

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02753

研究課題名(和文) 精神疾患患者死後脳における体細胞変異の同定と病態への関与の解析

研究課題名(英文) Analysis of somatic mutations in brains of patients with psychiatric disorders

研究代表者

岩本 和也 (Iwamoto, Kazuya)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授

研究者番号：40342753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳神経系ではゲノムDNAに体細胞変異が生じ、神経細胞の構造や機能の多様性に貢献している可能性が提唱されている。一方、頻度やパターンによっては統合失調症など精神疾患の病因・病態と深く関係すると考えられる。本計画では、体細胞変異の検出および解析技術など方法論の改良を主眼とした技術確立を行い、統合失調症患者死後脳を利用した解析を行った。その結果、ゲノム解析情報から体細胞変異を抽出する新規パイプラインを確立し、統合失調症患者死後脳試料での体細胞変異(トランスポゾンLINE-1)を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で確立した体細胞変異検出のためのパイオインフォマティクスパイプラインは、今後、精神疾患の様々なゲノム解析データに適用可能であり、精神疾患の病因・病態の理解が進むと期待される。また、本解析手法を応用することにより、分化・発生・老化や他の疾患研究に広く適用可能である。

研究成果の概要(英文)：Somatic mutations occur in genomic DNA in the cranial nervous system contribute to the diversity of structures and functions of neural cells. In addition, their frequency and patterns are considered to be deeply related to the pathophysiology of psychiatric disorders. In this project, we established techniques detecting somatic mutation detection and applied them to analysis of postmortem brain of schizophrenia patients. As a result, we established new pipelines to extract somatic mutations from genomic information and identified somatic mutations in the brain samples of schizophrenia patients.

研究分野：分子精神医学

キーワード：統合失調症 体細胞変異 トランスポゾン

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症や双極性障害など、主要な精神疾患の発症には遺伝要因が深く関与することが疫学研究などによって明らかにされている。近年のゲノム研究の進展により、大規模なゲノムワイド関連解析やレアバリエーション解析、コピー数多型解析などにより、主要な精神疾患の genetic architecture が次第に明らかにされつつある。しかし、遺伝学的解析からのみでは、精神疾患の発症要因は完全に解明できず、何らかの他の要因の関与が示唆されている。

ゲノム情報は、環境要因の影響を受けて化学修飾状態が変化するエピジェネティックな変化と共に、体細胞変異によって塩基配列自体も変化するが知られている。特に脳神経系では、トランスポゾンの活発な転移や染色体の異数性・CNV 多型など、脳神経系特異的なメカニズムで体細胞変異が生成されており、精神疾患の病因・病態に深く関係している可能性が考えられている。

我々は、統合失調症患者死後脳神経細胞におけるレトロトランスポゾン LINE-1 のゲノムコピー数上昇 (Bundo et al, Neuron 2014)、一卵性双生児精神疾患不一致例における末梢血での体細胞変異の同定 (Nishioka et al., npj Schizophrenia 2018)、健常者死後脳試料における高深度エクソーム解析・全ゲノム解析による体細胞変異パターンの同定 (Nishioka et al., Psy Clin neurosciences 2018) などを通して精神疾患と体細胞変異との関連を探る研究を開始していた (Nishioka et al., Mol Psychiatry 2020)。

## 2. 研究の目的

次世代シーケンスデータを利用して、脳神経系における体細胞変異解析のためのバイオインフォマティクス解析パイプライン(レトロトランスポゾン LINE-1 の新規転移の検出)を構築する。構築した解析パイプラインを、精神疾患患者死後脳および精神疾患動物モデルなどの次世代シーケンスデータに対して適用し、有用性の検証を行う。

## 3. 研究の方法

迅速かつ正確なトランスポゾン新規転移検出のために、次世代シーケンスのリードに対して、まず LINE-1 配列の有無で選択し、LINE-1 配列を有するリードを濃縮したあと、詳細に検討し可視化する手法の確立を検討した。このために、L1 base (<http://l1base.charite.de/>) などのデータベースから抽出した LINE-1 配列を利用し、参照配列の整備を行った。また、濃縮された LINE-1 リードに対する参照ゲノムへの remapping など、下流の解析パイプラインの整備を行った。

また、確立した手法を検証するための次世代シーケンスデータとして、米国スタンレー財団より提供されたヒト健常者および統合失調症患者死後脳前頭葉の神経細胞および非神経細胞から抽出したゲノム DNA で実施した高深度エクソーム解析データ、および、統合失調症動物モデルである母体免疫活性化マウスモデルにおける仔マウスの脳と尻尾から抽出したゲノム DNA で実施した高深度エクソーム解析データを用いた。また、栄養条件を検討したマウスモデルの利用を検討した。

