

特集 2 精神神経疾患における体細胞変異研究の最前線

1. 体細胞変異と精神神経疾患

高田 篤*

抄録：世の中の多くの事柄には例外が存在する。例えば、ヒトの体を構成する各細胞のゲノム配列は、すべて同じ、ではない。それは、分化や生育の過程で一部の細胞にのみ生成されたゲノム配列の変化、すなわち体細胞変異 (somatic mutation) が存在するからである。体細胞変異は、悪性腫瘍や限局性皮質異形成などのヒト疾患の原因となることが知られているが、これらに加え、精神神経疾患の病態やリスクにも関与する可能性が近年示されている。本稿では、神経発達障害の原因となることがすでに知られている遺伝子が、体細胞変異によって一部の細胞のみで傷害されることが、双極性障害のリスクにつながるのではないかと示す筆者らの研究を紹介するとともに、体細胞変異と精神神経疾患の関連について、末梢もしくは脳組織サンプルを用いて遺伝子網羅的に探索した近年の研究における知見を概観する。

日本生物学的精神医学会誌 34 (4) : 151-155, 2023

Key words : somatic mutation, bipolar disorder, autism spectrum disorder, schizophrenia

赤信号では必ず停車しなければならない、○か×か？

医療関係者が少なくない本誌の読者には簡単な問題かもしれないが、緊急車両はその限りではないため、答えは×である。

では、ヒトの体を構成する各細胞のゲノム配列はすべて同じである、○か×か？

こちらも答えは×。ヒトを含む生物の体は受精卵から始まり繰り返し細胞分裂を行うことで形成され、分裂の際に行われるゲノム複製の精度はかなり正確であるが、完璧ではない。ヒトの場合は、研究間、細胞種間のばらつきはあるが、一度の細胞分裂でおよそ 1 ~ 10 億塩基に一つほど突然変異が生成されるといわれており^{1, 8, 17)}、全身の細胞のゲノム配列は完全に同一ではない。こういった、分化や生育の過程で一部の細胞にのみ生成されたゲノム配列の変化を、体細胞変異 (somatic mutation) とよび、その中には疾患の原因となるものも存在する。その代表例は、細胞に無秩序に増殖する能力を獲得させ、悪性腫瘍の原因となるような、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の体細胞変異であろう。また体細胞変異は、

片側巨脳症や限局性皮質異形成などの脳の疾患の原因となることも知られている^{12, 14)}。そして近年、精神疾患のリスクや病態に体細胞変異が関与することを示す報告が、後述のとおり複数なされている。

ところで、生殖細胞 (生細胞、卵細胞およびその前駆細胞) に生成された突然変異は、体細胞変異ではなく生殖細胞系列変異 (germline mutation) とよぶことになっている。変異を持った生殖細胞から子孫が産まれると、両親では認めないが、その個体では全身の細胞で変異を認めることになり (一部の細胞で変異アレルが両親保有のアレルに突然変異する確率はゼロではないが、きわめて低いため無視することとする)、これらの新生突然変異 (*de novo* 変異) にも疾患と関連するものが存在する。

筆者らは、もともと精神疾患における生殖細胞系列変異の役割を調べており、その結果、生殖細胞系列変異が統合失調症や自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder : ASD) のリスクに関与する遺伝子を同定してきた^{21~23)}。またより近年には、数万人以上を対象とし、生殖細胞系列変異を含むまれな変異を網羅的に解析した大規模研究が他グループか

Somatic mutations in neuropsychiatric disorders

* 理化学研究所脳神経科学研究センター 分子精神病理研究チーム (〒 351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1 理化学研究所 脳神経科学研究センター) Atsushi Takata : Laboratory for Molecular Pathology of Psychiatric Disorders RIKEN Center for Brain Science, Hirosawa 2-1, Wako, Saitama 351-0198, Japan

