

特集 2 ゲノム研究成果の臨床還元—課題と未来—

2. ゲノム情報と iPS 細胞技術を活かした精神疾患の病態解明と創薬への応用

有岡 祐子^{1,2)}, 奥村 啓樹^{1,3)}

抄録：精神疾患は、患者自身に多大な苦痛と QOL 低下を引き起こすと同時に、膨大な社会的損失をもたらす。しかし、未だ精神疾患の病態解明には至っておらず、根本的な治療法開発は実現できていない。その理由のひとつとなっているのが、「精神疾患の病態メカニズムを解析・検証できる実験モデル確立の困難さ」である。この課題に立ち向かうべく注目されているのが iPS 細胞である。精神疾患の病態解明研究に iPS 細胞技術が取り入れられた当初を振り返ると、単に「健常者 vs 精神疾患患者」での比較を行った報告が主流であった。近年では、精神疾患発症のリスクゲノムバリエーションに基づいたアプローチへと変化しつつある。本稿では、ゲノムと iPS 細胞のコラボレーションによる筆者らの研究成果を紹介するとともに、iPS 細胞のメリットとデメリット、そして精神疾患の病態解明と創薬における iPS 細胞の可能性について述べる。

日本生物学的精神医学会誌 33 (3) : 123-128, 2022

Key words : mental disorder, genetic study, iPS cell, 22q11.2 deletion syndrome, drug discovery

1. 精神疾患研究における iPS 細胞

精神疾患は、患者自身に多大な苦痛と QOL 低下を引き起こす。そして同時に、就学・就労の困難、自死率の増加や身体疾患合併による平均余命の低下などをきたし、その社会的損失は膨大である。しかし、未だ精神疾患の病態解明には至っておらず、根本的な治療法開発は実現できていない。その理由のひとつとなっているのが、「精神疾患の病態メカニズムを解析・検証できる実験モデル確立の困難さ」である。

長年にわたりさまざまな精神疾患の実験モデルが国内外で報告されてきた。もっとも汎用されている例はいうまでもなく動物モデルだろう。特にマウスは、遺伝子操作や繁殖のしやすさから多用され、分子から細胞、個体、行動解析に至るまでの一連の流れを解析できるため分子に基づいた疾患研究に適している。一方で、精神疾患の標的臓器である脳に関

しては、ヒトとマウスでは構造や分子動態が大きく異なるという問題点が必ず浮上する。ヒトということに着目し、精神疾患患者由来の末梢血や死後脳を用いたアプローチもなされているが、脳にまつわる機能解析ができないという短所が常につきまとう。そこで期待されているのが induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) である。

iPS 細胞は由来となったヒトの遺伝的情報や特性を保持しているとされ、半永久的に増殖できること、そしてさまざまな臓器や細胞に分化できるというメリットを有する。そのメリットは近年の精神疾患研究にも応用されており、iPS 細胞を使うことで、これまでアクセス困難であった患者の脳内神経系細胞の解析が可能になると期待される。しかし、無差別に iPS 細胞でやればよいということではない。iPS 細胞を用いた精神疾患研究がはじまって 10 年以上が経ち、その考え方も変わりつつある。

まず、iPS 細胞を利用するにあたっては、その特

Elucidation of pathology and drug discovery in mental disorders using genomic information and iPS cell technology

1) 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野 (〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Yuko Arioka, Hiroki Okumura : Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

2) 名古屋大学医学部附属病院先端医療開発部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Yuko Arioka : Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8560, Japan

3) 名古屋大学医学部附属病院薬剤部 (〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65) Hiroki Okumura : Department of Hospital Pharmacy, Nagoya University Hospital. 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8560, Japan