## 4. 研究成果

トランスポゾンの公共データベースである L1 base に含まれている、完全長かつ変異のない転移活性を有する LINE-1 配列を対象として、参照配列の整備を行った。ヒトでは約 150 個、マウスでは約 2,800 個の完全長 LINE-1 が登録されているが、それぞれ配列の品質や LINE-1 の開始部位、終了部位の定義など、大きなばらつきが認められた。特に開始部位や終了部位の曖昧性は、LINE-1 に無関係な配列の濃縮、false-positive の原因となりうる。このため、それぞれの種の LINE-1 について、1 個ずつ再定義を行ったうえでアラインメントを実施し、参照配列を構築した。本参照配列を用いて、LINE-1 配列を有するリードを濃縮し、リードが持つ LINE-1 配列周辺ゲノム配列を利用し、参照ゲノムへ remapping を行うことにより、新規転移部位の同定を行う。確立した一連の手法を MORE 法 (mobile element originated read enrichment) とした (Nakachi et al., 投稿準備中)。

統合失調症患者前頭葉死後脳エクソーム配列に対して MORE 法を適用したところ、神経細胞ゲノムでは 1 エクソームあたり平均 3.4 個、非神経細胞ゲノムでは平均 6.4 個の新規 LINE-1 転移が検出され、両細胞種とも神経機能に重要な遺伝子への新規挿入が検出された。また、統合失調症動物モデルでは、尻尾と比較して脳において新規転移検出数の有意な増大を認めた。

MORE 法は、高精度 LINE-1 参照配列を利用するため下流の解析モジュールを変更することで、ゲノム解析だけでなく、ゲノム上の既存の LINE-1 配列に対して、RNA-seq などのトランスクリプトームデータや、Chip-seq のようなデータ形式、バイサルファイト変換後の DNA などへの応用が可能であると考えられる。このような応用例について、本手法の適用範囲を検証するた