【高田 篤 E-mail : atsushi.takata@riken.jp】

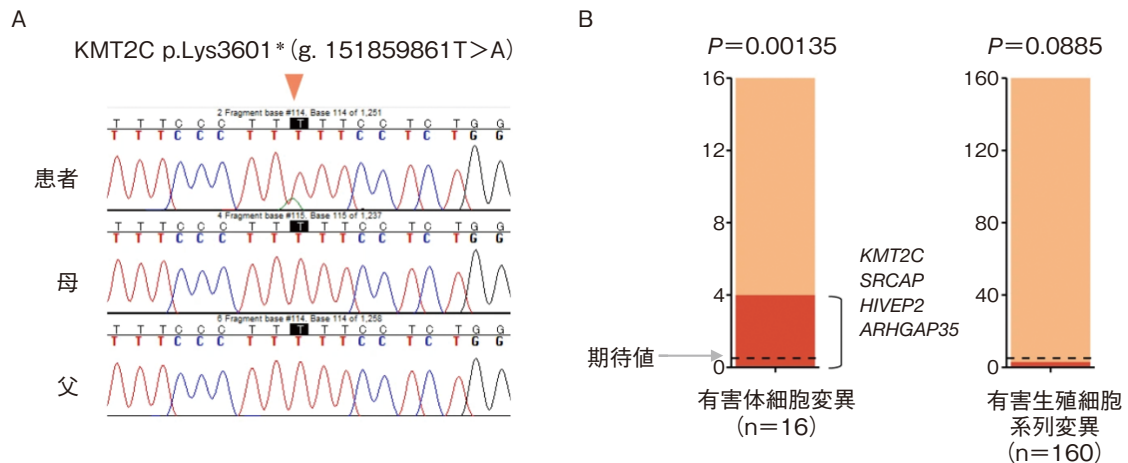


図1 双極性障害と体細胞変異

(A) Kleefstra 様症候群の原因遺伝子 *KMT2C* に認められた機能喪失型 (p.Lys3601*) 体細胞変異のサンガーシーケンス波形。患者にのみ A アレルのシグナルを認めるが、明らかに参照アレル (C アレル) よりもピークが小さい。(B) 有害体細胞変異によって傷害される遺伝子における既知神経発達障害原因遺伝子のエンリッチメント (左)。期待値より有意に多い、4 個の変異が同定された (片側二項検定)。このようなエンリッチメントは、有害生殖細胞系列変異によって傷害される遺伝子には認めなかった (右)。(文献 18 より改変して引用)

ら報告されており、その結果、厳しい統計学的水準を突破した (ボンフェローニ法に相当する多重検定の補正後も有意な) 遺伝子が統合失調症で 10 個、ASD で 72 個同定された^{6, 20)}。一方、有病率が比較的高く、遺伝要因の関与が確実で、大きな疾病負担となっているもう一つの精神疾患である双極性障害に関しては、あまり大きな規模の生殖細胞系列変異解析が行われていなかったため、筆者らを含む共同研究チームは、過去の研究⁹⁾の規模を拡大し、他グループからのデータも統合することで、354 家系を対象とした研究を実施した¹⁸⁾。その結果、双極性障害でも、統合失調症や ASD と同様に、重篤な疾患を認めない一般集団には認めないかごく低頻度でしか存在せず、タンパク質機能を破壊するような生殖細胞系列変異が疾患リスクに関与することを見いだした。個別の遺伝子の解析では、過去に Kleefstra 症候群様の症状を示す遺伝性疾患の原因遺伝子として報告され¹⁰⁾、大きな効果量で ASD リスクに関与する遺伝子としても同定されている⁶⁾、ヒストンメチル化酵素遺伝子 *KMT2C* の機能喪失型変異 (p.Lys3601*) を同定した。当初、もしかしたらこの変異を有している症例は一次障害として神経発達障害や ASD があり、二次障害的に双極性障害の基準を満たす気分の波を認めたのではないかと考え、臨床表現型を再評価した。しかし、知的障害、自閉症状ともに認めず、教育歴としては高等教育を修了していた。

