

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16195

研究課題名(和文) エピジェネティック多様化とその機能

研究課題名(英文) Epigenetic diversity and functions

研究代表者

豊田 峻輔 (Toyoda, Shunsuke)

大阪大学・医学系研究科・招へい研究員

研究者番号：10727415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、エピジェネティックな多様性の重要性が示唆されているが、脳の個性との関連性についてはまだ不明な点が多い。そこで本研究では、自然な動画を視聴中の双生児を対象に、機能的磁気共鳴画像法を用いた脳活動計測と、全脳レベルのマルチボクセルの活動パターン解析を行った。その結果、自然な視聴覚情報の脳内表現において、皮質と皮質下を含めた広範囲の脳領域が遺伝的影響を受けていることが示唆され、査読前論文として発表した(Nishida, Toyoda et al., 2021, Research Square)。DNAメチル化や塩基多型のデータ収集も進めており、関連性についての解析は今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たち生物は独自の遺伝子と経験によってそれぞれ異なる個性を獲得する。双生児研究は、遺伝子がほぼ100%同一な一卵性双生児と、約半分が似ている二卵性双生児を比較することによって様々な表現型における遺伝と環境の要因を解析することが可能である。本研究では、日常生活に近い自然な動画を視聴中の双生児を対象に脳機能イメージングと活動パターンの解析をすることで、広範囲の脳領域が遺伝的影響を受けていることを明らかにした。本研究の成果は脳の個性化の理解に貢献することが期待される。エピジェネティックな多様性や分子機構との関連性についてはより大規模なさらなる研究が必要であることが示唆され今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：In recent years, the importance of epigenetic diversity has been suggested, but its relevance to the individuality of the brain remains unclear. Therefore, in this study, we measured brain activity using functional magnetic resonance imaging in twins watching natural movies, and analyzed the multi-voxel activity patterns at the whole brain level. The genetic influences on brain representations of natural audiovisual experiences were observed in widespread brain regions including cortical and subcortical regions. These results were published as a pre-review paper (Nishida, Toyoda et al., 2021, Research Square). We have been collecting data on DNA methylation and gene polymorphisms, and proceeding with the analysis of their relationship.

研究分野：神経科学、遺伝学、双生児研究

キーワード：脳 遺伝子 双子 fMRI エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

脳は認知や記憶などの高度な情報処理を行い、こころの個性を生み出す基盤であるが、その生得性と獲得性についてはあまり理解が進んでいない。長年の霊長類や齧歯類を用いた実験により、並列分散的な脳の機能性は生後の経験に依存して形成されると考えられており、世界中で精力的に研究が進められてきた。その一方で、研究代表者らは、人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を用いたキメラマウスの作製と単一神経細胞レベルでの解析を組み合わせることで、齧歯類において神経細胞が活動する以前の発生期のエピジェネティック制御が脳の個性化や回路の特異化に

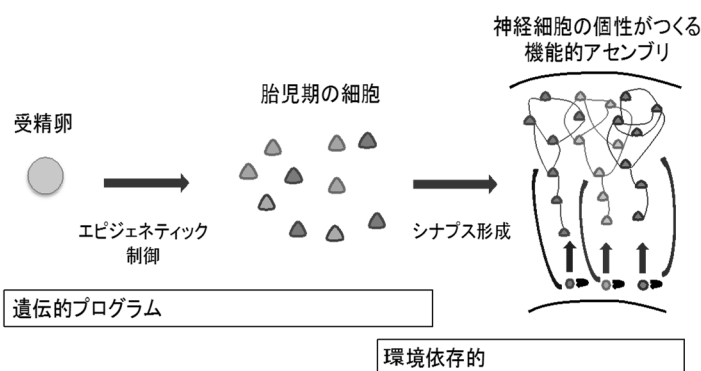


図1. 受精後、神経細胞が産生される以前の発生初期に細胞ごとに異なるエピジェネティック修飾が起こる(異なるカラーで表示)。それにより、細胞系譜に依存して神経細胞の個性化が起こり、それに伴う機能的なアセンブリが形成される。

関与していることを世界に先駆けて報告した (Toyoda et al., 2014, Neuron; Tarusawa, Toyoda et al., 2016, BMC Biol) (図1)。しかしながら、ヒト・霊長類は高次の認知機能が解析可能であるものの、クローン化された実験マウスに比べて遺伝的に不均一なため、その表現型の個性を定量化することや、その背景となる遺伝要因および環境要因を評価することは困難であった。

