

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15785

研究課題名（和文）精神疾患の関連遺伝子座位はドパミン作動性ニューロンの遺伝子発現ノイズを増やすか？

研究課題名（英文）Investigation into psychiatric disorder-associated loci that influence transcriptional noises in dopaminergic neurons induced from human iPS cells

研究代表者

廣瀬 直毅（HIROSE, Naoki）

大阪大学・大学院医学系研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：90830167

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000 円

研究成果の概要（和文）：遺伝子発現の細胞ごとのばらつき（発現ノイズ）は生物学的に重要であるが、塩基配列の違いが発現ノイズにおよぼす影響や疾患との関わりは不明である。本研究では、発現ノイズと疾患の遺伝的リスクの関わりを検索することを目的とした。215人から樹立されたiPS細胞の遺伝子型および一細胞RNA-seqのデータを解析し、発現ノイズの量的形質遺伝子座（tnQTL）を4万以上も決定した。tnQTLは遺伝子発現のシス制御領域に濃縮していた。一部のtnQTLに、ヒトの精神疾患の遺伝的リスクと直接的な因果関係が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのゲノムワイド関連解析によって、疾患の遺伝的リスクに関わるゲノムの多型が数多く見だされてきた。しかし、遺伝的リスクにつながる多型の大半は、遺伝子発現の量的形質遺伝子座（eQTL）ではないため、機能的に解釈できる多型は多くない。本研究の成果に基づき、発現ノイズの変化という新しい観点から多型と遺伝的リスクの関わりを機能的に解釈し、様々な疾患の分子病態を深く理解していけると考えられる。また、本研究にて同定したtnQTLは、発現ノイズの制御機構の理解にも役立てられる。

研究成果の概要（英文）：Although variation in gene expression among cells (“transcriptional noise”) has biological significance, how it is affected by genetic variants and what roles it plays in disorders remain elusive. This study aimed to explore association between transcriptional noise and the genetic risk of human psychiatric disorders. Analysis of genotype and single-cell RNA-seq data of iPS cells (donor N = 215) determined more than 40,000 transcriptional noise quantitative trait loci (tnQTLs), which were enriched in cis-regulatory region of gene expression. Some tnQTLs are deemed as causative to the genetic risk of psychiatric disorders, suggesting that changes of transcriptional noise play roles in their pathophysiology.

研究分野：トランスクリプトーム

キーワード：遺伝子発現ノイズ リスク 精神疾患 量的形質遺伝子座 統合失調症 tnQTL ドパミン作動性ニューロン シングルセル解析 遺伝的

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ありふれた精神疾患である統合失調症や双極性障害、自閉スペクトラム症に対するゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、精神疾患に有意に関わる遺伝子座位が同定されてきた [MacArthur *et al.* 2017; Stahl *et al.* 2019]。抗精神病薬に共通する作用や、ドパミン D2 受容体の多型がゲノムワイドな有意水準にて統合失調症に関連する [PGC 2014] ことから、精神疾患にはドパミン経路が深く関わると考えられている [Pavai 2017; Conio *et al.* 2020]。しかし、本質的な病態はまだ不明である。遺伝子の発現量は、ゲノムの多型によって変わる [Aguet *et al.* 2017]。ゆえに、精神疾患の関連遺伝子座位が遺伝子発現をどのように変えて病態に関わるのかが、注目されてきた。しかし、GWAS で見つかる疾患関連遺伝子座位には、発現変化との関わりが不明なものも多い。

遺伝子発現は、同じ細胞種でも細胞ごとに微細に違う (「発現ノイズ」) [Raj & van Oudenaarden 2008]。発現ノイズは、単一細胞 RNA-seq (single-cell RNA-seq, scRNA-seq) によって検出できる [Kim & Marioni 2013]。大きな発現ノイズが細胞の状態を変えて分化を促す [Desai *et al.* 2021] ため、発現ノイズは生物学的に重要といえる。しかし、精神疾患と発現ノイズの関わりはいまだに不明である。

本研究では、発現ノイズの大きさを規定する量的形質遺伝子座 (transcriptional-noise quantitative trait loci, tnQTL) の多型によって、ドパミン作動性ニューロンの状態が「健康」から「病気」へと変わりやすくなっている可能性を考えた。

2. 研究の目的

精神疾患の遺伝的リスクに、発現ノイズがどう関わるかを明らかにする。このために、ドパミン作動性ニューロンの発現ノイズを決める tnQTL をゲノムワイドに同定する。本研究の作業仮説は、「ドパミン作動性ニューロンの tnQTL には精神疾患の関連遺伝子座位があり、それらの多型によって発現ノイズが異常に大きくなる」である。

3. 研究の方法

(1) ドパミン作動性ニューロンなどにおける tnQTL を網羅的に同定

まず、ヒト iPS 細胞からドパミン作動性ニューロンに分化誘導した経時的な scRNA-seq データ (11 日目・30 日目・52 日目) と、対応する遺伝子型データ (scRNA-seq、215 人分; ジェノタイプアレイ、156 人分) [Jerber *et al.* 2021] を取得した。そして scRNA-seq データに含まれていたドパミン作動性ニューロン、セロトニン作動性ニューロン、上皮細胞様細胞、アストロサイト様細胞、底板前駆細胞様細胞における遺伝子発現の情報を、各細胞種に分割した。次に、scRNA-seq により測定できる発現量の平均がばらつきと負に相関することに注意して、BASiCS [Eling *et al.* 2018] を使って発現データを標準化した。遺伝子発現の分散を平均値で除した値 (Fano factor) を発現ノイズと定義して、FastQTL [Ongen *et al.* 2016] と mashr [Urbut *et al.* 2019] を使って tnQTL を決めた。並行して、発現量の平均値を規定する量的形質遺伝子座 (expression QTL, eQTL) も同定した。

(2) tnQTL の特徴を検索

tnQTL の効果量の細胞種および分化段階特異性と、eQTL との重複を検索した。また、ENCODE [ENCODE Project Consortium *et al.* 2020] と FANTOM5 [Andersson *et al.* 2014; Forrest *et al.* 2014] および JASPAR [Castro-Mondragon *et al.* 2022] のデータベース等を参照して、GARFIELD [Iotchkova *et al.* 2019] を使い、tnQTL が遺伝子発現のシス制御領域や転写因子の結合部位に濃縮しているかも調べた。

(3) tnQTL と精神疾患の関連を追究

精神疾患を含む様々なヒトの疾患や形質の関連遺伝子座位を、複数の既報の GWAS データから抽出した。そして LDSC [Bulik-Sullivan *et al.* 2015] と MAGMA [De Leeuw *et al.* 2015] を使い、精神疾患に関連する遺伝子座位への tnQTL の濃縮を検証した。さらに、TwoSampleMR [Hemani *et al.* 2018] にてメンデルのランダム化解析をおこない、疾患の遺伝的リスクに直接的な因果関係のある tnQTL を探索した。

(4) 統合失調症の患者およびモデルマウス (*Setd1a*^{+/-}) の脳における発現ノイズの変化の決定

疾患の遺伝的リスクと発現ノイズの関わりをさらに追究するために、統合失調症に着目した。患者および健常者の前頭前皮質の単一核 RNA-seq (single nucleus RNA-seq, snRNA-seq) [Batiuk *et al.* 2022] と、*Setd1a* 遺伝子のヘテロノックアウトおよび野生型マウスの前頭葉および線条体の scRNA-seq データ [Chen *et al.* 2022] を取得した。そして既報の注釈に基づき、遺伝子

発現の情報を各細胞種に分けた。そして BASiCS を用いた比較解析により、疾患状態における発現ノイズの変化を細胞種ごとに同定した。

(5) 各細胞種における発現ノイズと統合失調症の遺伝的リスクの関連を検索
LDSC と MAGMA を使って、発現ノイズが有意に変化していた遺伝子と統合失調症の遺伝的リスクの関連を検索した。

4. 研究成果

(1) tnQTL の網羅的な同定

それぞれの細胞種および分化段階において約 2 万 5 千～3 万 6 千、合計 4 万以上の tnQTL を決定できた (ドパミン作動性ニューロンの tnQTL は約 3 万～3 万 6 千)。今回同定できた tnQTL の約 80%は、eQTL の効果も有した tnQTL は、関連する遺伝子の近傍に最も多く分布していたが、eQTL に比べるとより遠位にも分布が広がっていた。

(2) tnQTL の特徴を検索

tnQTL の効果量は、eQTL よりも細胞種や分化段階に特異的であった。tnQTL は、eQTL と同様に遺伝子発現のシス制御領域に有意に濃縮していた。tnQTL に濃縮している転写因子の結合部位の大半は eQTL にも濃縮していたが、一部の転写因子は tnQTL や eQTL それぞれに特異的に濃縮していた。

(3) tnQTL と精神疾患の関連を追究

tnQTL や tnQTL 関連遺伝子が精神疾患やその他の疾患や形質に関連する遺伝子座位に濃縮する傾向を認めたが、有意ではなかった (有意水準=0.05)。一方、メンデルのランダム化解析により精神疾患の遺伝的リスクへの直接的な因果関係を認めた tnQTL は、3 個 (注意欠如・多動症)、25 個 (双極性障害)、19 個 (大うつ病性障害)、47 個 (統合失調症) であった。tnQTL の効果量と疾患の遺伝的リスクの相関方向と大きさは、遺伝子座位によって異なっていた。

(4) 統合失調症の患者およびモデルマウス (*Setd1a*^{+/-}) の脳における発現ノイズの変化の決定
統合失調症患者の各神経細胞種において、約 500～2,400 種類の遺伝子の有意な発現ノイズの変化を認めた。一方モデルマウスにおいては、最大約 400 種類の遺伝子に、有意な発現ノイズの変化を認めた。発現量の変化に比べて、発現ノイズの変化は細胞種特異性が高かった。

(5) 各細胞種における発現ノイズと統合失調症の遺伝的リスクの関連を検索

患者の前頭前皮質の浅層興奮性ニューロンや抑制性ニューロンに認めた発現ノイズの増加と、統合失調症の遺伝的リスクに、有意な関連を認めた。また、モデルマウスの線条体にある D2 受容体陽性中型有棘ニューロンに認めた発現ノイズの増加および減少も、統合失調症の遺伝的リスクに有意に関連した。

(6) iPS 細胞への変異導入系の確立

iPS 細胞に疾患関連変異を導入する *in vitro* 実験系を確立した。今後この系を活用して、精神疾患等の遺伝的リスクの分子機序を tnQTL という新しい観点から検索する。

<引用文献>

- MacArthur *et al. Nucleic Acids Res.* 45:D896-D901, 2017
Stahl *et al. Nat. Genet.* 51:793-803, 2019
PGC *Nature* 511:421-427, 2014
Paval *Dev. Neurosci.* 39:355-360, 2017
Conio *et al. Mol. Psychiatry* 25:82-93, 2020
Aguet *et al. Nature* 550:204-213, 2017
Raj & van Oudenaarden *Cell* 135:216-226, 2008
Kim & Marioni *Genome Biol.* 14:R7, 2013
Desai *et al. Science* 373:eabc6506, 2021
Jerber *et al. Nat. Genet.* 53:304-312, 2021
Eling *et al. Cell Syst.* 9:401-413, 2019
Ongen *et al. Bioinformatics* 32:1479-1485, 2016
Urbut *et al. Nat. Genet.* 51:187-195, 2019
ENCODE Project Consortium *et al. Nature* 583:699-710, 2020
Andersson *et al. Nature* 507:455-461, 2014
Forrest *et al. Nature* 507:462-470, 2014
Castro-Mondragon *et al. Nucleic Acids Res.* 50:D165-D173, 2022

Iotchkova *et al.* *Nat. Genet.* 51:343–353, 2019
Bulik-Sullivan *et al.* *Nat. Genet.* 47:291–295, 2015
De Leeuw *et al.* *PLoS Comput. Biol.* 11:e1004219, 2015
Hemani *et al.* *Elife* 7:e34408, 2018
Batiuk *et al.* 8:eabn8367, 2022
Chen *et al.* *Sci. Adv.* 8:eabm1077, 2022

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 Naoki Hirose, Kazuki Nakao, Atsushi Takata
2 . 発表標題 Genome-wide identification of quantitative trait loci of transcriptional noise (tnQTL) for psychiatric disorder genomics
3 . 学会等名 The 46th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Hirose N, Nakao K, Takata A
2 . 発表標題 Genome-wide identification of quantitative trait loci of transcription noise (tnQTL) for psychiatric disorder genomics
3 . 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4 . 発表年 2022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
研究協力者	高田 篤 (Takata Atsushi) (90643693)	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー (82401)	

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