

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15507

研究課題名(和文) iPS細胞を用いた双極性障害の病因解明に関する研究

研究課題名(英文) Study on the etiology of bipolar disorder using iPS cells

研究代表者

石間 環 (ISHIMA, Tamaki)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教

研究者番号：00597130

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)：University of Gothenburg, Sweden(ヨーテボリ大学、スウェーデン)鮎恵子教授より分与された双極性障害患者6名、健常者4名のiPS細胞をCellartis DEF-CS 500 Culture Systemで培養した後、Cellartis iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System(肝細胞分化誘導システム)を用いて肝細胞に分化させ、得られたRNAを用いてRNA-seqを実施した。得られたデータからDEG解析、GO解析、IPA解析を実施し疾患に関連のあると思われる遺伝子やパスウェイをいくつか見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

双極性障害は統合失調症と並ぶ代表的な精神疾患であるが、その病因に関わる詳細な機序は不明である。また、古くから、双極性障害患者には肝障害を有する割合が高いことが知られているがその詳細は不明である。多能性幹細胞(iPS細胞)は精神医学領域においても応用されているがこの領域における殆どの研究は神経に分化させた神経細胞を用いたものが主であり、肝臓などの末梢臓器細胞などに分化させたものを用いた研究は今までなかった。今回の研究では双極性障害患者由来のiPS細胞を肝細胞に分化させることにより、脳-肝連関の視点から双極性障害の病因解明の糸口となる遺伝子を見いだすことが出来た。

研究成果の概要(英文)：Bipolar disorder (BD) is a popular psychiatric disorder; however, the precise pathology of BD is unknown. Recently we proposed the role of brain-liver axis in the pathology of psychiatric disorders such as BD. Human iPS cell technology is a useful tool to study the pathology of psychiatric disorders. In this study, we investigated the role of brain-liver axis in the pathology of BD using iPSC technology. First, we differentiated to hepatocyte cells from iPS cells from BD patients and healthy control subjects. To investigate the comprehensive screens, we performed RNA-seq analysis of these hepatocyte cells from two groups. Subsequently, we performed the DEG analysis and IPA analysis of the RNA-seq data. We found that some signal pathways may play a role in the pathology of BD. Detail experiments on some signaling pathways in BD pathology are underway.

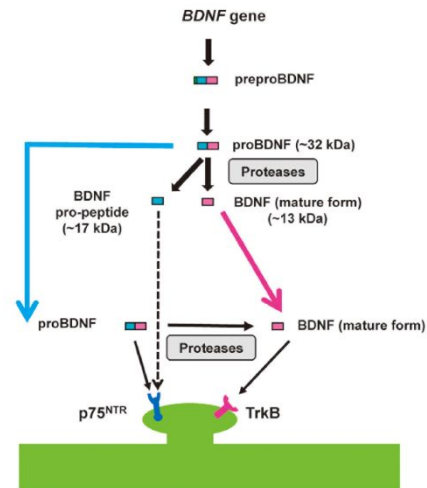
研究分野：精神薬理

キーワード：双極性障害 iPS 肝細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

双極性障害は代表的な精神疾患であるが、その病因は未だ不明である。近年、精神疾患患者の iPS 細胞から分化した細胞を用いた研究が盛んになっているが、精神疾患の iPS 細胞を用いた研究は、iPS 細胞から分化した神経細胞やグリア細胞を用いた研究が主である。一方、双極性障害を含む気分障害の血液バイオマーカーとして、脳由来神経栄養因子 (BDNF: Brain-derived neurotrophic factor) の異常が知られており、多くのメタ解析から証明されている。BDNF は、前駆体 proBDNF から生成されるが、切断された BDNF pro-peptide も生理作用を有することが判ってきた(右図)。興味深い事に、応募者の研究室では Yang らが、双極性障害を含む精神疾患患者およびコントロール群の死後組織(脳、肝臓)におけるこれらの関連タンパク (BDNF, proBDNF, BDNF pro-peptide) を測定すると、脳だけでなく肝臓においても有意に変化していること、脳と肝臓組織での間に有意な相関がある事を報告した (Yang B, et al. *Transl. Psychiatry* 2017)。以上の事から、**精神疾患における脳-肝連関の異常**という仮説を提唱した。