双生児は遺伝情報をほぼ 100%共有する一卵性双生児と、約 50%を共有する二卵性双生児に大別され、両集団を比較することでヒトの多様な表現型における遺伝・環境要因を定量化することが可能である。双生児を対象とした高次脳機能を調べる研究として、性格や IQ、精神疾患等の主要な表現型における遺伝要因について欧米を中心とした大規模な解析が多数行われてきた (Polderman et al., 2015, Nat Genet)。脳機能イメージング研究については、ある特定の仮説に基づいて設定された課題に対する脳活動を計測することが長年主流であったが、脳情報通信融合研究センター (CiNet) の西本らによって、自然環境に近い視覚刺激下における脳活動の機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) とモデル解析を用いることで、個人ごとの脳内イメージや意味表象の定量化・可視化が可能となった (Nishimoto et al., 2011, Curr Biol; Huth, Nishimoto et al., 2012, Neuron)。一方で、自然な知覚・認知機能の個性をもたらす遺伝・環境要因や分子機構の多くは未だ謎に包まれたままである。

双子の DNA メチル化研究については、最近、アメリカ・オーストラリア・ガンビアの共同研究として、個人間では分散が大きい一方で、一卵性双生児ペア内では高度に類似している DNA メチル化座位について報告されており、そのパターンの一部は異なる組織間 (脳、肝臓、腎臓など) で保存されている傾向があることから、一卵性双生児の卵割時期によるエピジェネティック状態の違いを反映している可能性が提唱されている (van Baak TE et al., 2018, Genome Biol)。興味深いことに、これらの遺伝子には神経や免疫に関わる Odorant receptor や HLA、Protocadherin などの多様化遺伝子が含まれている。また、オランダコホート研究では老化とともにメチル化が変化しやすい遺伝子として神経発生に関わる多様化した遺伝子が報告されている (Slieker RC et al., 2016, Genome Biol)。マウスにおいて発生初期のメチル化が神経細胞の多様化や回路の特異化に関与していることは研究代表者らが報告しており (Toyoda et al., 2014, Neuron) ヒトの多様な認知情報がエピジェネティックな多様化の影響を受けている可能性が考えられる。

2. 研究の目的

そこで本研究では、双生児を対象に脳機能イメージング、遺伝子解析、アンケート調査などを組み合わせることで、自然な視聴覚体験の脳内表現の個別性における遺伝要因とエピジェネティックな多様性の影響について明らかにすることを試みた (図2)。これまで多数報告されている特異的な条件下での認知研究とは異なり、日常生活に近い自然な認知条件について調べることが独自の点である。これによって、脳の個性化の理解について貢献する知見の創出が期待される。

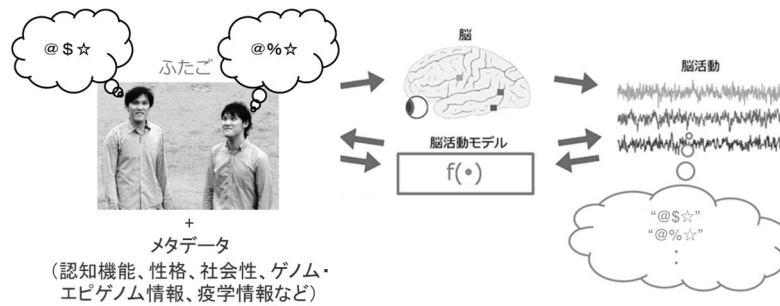


図 2 双子の自然体験における脳機能と各種メタデータを調べることでユニークな心の個性を創発する遺伝・環境要因を解明

3. 研究の方法

3-1) 双生児被験者のリクルートと遺伝情報の取得

本研究に参加いただいた双生児被験者のリクルートは、双生児に関する疫学的研究を継続的に行っている双生児レジストリである大阪大学大学院医学系研究科附属ツインリサーチセンターの協力のもとで行った (Hayakawa & Iwatani, 2013, Twin Res Hum Genet; Honda et al., 2019, Twin Res Hum Genet)。研究代表者は自身も一卵性双生児であることから、2014 年から被験者ボランティアとして、2016 年からは招へい研究員を兼任して、センターの研究に協力してきた。双生児関係者の集まりやサイエンスカフェ、双生児研究者の国際会議などに参加するとともに、自身がモデルとなって募集ポスターの作成に携わるなど、積極的なリクルート活動を継続して行った(図 3)。残念ながら、2020～2021 年度はコロナ禍のため、対面の機会はほぼ持てなかった。



