Y (NPY)** (神経ペプチド) の免疫組織学的な観察を行い、陽性線維の検討をすすめた。22q11.2 欠失患者死後脳の TH 陽性線維、NPY 陽性線維ともに、健常脳とは異なった線維構造の形態変化が確認された。同様の傾向は 22q11.2 欠失をもたない統合失調症患者死後脳で認められており、ドーパミン神経系を含むカテコラミン神経系、NPY を含有する GABA 神経系の神経回路異常が疾患病態に関連している可能性が推量された。

⑤ 発症に強く関わる稀な遺伝子変異を持つ患者からの iPS 細胞樹立とニューロン・グリアへの分化誘導

PCDH15 欠失をもつ双極性障害患者 2 名より血液検体の提供を受け、iPS 様細胞を樹立した。今後、樹立した iPS 様細胞について三胚葉分化能およびゲノム解析による品質管理を行なう。**PCDH15** はマウスモデルにおいてセロトニンニューロンへの関与が示唆されていることから、iPS 細胞からセロトニンニューロンへの選択的誘導法開発に着手した。

⑥ 発症に強く関わる稀な遺伝子変異をもつ患者死後脳への透明化技術の応用法開発

国立大学法人東京大学と連携し、げっ歯類からニホンザル、さらに、患者死後脳への透明化技術の適応について条件検討による最適化を試みた。平成 27 年度は 条件の異なる保存ヒト死後脳組織において、HE 染色、核蛍光染色、免疫染色 (GABA 神経系) などを染色し、染色の再現性から、透明化技術適応のための、条件の最適化を検討した。透明化技術を患者死後脳に適応するまでの保存法、固定法などのプロセスにまだ検討の必要性はあるものの、保存ヒト死後脳組織にける透明脳への適応の可能性を確認した。