2. 研究の目的

2006年に京都大学の山中伸弥教授によって発見された多能性幹細胞(iPS細胞)は、精神医学領域においても応用されている。精神医学領域における殆どの研究は、iPS細胞から神経に分化させた神経細胞を用いた研究が主に行われており、肝臓などの末梢臓器細胞などに分化した細胞を用いた研究は知る限りでは無い。

本研究の課題は、双極性障害患者の iPS 細胞から肝細胞に分化し、脳 肝連関の視点から、双極性障害の病因解明を行う研究であり、独創性は非常に高い。双極性障害の病因が明らかになれば、さらには新しい診断法・治療法の開発に繋がっていくと考えられる。

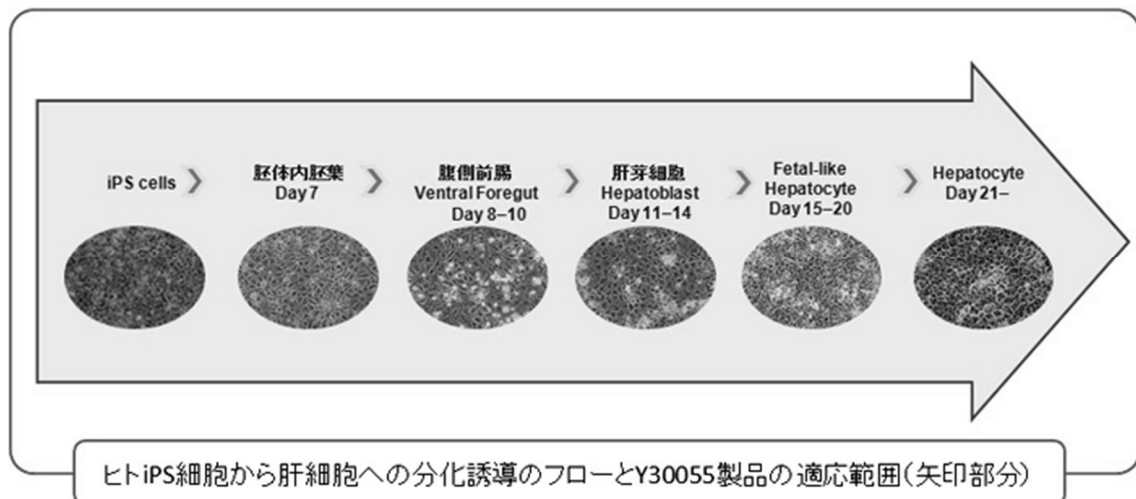
本研究の目的は、健常者 4 名および双極性障害患者 6 名のヒト由来 iPS 細胞から肝細胞に分化し、BDNF 関連物質の遺伝子およびタンパク発現の測定、網羅的な RNA-seq 解析を実施し、双極性障害の病因における肝細胞における BDNF の役割および網羅的解析を実施、最終的には、双極性障害の病因における脳-肝連関の重要性を提唱することとした。

3. 研究の方法

既に、イエテボリ大学(スウェーデン)の鮎恵子らは、健常者と双極性障害患者の iPS 細胞および神経に分化した細胞の RNA-seq 解析を実施し、NLRP2 遺伝子が著明に変化していることを報告している。この論文 (*Transl. Psychiatry* 2017) では、双極性障害患者においては、iPS 細胞でも神経細胞においても、炎症に関わる遺伝子が大きく変動していることを既に報告している。同じサンプルである健常者 4 名と双極性障害患者 6 名の iPS 細胞を分与いただいた。iPS 細胞の取り扱いについては研究協力者の江藤浩之教授および曾根正光特任助教と一緒に実施し、まず、Cellartis® iPS DEF-CS 500 Culture System で実験に使用するためのコンディションでかつ十分な量になるまで培養した。