図 3. 代表者(右)兄弟がモデルを務めた被験者募集ポスター

目的に適した被験者の選別はツインリサーチセンターによる身体検査および血液検査を通じた卵性診断、疫学データをもとに行った。また、血液 DNA を用いて、イルミナ社の BeadsChip を用いた DNA メチル化解析、アレイを用いた全ゲノム解析も行うことで、メチル化と遺伝子多型のデータを取得した。これらの研究は大阪大学の倫理規定に基づいて行い、データはツインリサーチセンターにて厳重に管理した。

3-2) fMRI

CiNet の西本伸志博士、西田知史博士と共同して、CiNet のシーメンス社製の 3 テスラ MR 装置を用い、日常生活に近い多種多様な場面を含む 10-20 秒のクリップ動画を合計 236 クリップ、70 分間視聴中の双生児被験者の fMRI データを取得した。そのうち、225 はユニークなクリップ、11 クリップは再現性確認のために 4 回の繰り返しとした。それと並行して、認知機能や性格、属性等の情報を記入式テストにより収集した。本課題においては新型コロナウイルスの影響などから、新たなデータの取得は行わず、2015 度から 2017 年度にかけて取得済みの一卵性 22 組 (年齢: 平均 26.0, 標準偏差 4.3), 二卵性 17 組 (年齢: 平均 26.6, 標準偏差 5.3) のデータを解析に用いた。

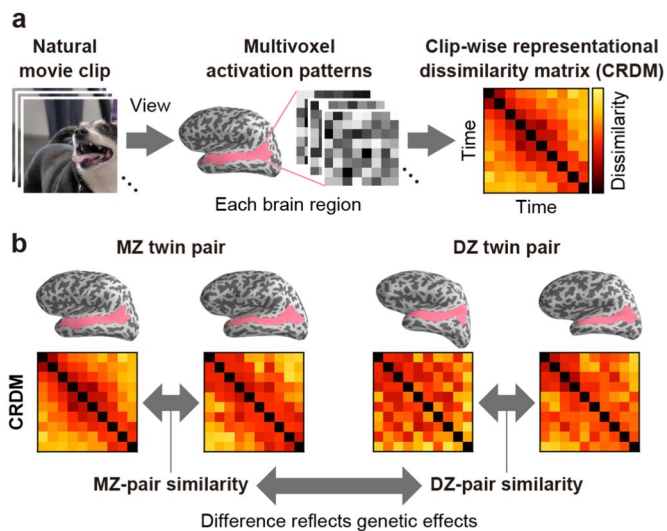


図 4. a, Clip-wise representational dissimilarity matrix (CRDM) による自然な視聴覚情報の脳内表現の解析。b, 一卵性 (MZ) および二卵性 (DZ) 双生児ペアの脳内表現の類似度の比較。

得られた各動画クリップの fMRI データについて、解剖学的に 164 の皮質と皮質下領域に分画し、各被験者の各脳領域ごとにマルチボクセル活動パターンの相関距離を計算することで、clip-wise representational dissimilarity matrix (CRDM) を得た。これを各個人における自然な視聴覚情報の脳内表現として、脳内表現の再現性や可変性、双生児ペアの類似度を評価した (図 4)。また、 $2 \times (R_{MZ} - R_{DZ})$ によって Falconer 遺伝率を計算した。 R_{MZ} と R_{DZ} は一卵性および二卵性ペアのクリップ平均の CRDM の相関係数をそれぞれ表す。

3-3) フィンランド双生児コホートへの留学

研究代表者は2018年4月から2020年6月まで、世界的な双生児研究の拠点であるフィンランド双生児コホートのヘルシンキ大学 Jaakko Kaprio 教授のグループに留学し、多国間双生児プロジェクトや分子遺伝学研究について共同した。また、所属先である Institute for Molecular Medicine Finland (FIMM) にて、大規模なヒト遺伝学の最先端研究の状況について情報収集を行った。