め、マウスシングルセル RNA-seq のデータセットを用い MORE 法を適用し検討したところ、完全長 LINE-1 の発現量が高い細胞クラスターを同定することができた。今後さらに MORE 法のパイプラインの refine と下流の解析の充実を図っていくと共に、応用範囲を拡大していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Bundo Miki, Ueda Junko, Nakachi Yutaka, Kasai Kiyoto, Kato Tadafumi, Iwamoto Kazuya	4. 巻 26
2. 論文標題 Decreased DNA methylation at promoters and gene-specific neuronal hypermethylation in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Psychiatry	6. 最初と最後の頁 3407 ~ 3418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41380-021-01079-0	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Ueda Junko, Bundo Miki, Nakachi Yutaka, Kasai Kiyoto, Kato Tadafumi, Iwamoto Kazuya	4. 巻 75
2. 論文標題 Cell type specific DNA methylation analysis of the prefrontal cortex of patients with schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Psychiatry and Clinical Neurosciences	6. 最初と最後の頁 297 ~ 299
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/PCN.13282	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Du Jianbin, Nakachi Yutaka, Kiyono Tomoki, Fujii Shinya, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 14
2. 論文標題 Comprehensive DNA Methylation Analysis of Human Neuroblastoma Cells Treated With Haloperidol and Risperidone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 792874
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnmol.2021.792874	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Sugawara Hiroko, Bundo Miki, Kasahara Takaoki, Nakachi Yutaka, Ueda Junko, Kubota-Sakashita Mie, Iwamoto Kazuya, Kato Tadafumi	4. 巻 15
2. 論文標題 Cell-type-specific DNA methylation analysis of the frontal cortices of mutant Polg1 transgenic mice with neuronal accumulation of deleted mitochondrial DNA	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00894-4	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ikegame Tempei, Hidaka Yosuke, Nakachi Yutaka, Murata Yui, Watanabe Risa, Sugawara Hiroko, Asai Tatsuro, Kiyota Emi, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Sasaki Tsukasa, Hashimoto Mamoru, Ishikawa Tomohisa, Takebayashi Minoru, Iwata Nakao, Kakiuchi Chihiro, Kato Tadafumi, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification and functional characterization of the extremely long allele of the serotonin transporter-linked polymorphic region	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-021-01242-9	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Wada Yuina, Maekawa Motoko, Ohnishi Tetsuo, Balan Shabeesh, Matsuoka Shigeru, Iwamoto Kazuya, Iwayama Yoshimi, Ohba Hisako, Watanabe Akiko, Hisano Yasuko, Nozaki Yayoi, Toyota Tomoko, Shimogori Tomomi, Itokawa Masanari, Kobayashi Tetsuyuki, Yoshikawa Takeo	4. 巻 62
2. 論文標題 Peroxisome proliferator-activated receptor as a novel therapeutic target for schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 103130 ~ 103130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2020.103130	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Nakachi Yutaka, Ishii Kazuhiro, Bundo Miki, Masuda Tomoyuki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 40
2. 論文標題 Use of the Illumina EPIC methylation array for epigenomic research in the crab eating macaque ( <i>Macaca fascicularis</i> )	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 423 ~ 426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12145	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Kuroki Ryota, Murata Yui, Fuke Satoshi, Nakachi Yutaka, Nakashima Jun, Kujoth Gregory C., Prolla Tomas A., Bundo Miki, Kato Tadafumi, Iwamoto Kazuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Establishment of Quantitative PCR Assays for Active Long Interspersed Nuclear Element-1 Subfamilies in Mice and Applications to the Analysis of Aging-Associated Retrotransposition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 519206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fgene.2020.519206	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ikegame Tempei, Bundo Miki, et al.	4. 巻 46
2. 論文標題 Promoter Activity-Based Case-Control Association Study on SLC6A4 Highlighting Hypermethylation and Altered Amygdala Volume in Male Patients With Schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Schizophrenia Bulletin	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/schbul/sbaa075	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 文東 美紀, 清田 恵美, 岩本 和也	4. 巻 276
2. 論文標題 精神疾患患者試料を使用した1細胞研究の現在	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1022-1026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 文東 美紀, 岩本 和也	4. 巻 273
2. 論文標題 レトロトランスポゾンが引き起こすヒト疾患	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1129-1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤飯 慎也, 岩本 和也	4. 巻 16
2. 論文標題 トランスポゾンはアンチエイジングのターゲットになるか?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アンチ・エイジング医学	6. 最初と最後の頁 396-398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata Yui, Ikegame Tempei, Koike Shinsuke, Saito Takeo, Ikeda Masashi, Sasaki Tsukasa, Iwata Nakao, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 99
2. 論文標題 Global DNA hypomethylation and its correlation to the betaine level in peripheral blood of patients with schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 109855 ~ 109855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pnpbp.2019.109855	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Zhao Zhilei et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 Altered expression of microRNA-223 in the plasma of patients with first-episode schizophrenia and its possible relation to neuronal migration-related genes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-019-0609-0	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Ide Masayuki et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Excess hydrogen sulfide and polysulfides production underlies a schizophrenia pathophysiology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EMBO Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 e10695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/emmm.201910695	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Murata Yui, Fujii Ayaka, Kanata Sho, Fujikawa Shinya, Ikegame Tempei, Nakachi Yutaka, Zhao Zhilei, Jinde Seiichiro, Kasai Kiyoto, Bundo Miki, Iwamoto Kazuya	4. 巻 39
2. 論文標題 Evaluation of the usefulness of saliva for DNA methylation analysis in cohort studies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 301 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/npr2.12075	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 渡邊理紗、岩本和也	4. 巻 272
2. 論文標題 精神疾患とepigenetic age	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 57-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岩本和也、文東美紀	4. 巻 35
2. 論文標題 体細胞変異と精神疾患	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 精神科	6. 最初と最後の頁 1013-1015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 黒木遼太、文東美紀、岩本和也	4. 巻 19
2. 論文標題 メチローム解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 分子精神医学	6. 最初と最後の頁 154-155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 松原ひかり、村田唯、文東美紀、岩本和也	4. 巻 34
2. 論文標題 統合失調症と妊娠期ウイルス感染	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 精神科治療学	6. 最初と最後の頁 1013-1015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 岩本和也、池亀天平、文東美紀	4. 巻 272
2. 論文標題 精神疾患とエピジェネティクス セロトニントランスポーターの大規模DNAメチル化解析からの考察	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学の歩み	6. 最初と最後の頁 1212-1215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 LINE-1と精神神経疾患：転移の分子機構と新規解析技術の開発
3. 学会等名 第43回生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 遺伝環境相互作用の観点からの脳ゲノム変異と精神疾患
3. 学会等名 第43回生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 脳神経系における体細胞変異と精神疾患
3. 学会等名 第66回日本人類遺伝学会大会・第28回日本遺伝子診療学会大会合同開催シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 仲地ゆたか
2. 発表標題 モバイルエレメント派生リード濃縮領域の同定法 (MORE法) による新規LINE1挿入の検出
3. 学会等名 第43回生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会合同年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 脳ゲノム解析による精神疾患の病因病態解明
3. 学会等名 第10回 都医学研シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 セロトニントランスポーターのエピゲノム解析による精神疾患と認知症の病態解析
3. 学会等名 第39回認知症学会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 精神疾患におけるエピゲノム解析の現状と課題
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩本和也
2. 発表標題 転移因子の遺伝学とバイオロジー
3. 学会等名 第50回日本神経精神薬理学・第42回日本生物学的精神医学会・第4回日本精神薬学会合同年会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 仲地ゆたか
2. 発表標題 高深度エクソーム解析による統合失調症患者死後脳における体細胞変異の探索
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwamoto K, Bundo M, Kato T.
2. 発表標題 Genetic and epigenetic variations of neuronal cells and their implications for psychiatric disorders.
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担 者	川野 美智代	尚絅大学・生活科学部・准教授	動物モデルにおける栄養状況の検討
	(Kawano Michiyo)		
	(30738472)	(37404)	

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
---------	---------