

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名： (日本語) ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業  
(英語) The Advanced Genome Research and Bioinformatics Study to Facilitate Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) 精神疾患のゲノム医療実現に向けた統合的研究  
(英語) An integrated research toward realization of genomic medicine of mental disorders

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 脳科学総合研究センター  
精神疾患動態研究チーム チームリーダー 加藤忠史

所属 役職 氏名： (英語) Tadafumi Kato, Team Leader, Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, RIKEN Brain Science Institute

実施期間： 平成 28年 9月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 精神疾患関連変異の症例対照研究  
開発課題名： (英語) Case-control study for genetic variants associated with psychiatric disorders

研究開発分担者 (日本語) 学校法人藤田学園 藤田保健衛生大学医学部精神神経科学  
准教授 池田匡志

所属 役職 氏名： (英語) Masashi Ikeda, Associate Professor, Department of Psychiatry, Fujita Health University School of Medicine,

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

本研究では、収集済の双極性障害を初めとする精神疾患家系のゲノム DNA、また新たな家系において、精神医学的面接を行った上、収集した唾液より抽出したゲノム DNA サンプルを用いて、全エクソーム解析または全ゲノム解析を行うと共に、見いだされた変異について、パスウェイ解析等を行い、変異の機能的意義についてのインシリコ解析により、候補遺伝子を絞り込み、藤田保健衛生大学の協力を得て、症例対照研究を行う。

そのため、まず、全エクソーム解析、全ゲノム解析のいずれを今後中心に用いるかについて検討を行うため、既にエクソーム解析を行った 3 家系 9 名のサンプルに対して全ゲノム解析を行い、これらの方法の比較を開始した。今後どの方法を主に用いるか、こ

これらの結果を元に決定する予定である。

また、収集済の 26 家系 78 名の精神疾患家系については、全エクソーム解析を行うこととし、エクソームキャプチャーを行った。シーケンスは平成 29 年度に行う予定である。

さらに、新たな精神疾患家系のゲノム DNA 収集を進めた。本年度は、新たに 25 家系の DNA サンプルを収集することを目標としていたが、29 家系 87 名の面接を行い、サンプルを集めることができた。診断は、双極 I 型障害、双極 II 型障害、統合失調感情障害、統合失調症などであった。

また、藤田保健衛生大学と共同で症例対照研究を行うため、藤田保健衛生大学より DNA サンプルの供与を受け、これらの DNA サンプルについて、DNA 定量等の品質チェックを行うと共に、凍結融解を繰り返した DNA でも、少量の DNA(200ng)を用いるプロトコルでエクソーム解析可能かどうかについて確認するため、比較検討を行った。

また、患者 iPS 細胞モデルを用いて検討を行うため、iPS 細胞由来神経細胞を用いて形態学および生理学的検討を行うための条件検討を行った。

さらに、見いだされたゲノム変異を元に、ゲノム編集によりノックインあるいはノックアウトマウスを作成するため、まずは CRISPR/Cas9 によるノックアウトマウス作成法について、検討を行った。

また、モデルマウスと患者血清を用いて、バイオマーカー探索を行った。モデルマウスを用いて、メタボローム解析によるバイオマーカー探索を行うため、モデルマウスのうつ様状態、寛解期において血漿のサンプリングを行った。得られた血漿を用いて、高速液体クロマトグラフィー・マススペクトロメトリー法によるメタボローム解析を行った。得られたデータは、臨床サンプルにおける測定結果と比較し、共通に変化を認めた代謝物質について、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー法による測定系を確立した。

## 英文

In this study, we will perform whole exome or whole genome sequencing in families of mental disorders, mainly bipolar disorder. The genomic DNA samples include previously collected samples and genomic DNA newly extracted from saliva samples. For this purpose, we will recruit new families of mental disorders and perform psychiatric interviews. Based on the information of identified mutations, pathway analyses and other bioinformatic analyses will be performed and candidate genes will be selected. With an aid of Fujita Health University, a case control analysis will be performed.