【有岡 祐子 E-mail : ariokay@med.nagoya-u.ac.jp】

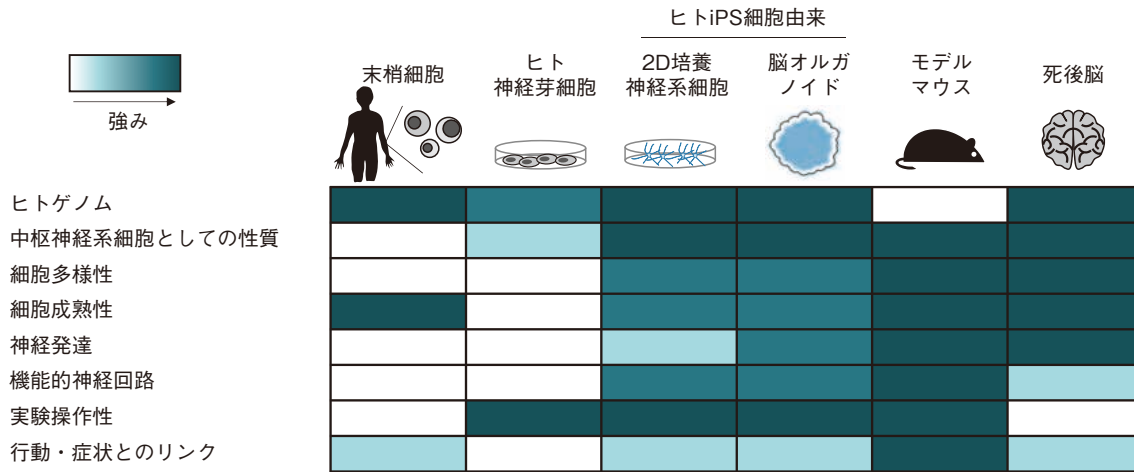


図1 iPSC細胞と各実験モデルのメリットとデメリット比較 (文献6より改変)

徴を考慮しつつ、大きく5つのクエスチョンを考慮する必要があるとされる⁶⁾(図1)。

- 「神経系細胞が必要なのか？」
- 「ヒト細胞である必要があるのか？」
- 「生きた細胞あるいは組織が必要なのか？」
- 「未熟な細胞での解析によって問いに答えられるのか？」
- 「神経回路を解析する必要があるのか？」

iPS細胞から誘導した神経系細胞・脳オルガノイドは他の解析ツールにはないメリットがあり、新たな知見を生み出すことが大いに期待される。一方で、あくまで人工的な実験系であること、成熟度の不十分さや精神症状とのダイレクトなリンクは調べることが困難、といったデメリットを理解しておく必要があるだろう。

さらに、精神疾患の病態解明研究にiPS細胞技術が取り入れられた当初を振り返ると「健常者 vs 精神疾患患者」での比較を行った報告が主流であった。その筆頭となったのが2011年にGageグループが発表した論文である²⁾。統合失調症患者のiPS細胞から誘導した神経細胞では突起数の低下とともに細胞間結合の低下が認められることが報告され、この論文によってiPS細胞を使った精神疾患ヒトモデリングの機運が一気に高まった。しかし、統合失調症患者iPS細胞から誘導した神経細胞では知見の再現性がとれないことが散見された。例えば、ある論文では統合失調症患者ではドーパミン神経細胞への分化亢進が報告されたが¹⁰⁾、ある論文では分化能低下が報告された¹⁹⁾。この理由のひとつとして筆者らが考えているのが、統合失調症患者の病態多様性である。精神症状から「統合失調症」と診断されたとしても、その根底にある分子・細胞機構は実は同一で

はない可能性がある。しかし、iPS細胞を用いた研究では、多様性を包含できるほど解析対象とする患者の数を多くすることに限界もある。

こういった背景を踏まえてか、近年iPS細胞を用いた精神疾患研究は、単なる「健常者 vs 精神疾患患者」から、精神疾患発症のリスクゲノムバリエーションに基づいたアプローチへと変化しつつある。実際、ここ2、3年に発行された国際雑誌のreviewでも多く取り上げられている^{9, 18, 20, 22)}。おそらく、遺伝子解析技術やCRISPR/Cas9などのゲノム編集技術の発展と普及も加勢の一員だろう。ゲノムとiPS細胞のコラボレーションによる精神疾患の病態解明が期待されはじめています。

2. ゲノム×iPS細胞のコラボレーションと筆者らの取り組み

名古屋大学大学院精神医学分野では、精神疾患患者を対象とした大規模ゲノム解析を実施してきた。精神疾患発症への関与が強く示唆されるゲノムバリエーションの同定に加え、統合失調症と自閉スペクトラム症の両者に共通するといった、精神疾患横断的なゲノムバリエーションの存在を明らかにしている^{13, 14)}。このような研究成果からも、精神症状に基づいた診断名だけの病態解析では、そのメカニズム解明が難しいことが示唆される。現在、筆者らの研究グループはこれらの研究成果を活かし、精神疾患関連ゲノムバリエーションを有する患者からiPS細胞を樹立、あるいはゲノム編集によって当該ゲノムを模倣したiPS細胞株を作製し、そこから分化誘導した神経系細胞・脳オルガノイドの解析を進めている。特に本稿では、精神疾患横断的な発症リスクゲノムバリエ