同じ遺伝子の変異を持っていても表現型が異なる

ことはそれほど珍しいことではなく、こういったバリエーションは、個々の変異の機能的影響の大きさ、ポリジェニックリスクスコアや修飾的変異、環境因などによっても説明されうる。一方、この変異を確認したサンガーシーケンスの実験結果に立ち戻り、その波形を眺めてみたところ、別の可能性が浮き上がってきた。なぜならば、明らかに変異アレル (アデニン:A) のほうが、参照アレル (チミン:T) と比べてシグナルが弱かったからである (図 1A)。このようなパターンは、前述の体細胞変異に特徴的なものである。そこで、分子クローニングによる配列解析と、血液以外の末梢組織由来のサンプルを解析したところ、はたして、この変異は生殖細胞系列変異ではなく体細胞変異であることが確認された。

この所見は、筆者らに、「生殖細胞系列変異が神経発達障害の原因となる遺伝子 (例えば Kleefstra 様症候群の原因遺伝子 *KMT2C*) の体細胞変異が、精神神経疾患の原因となるのではないかと」という着想をもたらした。体細胞変異は、上述の研究で使用した通常のエクソームシーケンス (タンパク質をコードするエクソン領域に絞って、網羅的に遺伝子変異を解析する手法) データを、最適化された解析パイプラインで解析することでも検出することができる。そのため筆者らは GATK ベストプラクティス for 体細胞変異²⁾ に準拠したエクソームシーケンスデータ (末梢血もしくは唾液サンプル由来) の再解析を実施し、体細胞変異候補の実験的検証を行い、合計 16 個の機能的影響が大きいと予測される体細胞

胞変異を同定した。うち4つは、既知の神経発達障害原因遺伝子であり、この割合は、期待値よりも有意に大きかった(図1B左)。一方、このような観測値 >>> 期待値という結果は、生殖細胞系列変異(合計160個)では認められなかった(図1B右)。つまり筆者らの着想を支持する所見が得られたわけである。

しかし、この研究にはいくつかの課題がある。列挙すると、1) 生殖細胞系列変異の解析を主目的としたエクソームシーケンスデータのリサイクル研究なので、体細胞変異を感度よく検出するにはシーケンス深度が低い、2) サンプルサイズが十分でない、3) 責任臓器と考えられる脳の研究ではない、4) タンパク質をコードするエクソーム領域しか調べていない、といったところである。そのため筆者らは、これらの課題を解決するための研究を鋭意実施している。順天堂大学医学部精神科の西岡将基先生、加藤忠史先生を中心とした、筆者らを含む多施設共同研究による一部の成果については、遠くないうちに論文として発表できるのではないかと思うので、ご興味のある方は期待いただきたい。

さて、上記は筆者ら自身の研究成果であるが、他のグループからも、精神疾患に体細胞変異が関与することを示す研究が複数報告されている。それのうち代表的なものを、疾患としてはASDと統合失調症に焦点を当て、簡単に紹介したい。ASDについては、比較的以前から大規模なエクソームシーケンス研究がなされていることもあり、これを活用した末梢組織における体細胞変異の研究が、数千サンプル規模で行われている。その結果は、D'GamaとWalshによる総説³⁾によくまとまっているが、使用した解析・実験的検証の手法が同一ではないことなどを反映してか、ある研究では全体として体細胞変異が患者で多い⁵⁾、別の研究では有害と予想される変異だけが多い^{4, 13)}、また別の研究では意外なことにタンパク質配列を変化させない同義置換体細胞変異が多い¹¹⁾、といった具合で、結論を出すためにはより大規模かつ統一的な枠組みによる解析が必要なように思える。また、罹患群59サンプル、対照群15サンプルと規模は大きくはないが、ASDを対象とした脳での体細胞変異研究も行われている¹⁰⁾。ただ、こちらも今のところ患者と対照群の間で際立った差は認められていない。一方、統合失調症に関しては、ASDと比べるとまだ研究はこれから、という感じではあるが、いくつか潜在的に興味深い査読前プレプリント(2023年1月時点)が投稿されている。ケースコントロールそれぞれ一万人以上