4. 研究成果

動画刺激による自然な視聴覚情報がどの脳領域に関わっているかを明らかにするために、4回の繰り返し動画を視聴中の CRDM の相関を調べた。その結果、皮質と皮質下を含むすべての脳領域が関与していることが明らかになった (図5)。また、視聴覚に関わるとされる後頭葉や側頭葉ほど相関が高く、前頭葉や皮質下は比較的相関が低かったことから、CRDM は自然な視聴覚情報の脳内表現を評価できていることが示唆された。

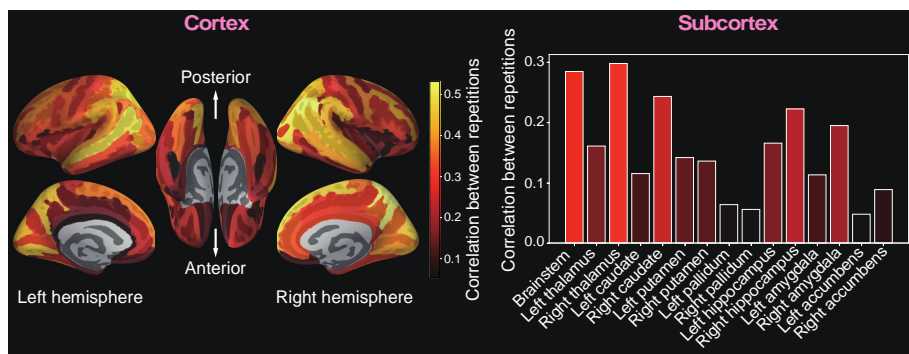


図5. 自然な視聴覚情報の脳内表現の再現性。繰り返しの動画を視聴中の CRDM 間のピアソン相関係数をカラーマップで表示。

次に、脳内表現の脳領域にわたる可変性を調べるために、皮質および皮質下の各領域における CRDM のピアソン相関距離を計算し、uniform manifold approximation and projection (UMAP) を用いて3次元領域に可視化した (図6)。その結果、距離的および機能的に近い脳領域ほど、特徴空間においても近い距離を示した。このことから、自然な視聴覚情報は脳領域ごとに異なって表現されており、CRDM はその可変性を効果的に反映していることが示唆された。

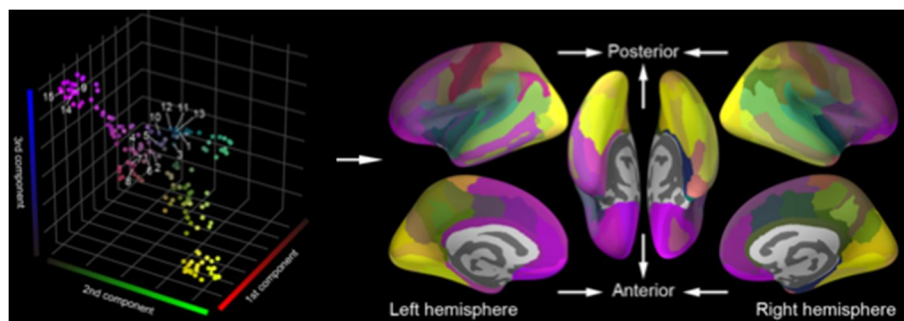


図6. UMAP による各脳領域の脳内表現の可視化。a, 3次元空間。各ドットは皮質または皮質下の領域を表す。b, 皮質マップ。カラーはa, bで同じ領域を表す。1-15は皮質下領域。

続いて、自然な視聴覚情報の脳内表現における遺伝の影響を調べた。noise ceiling (Nili et al., 2014, PLoS Comput Biol) による脳領域ごとのノイズ補正を行った後、一卵性双生児ペアおよび二卵性双生児ペアのそれぞれについて CRDM の類似度をピアソン相関によって計算した (図7)。その結果、一卵性ペアと二卵性ペアのどちらも全脳領域においてゼロ以上の類似度が見られ、一卵性の方が高い傾向があった。

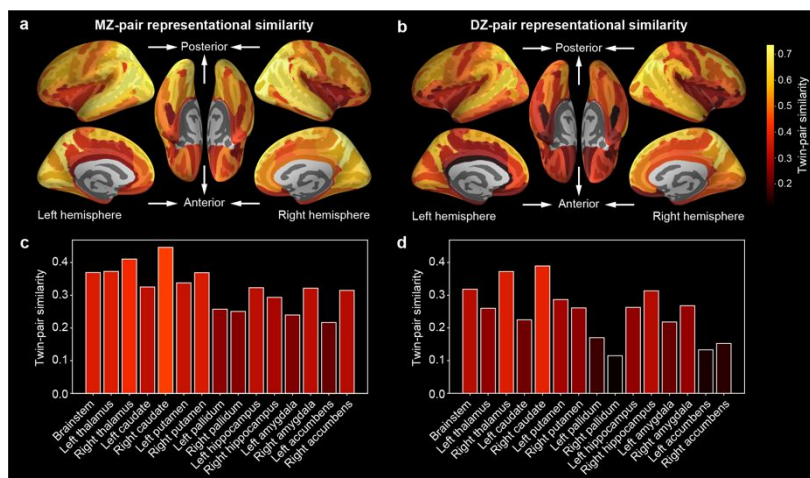


図7. 一卵性双生児ペア (a, c) および二卵性双生児ペア (b, d) のペア内のピアソン相関の平均。a と b は皮質、c と d は皮質下領域。全ての脳領域で有意に類似 ($P < 10^{-9}$, FDR 補正)。

そこで次に Falconer 遺伝率を計算することで遺伝要因の推定を行った (図 8)。その結果、後頭葉と側頭葉において 0.4 付近の比較的高い遺伝率が見られた一方で、前頭葉や頭頂葉、皮質下は 0.2 付近またはそれ以下の比較的低い遺伝率が見られた。このことから、感覚野のみならず前頭頭頂連合野や皮質下を含めた広範囲の脳領域において遺伝的影響を受けていることを示唆する結果を得た。

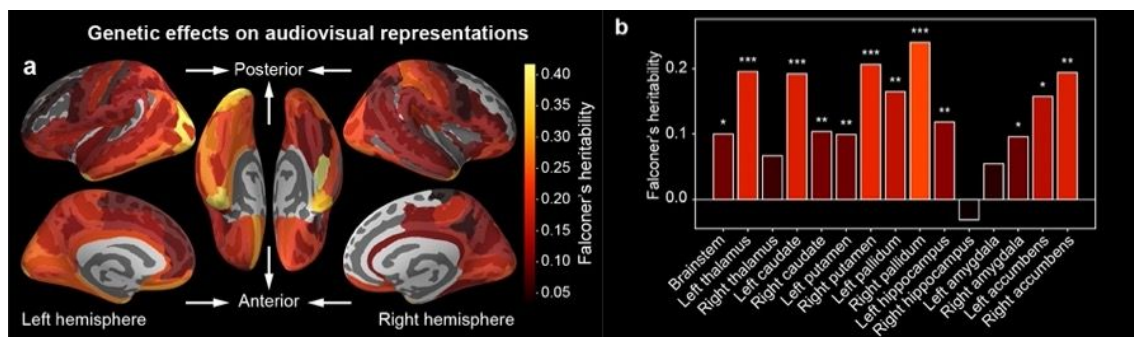


図 8. Falconer 遺伝率。a, 皮質。b, 皮質下領域。(Wilcoxon test, $P < 0.05$, FDR 補正)。

これらの結果を共同筆頭著者および共同責任著者として論文としてまとめ、9 月から学術雑誌に投稿を開始した (現在査読中)。また、Research Square 上にプレレビュー論文を公開した (Nishida, Toyoda et al., 2021, Genetic influences on brain representations of natural audiovisual experiences)。今後は査読に対応し、論文公開を目指す予定である。

また、分子機構については、大阪大学ツインリサーチセンターにて保存されている双生児の DNA 試料の一部を用いてゲノム配列と DNA メチル化データの取得を行った。コロナ禍のため、大学での実験や解析については制限が多かった。研究代表者自身は共著者ではないが、留学先のヘルシンキ大学の研究者が共著となっている一卵性双生児に関わるエピジェネティクスの論文 (van Dongen et al., 2021, Nat Commun) は目指す解析であったが、実際に行うためには研究資源や技術上の課題が多く、今後の参考にしたい。

引用文献

- Hayakawa, K. & Iwatani, Y. An overview of multidisciplinary research resources at the Osaka University Center for Twin Research. *Twin Res. Hum. Genet.* 16, 217-220 (2013).
- Honda, C., Watanabe, M., Tomizawa, R. & Sakai, N. Update on Osaka University Twin Registry: An Overview of Multidisciplinary Research Resources and Biobank at Osaka University Center for Twin Research. *Twin Res. Hum. Genet.* 22, 597-601 (2019).
- Huth, A. G., Nishimoto, S., Vu, A. T. & Gallant, J. L. A continuous semantic space describes the representation of thousands of object and action categories across the human brain. *Neuron* 76, 1210-24 (2012).
- Nili, H. et al. A Toolbox for Representational Similarity Analysis. *PLoS Comput. Biol.* 10, (2014).
- Nishimoto, S. et al. Reconstructing visual experiences from brain activity evoked by natural movies. *Curr. Biol.* 21, 1641-6 (2011).
- Polderman, T. J. C. et al. Meta-analysis of the heritability of human traits based on fifty years of twin studies. *Nat. Genet.* 47, 702-709 (2015).
- Slieker, R. C. et al. Age-related accrual of methylomic variability is linked to fundamental ageing mechanisms. *Genome Biol.* 17, 1-13 (2016).
- Tarusawa, E. et al. Establishment of high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons is regulated by the Dnmt3b DNA methyltransferase and clustered protocadherins. *BMC Biol.* 14, 103 (2016).
- Toyoda, S. et al. Developmental Epigenetic Modification Regulates Stochastic Expression of Clustered Protocadherin Genes, Generating Single Neuron Diversity. *Neuron* 82, 94-108 (2014).
- van Baak, T. E. et al. Epigenetic supersimilarity of monozygotic twin pairs. *Genome Biol.* 19, 1-20 (2018).
- van Dongen, J. et al. Identical twins carry a persistent epigenetic signature of early genome programming. *Nat. Commun.* 12, 5618 (2021).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Satoshi Nishida, Shunsuke Toyoda, Chika Honda, Mikio Watanabe, Miina Ollikainen, Eero Vuoksima, Jaakko Kaprio, Shinji Nishimoto	4. 巻 -
2. 論文標題 Genetic influences on brain representations of natural audiovisual experiences	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21203/rs.3.rs-902535/v2	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件／うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Shunsuke Toyoda, Satoshi Nishida, Chika Honda, Mikio Watanabe, Miina Ollikainen, Eero Vuoksima, Jaakko Kaprio, Osaka Twin Research Group, Shinji Nishimoto
2. 発表標題 Genetic contribution to inter-individual differences in human natural audio-visual experiences
3. 学会等名 The 49th Behavior Genetics Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunsuke Toyoda, Satoshi Nishida, Chika Honda, Mikio Watanabe, Miina Ollikainen, Eero Vuoksima, Jaakko Kaprio, Osaka Twin Research Group, Shinji Nishimoto
2. 発表標題 Genetic contribution to inter-individual differences in human natural audio-visual experiences
3. 学会等名 3rd Nordic Neuroscience Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunsuke Toyoda, Satoshi Nishida, Chika Honda, Mikio Watanabe, Miina Ollikainen, Eero Vuoksima, Jaakko Kaprio, Osaka Twin Research Group, Shinji Nishimoto
2. 発表標題 Genetic contribution to inter-individual differences in human natural audio-visual experiences
3. 学会等名 Japanese-Finnish twin research seminar to celebrate the 100 years anniversary of diplomatic relationships between Japan and Finland（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西田知史, 豊田峻輔, 本多智佳, 渡邊幹夫, Ollikainen Miina, Vuoksima Eero, Kaprio Jaakko, 大阪大学ツインリサーチグループ, 西本伸志
2. 発表標題 自然な視聴覚情報の脳内表現に対する大域的な遺伝的影響
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会/第1回 CJK 国際会議 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shunsuke Toyoda, Satoshi Nishida, Chika Honda, Mikio Watanabe, Miina Ollikainen, Eero Vuoksima, Jaakko Kaprio, Osaka Twin, Research Group, Shinji Nishimoto
2. 発表標題 Genetic effects on individual differences in natural audiovisual representations in the brain
3. 学会等名 The 80th Fujihara Seminar 「Molecular and cellular mechanisms of brain systems generating individuality」 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shunsuke Toyoda
2. 発表標題 Neural mechanisms for individuality in the brain - fMRI study methods in twins and epigenetics
3. 学会等名 19th International Congress on Twin Studies (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

豊田峻輔 researchmap
<https://researchmap.jp/toyoda02>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
フィンランド	University of Helsinki			