To this end, we examined which should be used for this study; whole exome sequencing and whole genome sequencing. We sequenced 9 individuals in 3 families whose exome data are available, and the data will be compared. In addition, we compared two protocols for exome sequencing to examine whether small scale protocol can be applicable to partially degraded genomic DNA samples. Based on the results of these analyses, the methods for future analysis will be determined.

We decided to perform whole exome sequencing for 78 individuals from 26 families of mental disorders, and performed exome capturing. Sequencing will be performed

in the next fiscal year.

In addition, we collected for DNA samples from trio families of mental disorders. We performed psychiatric interviews for 87 individuals of 29 families and collected samples. Their diagnosis include bipolar I disorder, bipolar II disorder, schizoaffective disorder and schizophrenia. To elucidate molecular neurobiological basis of mental disorders using iPS cell models, we established experimental conditions for morphological and physiological analyses of iPS-derived neurons.

Furthermore, to generate knock-in or knock out mice as model mice of the identified mutations, optimum experimental conditions for the application of CRISPR/Cas9 system was examined.

In addition, a biomarker was searched for using plasma of patients and model mice.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 3 件)

1. Takata A, Matsumoto N, Kato T (2017) Genome-wide identification of splicing QTLs in the human brain and their enrichment among schizophrenia-associated loci. Nature Communications 8: 14519
2. Kasahara T, Ishiwata M, Kakiuchi C, Fuke S, Iwata N, Ozaki N, Kunugi H, Minabe Y, Nakamura K, Iwata Y, Fujii K, Kanba S, Ujike H, Kusumi I, Kataoka M, Matoba N, Takata A, Iwamoto K, Yoshikawa T, Kato T. Enrichment of deleterious variants of mitochondrial DNA polymerase gene (POLG1) in bipolar disorder. Psychiatry and Clinical Neurosciences (in press)
3. Kageyama Y, Kasahara T, Morishita H, Mataga N, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Inoue K, Kato T. Search for plasma biomarkers in drug-free patients with bipolar disorder and schizophrenia using metabolome analysis. Psychiatry and Clinical Neurosciences 71: 115-123, 2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表：なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

上記論文 1 については、プレス発表を行い、日経バイオテク ONLINE などに取り上げられた。発表論文 (上記 1~3 を含む) については、患者、家族等を対象として約 1800 名に毎月配信している「双極性障害研究ネットワークニュースレター」でわかりやすく解説した。

(4) 特許出願：なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業  
(英語) The Advanced Genome Research and Bioinformatics Study to Facilitate Medical Innovation

研究開発課題名：(日本語) 精神疾患のゲノム医療実現に向けた統合的研究  
(英語) An integrated research toward realization of genomic medicine of mental disorders

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 脳科学総合研究センター  
精神疾患動態研究チーム チームリーダー 加藤忠史

所属 役職 氏名：(英語) Tadafumi Kato, Team Leader, Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, RIKEN Brain Science Institute

実施期間：平成 28 年 9 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 精神疾患関連変異の症例対照研究

開発課題名：(英語) Case-control study for genetic variants associated with psychiatric disorders

研究開発分担者 (日本語) 学校法人藤田学園 藤田保健衛生大学医学部精神神経科学  
准教授 池田匡志

所属 役職 氏名：(英語) Department of Psychiatry, Fujita Health University School of Medicine,  
Associate Professor, Masashi Ikeda

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：理化学研究所脳科学総合研究センター・精神疾患動態研究チーム・加藤忠史  
総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 1 件)

1. Saito T, Ikeda M, Hashimoto R, Iwata N; Members of the Clozapine Pharmacogenomics Consortium of Japan, Transethnic Replication Study to Assess the Association Between

Clozapine-Induced Agranulocytosis/Granulocytopenia and Genes at 12p12.2 in a Japanese Population, Biol Psychiatry in press

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 「若手研究者育成プログラム～池田匡志の場合」、シンポジウム、池田匡志、日本生物学的精神医学会、2016/9/8、国内
2. 「気分障害の遺伝学的研究～薬理ゲノム学と疾患感受性」、口頭、池田匡志、日本生物学的精神医学会、2016/9/9、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし