（様式５）

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

精神疾患死後脳の多階層解析

研究代表者　國井　泰人[1)] [2)]

研究分担者　柿田　明美[3)]、富田　博秋[4)]、日野　瑞城[1)]、長岡　敦子[2)] 宍戸 理紗[2)]、

旗野 将貴[2)]、細貝 優人[2)]、岩本　和也[5)]、久保田 健一郎[6)]、沼田周助[7)]

[1)] 東北大学災害科学国際研究所　[2)] 福島県立医科大学　[3)] 新潟大学脳研究所

[4)] 東北大学　[5)] 熊本大学　[6)] 慈恵会医科大学 [7)] 徳島大学

研究要旨

本研究では、精神疾患病態メカニズムの解明を目的として患者死後脳内の分子病態について多階層で検証し、層別化することを目指す。画像研究で異常が指摘されている脳領域から抽出した核酸を用いて､ストレス関連分子やGABA 関連分子等これまでのモデル動物研究等で得られた知見に基づく分子について各々の遺伝子発現解析、遺伝子多型解析、エピジェネティクス解析、タンパク質発現解析など多元的なアプローチを用いて包括的に検討する。また、上記のプロファイルをエンドフェノタイプとして、遺伝子多型や生前の臨床情報（症状及び画像情報等）との関連を解析する。

A. 研究目的

本研究では、統合失調症をはじめとする精神疾患病態メカニズムの解明を目的として、神経伝達システム関連分子、ストレス関連分子、GABA 関連分子等に関して、その遺伝子多型（SNPs）と分子プロファイル（タンパク発現、遺伝子発現、DNA メチル化）との関連を解析する。更に得られたデータは、病型・罹病期間・抗精神病薬の服薬量・死後時間、症状スコアなどの臨床プロファイルを利用して各分子との関係を検討する。

B. 研究方法（倫理面への配慮を含む）

福島精神疾患死後脳バンクにおいて凍結保存された死後脳及び新潟大学脳研究所保管の年齢、性別、死後時間等をマッチさせた非精神神経疾患対照例を測定対象として、神経伝達システム関連分子、ストレス関連分子、GABA 関連分子等について、脳内の複数の領域（前頭前野、上側頭回、淡蒼球など）を用いて ELISA、ルミネックス法によるタンパク発現解析、RNAseq 及び in situ hybridization による遺伝子発現解析、DNA メチル化解析を行う。更に各々の分子について遺伝子多型解析を行い、死後脳分子プロファイル（タンパク発現、遺伝子発現、DNA メチル化）との関連を解析する。さらにそれらのデータに基づいてクラスター解析、パスウェイ解析を行う。統合失調症群に関しては、当バンク特有の詳細な臨床情報（罹病期間、抗精神病服薬量、生活歴・既往歴・手術歴・鎮痛薬を含む全服薬歴、生前の臨床症状スコア等）を駆使して関連を検討する。尚、本研究は各施設の倫理委員会の承認を得ており、ヘル

シンキ宣言に基づいた倫理的原則に則って実施され、発表にあたっては死後脳提供遺族から十分なインフォームド・コンセントを得て、プライバシーに関する守秘義務を遵守し、匿名性の保持に十分な配慮をした。

C.研究結果

福島精神疾患死後脳バンク及び新潟大学脳研究所で集積された死後脳の前頭前皮質、尾状核及び淡蒼球凍結試料を用いて、網羅的SNP解析、CNV解析、RNA-seq 解析、メチル化アレイ解析を開始し、得られた死後脳オミックスデータを用いて、統合失調症病態について下記の新規所見を得た。GABA 系の関連分子とμオピオイド受容体（MOR）に焦点を当てた網羅的解析では、MOR 遺伝子上のSNP rs1799971 は人種依存的に統合失調症リスクと脳内のMOR発現量と抗精神病薬反応性に影響を与えることを発見した（J Psychiatr Res,2023)。また、前頭前皮質のRNA-seqデータを用いて、ストレス関連分子の遺伝子発現量に基づき統合失調症を高ストレス応答群と低ストレス応答群に層別化した研究では、両群の Deferential Expressed genes; DEGs）のパスウェイ解析でDNA二重鎖切断の修復に関わる経路に最大の差を見出した（Front Psychiatry,2023)。さらに、同じデータセットを用いて、網羅的 SNPs 解析から算出した polygenic risk score（PRS）に基づき統合失調症を高ゲノムリスク（高 PRS）群と低 PRS群に分けた群間のDEGsを解析した結果でも、DNA二重鎖切断修復に関わる経路に最も集積が見られた（投稿準備中)。同じく前頭前皮質のRNA-seqデータを用いて統合失調症と健常対照群を比較した解析では、DEGs を 8551 個同定し、それらに対して重み付き遺伝子共発現ネットワーク解析を実施したところ、多発性硬化症関連遺伝子群、炎症関連遺伝子群及びCREB関連遺伝子群の3つの症状関連遺伝子群を見出した（Tranl Psychiatry,2023)。また、双極性障害死後脳における脂質シグナル分子解析では、双極性障害死後脳の前頭前皮質領域でフォスファチジルイノシトールのシグナル伝達系の酵素とそのシグナルの下流のAkt1 およびGsk3βをタンパク質発現レベルで解析したところ、双極性障害群では Akt1 と Gsk3βの発現が高く、PTEN の発現量が低く、双極性障害群の中で見ると、生前の Li の服薬量との間に Akt1 と Gsk3βでは正の、PTENでは負の関連が見られた（Neuropsychopharmacol Rep, 2024)。

D.考察

E.結論

精神疾患死後脳の多階層解析で得られたオミックスデータを様々に検討することによって、その脳病態を構成する分子群とそれらの関連性が明らかになりつつある。今後も、統合失調症死後脳の多階層解析とそれに基づく層別化を進めていく。

F.研究発表（上記課題名に関するもの）

1.論文発表

1. Miyahara K, Hino M, Shishido R, Nagaoka A, Izumi R, Hayashi H, Kakita A, Yabe H, Tomita H, Kunii Y. Identification of schizophrenia symptom-related gene modules by postmortem brain transcriptome analysis. Transl Psychiatry. 13(1):144, 2023.
2. Miyahara K, Hino M, Shishido R, Izumi R, Nagaoka A, Hayashi H, Kakita A, Yabe H, Tomita H, Kunii Y. Ethnicity-dependent effect of rs1799971 polymorphism on OPRM1 expression in the postmortem brain and responsiveness to antipsychotics. J Psychiatr Res. 28;166:10-16, 2023.
3. Shishido R, Kunii Y, Hino M, Izumi R, Nagaoka A, Hayashi H, Kakita A, Tomita H, Yabe H. Evidence for increased DNA damage repair in the postmortem brain of the high stress-response group of schizophrenia. Front Psychiatry. 14:1183696, 2023.
4. Kunii Y, Hino M, Tomita H. Editorial: Molecular pathology in psychiatric diseases: frontiers of postmortem brain

research. Front Psychiatry. 14:1286182, 2023.

5. Hino M, Kunii Y, Shishido R, Nagaoka A, Matsumoto J, Akatsu H, Hashizume Y, Hayashi H, Kakita A, Tomita H, Yabe H. Marked alteration of phosphoinositide signaling-associated molecules in postmortem prefrontal cortex with bipolar disorder. Neuropsychopharmacol Rep. 44(1):121-128, 2024.
6. 國井泰人, 日野瑞城, 富田博秋;クロザピンの作用機序, 臨床精神医学 52(4) 425-432 2023年4月
7. 國井泰人, 日野瑞城, 富田博秋;死後脳を用いた統合失調症研究, 精神医学 65(4) 417-424 2023年4月

2.学会発表

1. 國井　泰人;シンポジウム3 統合失調症の病態仮説の提案:様々な統合失調仮説の死後脳での検証、第53回日本神経精神薬理学会年会、東京、2023/9/7.
2. 宍戸　理紗、日野　瑞城、長岡　敦子、林　秀樹、柿田　明美、三浦　至、富田　博秋、國井　泰人;統合失調症の高ストレス応答群でのDNA二重鎖切断修復に関する分子の発現変動、第45回日本生物学的精神医学会総会、沖縄、2023/11/6-7.
3. 旗野　将貴、宮原　一総、日野　瑞城、長岡　敦子、兪 志前、林　秀樹、柿田　明美、富田　博秋、三浦　至、國井　泰人;ヒト死後脳組織の網羅的遺伝子発現解析に対する交絡因子の影響についての検討、第45回日本生物学的精神医学会総会、沖縄、2023/11/6-7.
4. 日野　瑞城、國井　泰人、宍戸　理紗、長岡　敦子、松本　純弥、赤津　裕康、橋詰　良夫、林　秀樹、柿田　明美、富田　博秋;双極性障害死後脳におけるホスホイノシチドシグナル関連タンパク質の発現変化、第45回日本生物学的精神医学会総会、沖縄、2023/11/6-7.
5. 細貝　優人、日野　瑞城、宍戸　理紗、長岡　敦子、林　秀樹、柿田　明美、富田　博秋、三浦　至、國井　泰人;統合失調症死後脳における S-パルミトイル化酵素遺伝子の発現についての検討、第45回日本生物学的精神医学会総会、沖縄、2023/11/6-7.
6. 長岡　敦子、旗野　将貴、細貝　優人、宍戸　理紗、日野　瑞城、三浦　至、國井　泰人、富田　博秋;精神疾患ブレインバンクにおける生前登録時の自殺予防と自殺脳研究の取り組み、第36回日本総合病院精神医学会総会、宮城、2023/11/17.
7. 藤井　綾香、仲地　ゆたか、日野　瑞城、宍戸　理紗、長岡　敦子、清田　恵美、今村　悠子、國井　泰人、文東　美紀、岩本　和也;日本人精神疾患患者前頭葉試料における網羅的 DNA メチル化状態の予備的解析、第45回日本生物学的精神医学会、沖縄、2023/11/6-7
8. 旗野　将貴、長岡　敦子、細貝　優人、宍戸　理紗、日野　瑞城、國井　泰人、富田　博秋、三浦　至;自殺者死後脳における炎症関連遺伝子の顕著な発現変動-東北精神疾患ブレインバンク集積例からの考察、第35回福島県精神医学会学術大会、福島、2024/2/4.
9. Satoshi Yoshinaga, Julio Leon, Mizuki Hino, Yoshinari Ando, Moody Jonathan, Atsuko Nagaoka, Ayako Kitazawa, Kanehiro Hayashi, Kazunori Nakajima, Chung Chau Hon, Yasuto Kunii, Jay Shin, Ken-ichiro Kubo. Unraveling the molecular signatures of schizophrenia with spatial transcriptomics. the 66th annual meeting of the Japanese society for neurochemistry, Kobe, 2023/7/6-8.

G.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1.特許取得

なし。

2. 実用新案登録
なし。

3. その他
なし。