次に Cellartis® iPS Cell to Hepatocyte Differentiation System(肝細胞分化誘導システム)を用いて、肝細胞に分化させた。(例：下図)。このシステムを用いれば、iPS細胞がまず胚体内細胞に分化し、腹側前腸、肝芽細胞を得て肝細胞へと分化することが報告されている(Annika Asplund *et al.* Stem Cell Rev. 2016)。

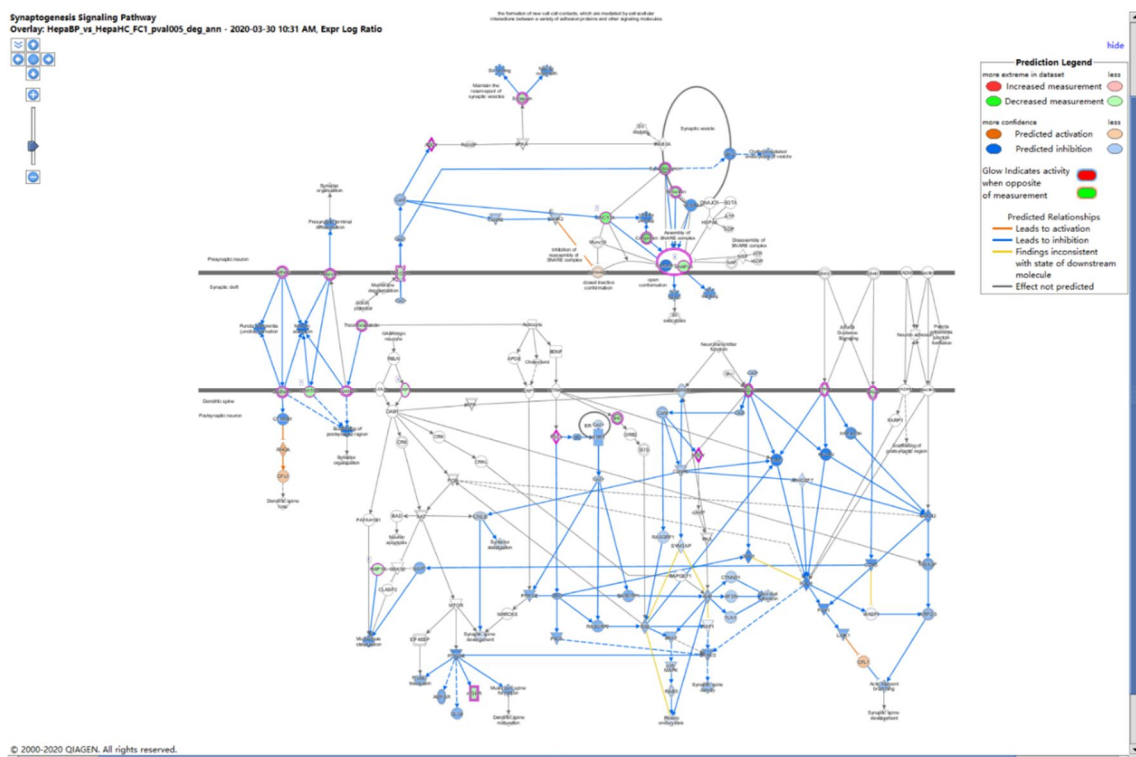
実際に分化したかどうかは培養上清中の肝細胞マーカー(α -fetoprotein, Albmin)を ELISA にて測定することによって確認された。



この分化させた肝細胞より RNA を抽出し RNA-seq を実施し、得られたデータからさらに DEG 解析、GO 解析、IPA 解析を実施した。

4. 研究成果

各種解析により疾患に関連のあると思われる遺伝子やパスウェイをいくつか見いだした。これらの得られた遺伝子を RT-PCR で測定し確認するとともに、死後組織でも得られた知見と比較する予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----