

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ゲノム構造異常によって発症した自閉症・発達障害の疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明と治療法開発
2. 研究開発代表者： 山本俊至（学校法人東京女子医科大学・統合医科学研究所）
3. 研究開発の成果

2005 年頃より実用化されはじめたマイクロアレイによるゲノムコピー数解析の手法により、自閉症・発達障害患者における発症要因として、多くの例でゲノムコピー数異常 (CNV) が関連していることが明らかにされてきた。CNV 領域には神経細胞のシナプス機能に関連する遺伝子が存在することが多いことから、自閉症・発達障害の発症要因として、シナプス機能の障害が示唆されている。ただし、シナプス関連遺伝子のコピー数異常が、実際に神経細胞にどのような影響を与えているかはまったく明らかになっていない。そこで本研究では、シナプス関連遺伝子のコピー数異常により発症したと考えられる自閉症・発達障害患者から疾患 iPS 細胞を樹立し、神経細胞レベルでの機能障害を明らかにすることにより、将来の治療法開発に繋げることを目指している。そのための前段階として、原因不明の自閉症・発達障害患者のゲノム解析を行い、シナプス関連遺伝子変異が明らかになった患者から疾患 iPS 細胞を樹立することとしている。

2014 年の研究開始以降、350 例の CNV 解析を行った。そのうち 15%程度で発症の原因と考えられるゲノム構造異常を明らかにできた。このうち 5 例程度から同意を得て、iPS 細胞を樹立しているところである。

一方、この数年の間に、次世代シーケンサー (NGS) による網羅的な遺伝子解析が急速に広まり、効率的な診断に一役買っている。本研究においても、CNV 解析で疾患原因を明らかにできなかった症例においては、NGS による網羅的な解析を追加して行った。このことにより CNV 解析でも認められるシナプス関連遺伝子の一塩基置換 (SNV) も多く認められることが明らかになり、CNV 解析と SNV 解析の 2 つの手法を組み合わせると、半数の患者で何らかの疾患原因が明らかになった。NGS による SNV 解析では、解析データを 2 次利用することにより、正確に CNV も検出することができることが明らかになり、今後は NGS による SNV 解析をスクリーニング手法として用いることとした。

一方、疾患 iPS 細胞を用いた病態解析においては、シナプス形成をするまで成熟したニューロンの分化誘導に成功した。iPS 細胞の神経系分化誘導においては、マウスアストロサイトとの共培養がシナプス形成には必須であり、免疫組織染色で spine の観察ができるまで成熟させるには最低でも 50 日程度を要した。この頃の神経細胞をカルシウムイメージング手法を用いて観察すると、神経細胞の自家放電を確認することができ、より成熟したニューロンでは、ネットワークを形成していることが観察された。パッチクランプによる直接的な電位測定により、成熟した興奮性ニューロンであることが明らかになった。同様の方法で疾患 iPS 細胞を分化誘導させると、50 日目でも完全な形の spine は観察されず、疾患によるナチュラルな経過を示しているものと考えられた。今後、さらに詳細に検討し、疾患 iPS 細胞における病態の本質を明らかにする計画である。