アントのひとつ、染色体 22q11.2 欠失を有する患者 iPS 細胞を用いた筆者らの研究について、その背景と成果を述べる。

22q11.2 欠失は 4,000 ~ 6,000 人に 1 人の割合で認められ、本欠失が認められる患者は 22q11.2 欠失症候群 (22q11.2DS) と診断され、指定難病となっている。多臓器に及ぶ幅広い臨床スペクトラムを有するが、特に脳に着目すると、その患者の約 90% が、神経発達症や統合失調症などの精神疾患に加え²¹⁾、うつや若年性パーキンソン病などの神経疾患といった¹⁷⁾、生涯にわたり何かしらの精神・神経疾患を発症する。さらに本患者は、多臓器疾患と精神・神経疾患が併存することにより、治療薬選択が困難で、さらに身体・精神・知的の三障害にわたることで福祉の狭間に追いやられることが多く、患者だけでなくその家族の心理的・社会的負担はきわめて大きい。実際、「精神科では『心臓病を抱える患者の治療は無理』、循環器内科では『統合失調症患者は診療できない』と言われる。心臓病があっても安心して使える薬剤の開発をしてほしい」「精神・神経疾患になりやすいとわかっているのであれば、それを防ぐための方法をつくってほしい」といった切実な声を耳にする。しかしながら、22q11.2DS 患者でなぜ精神・神経疾患になりやすいのか、そのメカニズムは明らかにできていない。

22q11.2DS 患者の脳病態を理解することが、精神疾患の病態を理解する糸口になる可能性があることから、22q11.2DS 患者 iPS 細胞を用いた研究が国内外で取り組まれている。これまでに、22q11.2DS 患者 iPS 細胞から誘導した神経細胞では、グリアへの分化亢進²³⁾、ミトコンドリア異常¹⁵⁾、脳血液関門の破綻⁴⁾などが報告され、特に 15 人もの 22q11.2DS 患者 iPS 細胞を用いた研究では、対象となった患者の精神症状に依拠することなく共通して神経活動異常が認められた¹²⁾。しかしながら、これらの報告は大脳皮質ニューロン (主にグルタミン酸作動性ニューロン) での所見ばかりであり、22q11.2DS 患者が多様な精神・神経疾患横断的な発症リスクを抱えるのであれば、その他の神経細胞種の情報も得るべきである。そこで筆者らは、これまで着目されることがなかった 22q11.2DS 患者におけるドーパミンニューロンを解析し、22q11.2DS 患者における異常分子基盤のひとつとしてキナーゼタンパク質 PERK の機能不全を明らかにした¹⁾。以下に詳細を述べる。

健常者 3 例 (男性 1 例, 女性 2 例) と 22q11.2DS 患者 3 例 (男性 1 例, 女性 2 例) の iPS 細胞を用いた。それぞれの iPS 細胞をドーパミンニューロンへ

と分化誘導し、患者群で変化する分子機構の探索を目的に半定量プロテオーム解析を実施した。患者群で発現変化するタンパク質を対象とした GeneOntology 解析をした結果、「Protein processing in endoplasmic reticulum」のカテゴリにもっとも有意に集積していた。本カテゴリは小胞体ストレス応答に関与するカテゴリである。そこで、小胞体ストレスに対する応答性や関連タンパク質、シグナルを解析したところ、患者群では定常状態ですでに小胞体ストレスセンサーのひとつであるキナーゼタンパク質 PERK の顕著な発現低下と下流シグナルの活性低下 (=以下, 機能不全) が生じており、小胞体ストレスに対する脆弱性を有していることが明らかとなった。さらにこの PERK の機能不全により、フィロポディアなどの細胞骨格異常や小胞体-ミトコンドリア接触不良なども生じていた。これら表現型は PERK の活性化によって改善、あるいは PERK の欠失や不活化によって再現することができた。近年、ドーパミンニューロンにおける PERK の機能不全がパーキンソン病様の運動異常⁷⁾や、その他精神・神経疾患でも認められるような認知、学習・記憶障害¹⁶⁾を引き起こすことが明らかになっている。これらの表現型は 22q11.2DS 患者で発症しやすい多様な精神・神経疾患の症状に関係していることから、ドーパミンニューロンにおける PERK の機能不全が、22q11.2DS 患者の脳内分子・細胞機構の一端である可能性が考えられる。

それでは、なぜ 22q11.2DS 患者では PERK の機能不全が生じるのだろうか? 検討の結果、22q11.2 欠失領域に含まれる 40 以上の遺伝子のひとつ、DGCR14 遺伝子をノックダウンしたところ、PERK の発現低下が認められた。そこで 22q11.2DS 患者と同様の DGCR14 ヘテロ欠失 iPS 細胞を作製し、ドーパミンニューロンへ分化誘導したところ、DGCR14 ヘテロ欠失ドーパミンニューロンにおいても PERK の発現低下が認められた。つまり、DGCR14 を介した PERK シグナル制御機構が存在しており、患者では 22q11.2 欠失によってその機構が破綻していると考えられる (図 2)。本機構については現在筆者らが解析を進めている。

前述したように 22q11.2DS 患者の脳内分子・細胞機構の解明にあたっては、ドーパミンニューロンの知見は非常に乏しい。脳画像解析によって、22q11.2DS 患者ではドーパミンニューロンが豊富に存在する中脳でエコー輝度の差異が報告されているものの³⁾、分子機構については不明である。本研究成果が 22q11.2DS 患者の脳内の新たな分子機構をも

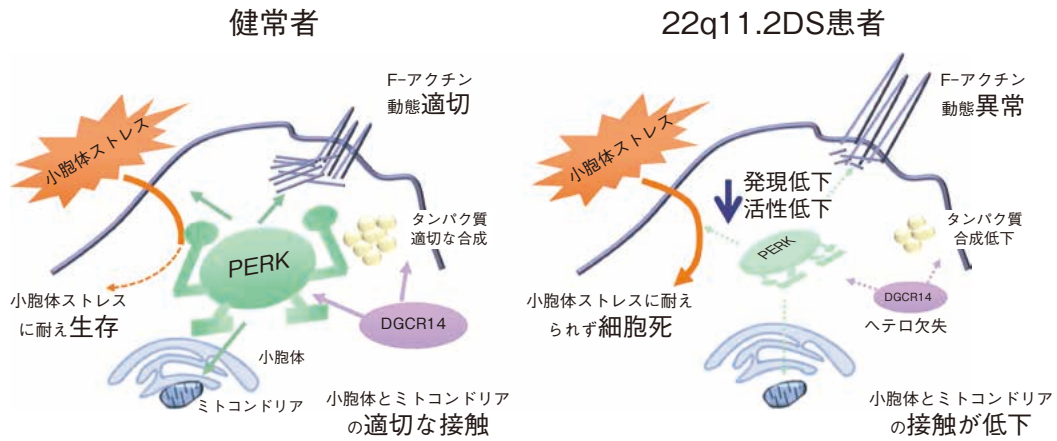


図2 22q11.2欠失症候群患者ドパミンニューロンではPERKの機能不全によってさまざまな脆弱性が生じる

プレス情報はこちら (https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_J/research/pdf/EBio_Med_201218.pdf)

たらずと期待される。さらに、DGCR14は22q11.2DSをもたらずcritical regionに位置する遺伝子であるが、その機能はほとんど明らかになっていない。つまり本研究は、DGCR14の新たな機能を付加する可能性も秘める。このように、ゲノムとiPS細胞を組み合わせることで、新たな病態解明の糸口が切り開かれている。

3. 創薬への応用

iPS細胞を利用することで、精神疾患研究に新たな知見がもたらされる。ではこれをどのように臨床還元していくべきだろうか。ひとつが創薬である²⁴⁾。患者由来のiPS細胞で病態モデルをつくり、薬剤スクリーニングを行う。特に、脳を対象とした疾患の場合、これまで患者由来の中枢神経系細胞での薬剤スクリーニングは不可能であったが、iPS細胞の登場によって大きく発展をみせている。脳の病気では、神経変性疾患が先行して取り組まれており、筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者iPS細胞からつくったニューロンの情報から疾患の治療に有効な化合物候補を選定し、さらにそのニューロンを用いて薬剤スクリーニングを実施、治療薬候補の絞り込みに成功しはじめている。残念ながら精神疾患については一歩出遅れているものの、現在、筆者らの研究グループと製薬企業が共同してiPS細胞を利用した治療薬開発に精力的に取り組んでいる。

ここで、考慮すべき事柄を挙げたい。創薬にあたっては、薬剤の安全性にかかわる副作用についても治療効果を担う主作用と同等に十分な考慮が必要である。現在、国内で承認される抗精神病薬のうち、内服薬の大部分、注射薬に至ってはそのほとんどに致

死性不整脈などの心循環器系副作用が存在する¹¹⁾。心循環器系副作用の存在はときに致命的となり得ることや、治療薬選択の幅を狭めてしまうことから非常に重要な課題である。特に精神疾患患者では、心疾患をはじめとする身体疾患合併による死亡リスクが高いことが報告されており⁵⁾、心循環器系に対する安全性の高い治療薬開発が望まれる。上述した22q11.2DS患者は心疾患合併リスクの高い代表例である。

近年、副作用評価の前臨床試験として、iPS細胞由来心筋細胞が利用されはじめている⁸⁾。しかしながら、健常者iPS細胞が利用されるばかりで、実際に治療薬を服用する患者iPS細胞は利用されていない。そこで、筆者らは精神疾患の創薬に向け、脳病態を反映した薬剤評価系とともに、致死的な副作用の源である患者の心臓を反映した副作用評価系の構築をめざしている。前臨床段階から有効性と安全性に配慮された創薬につながり、莫大な費用が必要なヒト対象段階での脱落率の低減につながることを期待される。

おわりに

精神疾患におけるiPS細胞を取り巻く環境は変わりはじめている。そのなかで常に「精神疾患をどのように*in vitro*で定義づけられるのか」は課題である。これまでの概念に捕らわれることのない新しい発想とアプローチが求められる。筆者らはゲノムとiPS細胞というコラボレーションを基軸に本課題に挑戦するとともに、最終的な目標である患者への還元をめざす次第である。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫

理的配慮をおこなっている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Arioka Y, Shishido E, Kushima I, et al (2021) Chromosome 22q11.2 deletion causes PERK-dependent vulnerability in dopaminergic neurons. *EBioMedicine*, 63 : 103138.
- 2) Brennand KJ, Simone A, Jou J, et al (2011) Modeling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 473 : 221-225.
- 3) Butcher NJ, Marras C, Pondal M, et al (2017) Neuroimaging and clinical features in adults with a 22q11.2 deletion at risk of Parkinson's disease. *Brain*, 140 : 1371-1383.
- 4) Crockett AM, Ryan SK, Vásquez AH, et al (2021) Disruption of the blood-brain barrier in 22q11.2 deletion syndrome. *Brain*, 144 : 1351-1360.
- 5) Crump C, Winkleby MA, Sundquist K, et al (2013) Comorbidities and mortality in persons with schizophrenia : a Swedish national cohort study. *Am J Psychiatry*, 170 : 324-333.
- 6) De Los Angeles A, Fernando MB, Hall NAL, et al (2021) Induced Pluripotent Stem Cells in psychiatry : An overview and critical perspective. *Biol Psychiatry*, 90 : 362-372.
- 7) Elvira R, Cha SJ, Noh GM, et al (2020) PERK-mediated eIF2 α phosphorylation contributes to the protection of dopaminergic neurons from chronic heat stress in *Drosophila*. *Int J Mol Sci*, 21 : 845.
- 8) Harris K, Aylott M, Cui Y, et al (2013) Comparison of electrophysiological data from human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes to functional preclinical safety assays. *Toxicol Sci*, 134 : 412-426.
- 9) Hoffman GE, Schrode N, Flaherty E, et al (2019) New considerations for hiPSC-based models of neuropsychiatric disorders. *Mol Psychiatry*, 24 : 49-66.
- 10) Hook V, Brennand KJ, Kim Y, et al (2014) Human iPSC neurons display activity-dependent neurotransmitter secretion : aberrant catecholamine levels in schizophrenia neurons. *Stem Cell Reports*, 3 : 531-538.
- 11) Huhn M, Nikolakopoulou A, Schneider-Thoma J, et al (2019) Comparative efficacy and tolerability of 32 oral antipsychotics for the acute treatment of adults with multi-episode schizophrenia : a systematic review and network meta-analysis. *Lancet*, 394 : 939-951.
- 12) Khan TA, Revah O, Gordon A, et al (2020) Neuronal defects in a human cellular model of 22q11.2 deletion syndrome. *Nat Med*, 26 : 1888-1898.
- 13) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al (2018) Comparative analyses of copy-number variation in autism spectrum disorder and schizophrenia reveal etiological overlap and biological insights. *Cell Rep*, 24 : 2838-2856.
- 14) Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al (2017) High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Mol Psychiatry*, 22 : 430-440.
- 15) Li J, Ryan SK, Deboer E, et al (2019) Mitochondrial deficits in human iPSC-derived neurons from patients with 22q11.2 deletion syndrome and schizophrenia. *Transl Psychiatry*, 9 : 302.
- 16) Longo F, Mancini M, Ibraheem PL, et al (2021) Cell-type-specific disruption of PERK-eIF2 α signaling in dopaminergic neurons alters motor and cognitive function. *Mol Psychiatry*, online ahead of print.
- 17) Mok KY, Sheerin U, Simón-Sánchez J, et al (2016) Deletions at 22q11.2 in idiopathic Parkinson's disease : a combined analysis of genome-wide association data. *Lancet Neurol*, 15 : 585-596.
- 18) Pintacuda G, Martín JM and Eggan KC (2021) Mind the translational gap : using iPSC models to bridge from genetic discoveries to perturbed pathways and therapeutic targets. *Mol Autism*, 12 : 10.
- 19) Robicsek O, Karry R, Petit I, et al (2013) Abnormal neuronal differentiation and mitochondrial dysfunction in hair follicle-derived induced pluripotent stem cells of schizophrenia patients. *Mol Psychiatry*, 18 : 1067-1076.
- 20) Ross PJ, Mok RSF, Smith BS, et al (2020) Modeling neuronal consequences of autism-associated gene regulatory variants with human induced pluripotent stem cells. *Mol Autism*, 11 : 33.
- 21) Schneider M, Debbané M, Bassett AS, et al (2014) Psychiatric disorders from childhood to adulthood in 22q11.2 deletion syndrome : results from the International consortium on brain and behavior in 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Psychiatry*, 171 : 627-639.
- 22) Townsley KG, Brennand KJ and Huckins LM (2020) Massively parallel techniques for cataloguing the regulome of the human brain. *Nat Neurosci*, 23 :

1509-1521.

22q11.2 deletion. *Transl Psychiatry*, 6 : e934.

23) Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, et al (2016)
Analysis of induced pluripotent stem cells carrying

24) 山中伸弥 (2016) iPS 細胞で広がる創薬の可能性.
ファルマシア, 52 : 197.

■ ABSTRACT

Elucidation of pathology and drug discovery in mental disorders using genomic information and iPS cell technology

Yuko Arioka^{1,2)} Hiroki Okumura^{1,3)}

1) *Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine*

2) *Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital*

3) *Department of Hospital Pharmacy, Nagoya University Hospital*

Mental disorders cause not only a great pain and loss of quality of life for the patients themselves but also enormous losses for the society. However, the pathogenesis of mental disorders has yet to be elucidated, and the development of fundamental treatments has not been realized. One of the reasons for this is that it is difficult to establish experimental models which make it possible to analyze and verify the pathological mechanisms of mental disorders. To overcome this, iPS cells have been attracting attention. Looking back at the early days when iPS cell technology was applied to investigate the pathogenesis of mental disorders, most studies simply compared “healthy subjects vs. patients with mental disorders.” In recent years, the approach has shifted to be based on risk genomic variants for the development of mental disorders. Here, we introduce our research with the combined use of genomic information and iPS cells, and discuss pros and cons of iPS cells, as well as the potential of iPS cells in elucidating the pathogenesis of mental disorders and in drug discovery.

(*Japanese Journal of Biological Psychiatry* 33 (3) : 123-128, 2022)