の一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)チップデータを用いて、体細胞コピー数変異について網羅的に解析した研究では、有意に患者群で多くの基準を満たす変異を認め(0.91% vs 0.51%, $P = 2.68e-4$)、それらの中には、複数の患者で認めた既知神経発達障害・統合失調症原因遺伝子*NRXN1*の体細胞コピー数変異が含まれることなどが見いだされている¹⁶⁾。また、罹患群61サンプル、対照群25サンプルの死後脳体細胞変異研究では、まだまだ検証が必要と思われるが、全体として統合失調症患者で体細胞変異が多く、特に転写因子結合部位などで非常に多いことが報告されている¹⁵⁾。

これらを概観すると、あくまでも個人の感想ではあるが、体細胞変異は、広汎な発達の問題を呈する疾患(例えば知的障害を伴う神経発達障害やASD)よりも、specificな精神症状を伴う疾患(例えば統合失調症や双極性障害)に、より強く関与しているのかもしれない。そしてこれが本当であれば、体細胞変異の研究、特に死後脳を用いた研究は、統合失調症や双極性障害の病態において重要な役割を果たしている細胞種、脳部位、神経回路の解明にも貢献しうる。なぜならば、体細胞変異は一部の細胞にしか存在しないため、有害な体細胞変異が特定の細胞種等を傷害する場合、それが直接的な脳病理となっているかもしれないからである。そのような研究を推進するためにも、死後脳リソースを整備していくことが引き続き重要であろう⁷⁾。

世の中にはさまざまなタイプの遺伝子変異が存在するが、いわゆる突然変異である体細胞変異は、基本的にごく一部の人の、さらにごく一部の細胞にしか存在しない。さらにそのうちタンパク質コード領域に影響するようなものは数少ない。そのような体細胞変異に焦点を当てた、本特集の元となったシンポジウムでは、「マニャックなテーマ」というコメントが演者、聴衆の双方からしばしば認められた。でも、マニャックな研究だからこそ、起こしうるブレークスルーがある、かもしれないよね。信じるか信じないかはあなた次第です。

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行っている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Brody Y, Kimmerling RJ, Maruvka YE, et al (2018) Quantification of somatic mutation flow across individual cell division events by lineage sequencing. *Genome Res*, 28: 1901-1918. doi: 10.1101/gr.238543.

- 118.
- 2) Caetano-Anollés D (2022) Somatic short variant discovery (SNVs + Indels). Broad Institute. (<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360035894731-Somatic-short-variant-discovery-SNVs-Indels->)
 - 3) D’Gama AM and Walsh CA (2018) Somatic mosaicism and neurodevelopmental disease. *Nat Neurosci*, 21 : 1504–1514. doi : 10.1038/s41593-018-0257-3.
 - 4) Dou Y, Yang X, Li Z, et al (2017) Postzygotic single-nucleotide mosaicism contribute to the etiology of autism spectrum disorder and autistic traits and the origin of mutations. *Hum Mutat*, 38 : 1002–1013. doi : 10.1002/humu.23255.
 - 5) Freed D and Pevsner J (2016) The Contribution of mosaic variants to autism spectrum disorder. *PLoS Genet*, 12 : e1006245. doi : 10.1371/journal.pgen.1006245.
 - 6) Fu JM, Satterstrom FK, Peng M, et al (2022) Rare coding variation provides insight into the genetic architecture and phenotypic context of autism. *Nat Genet*, 54 : 1320–1331. doi : 10.1038/s41588-022-01104-0.
 - 7) Iritani S, Habuchi C, Sekiguchi H, et al (2018) Brain research and clinical psychiatry : establishment of a psychiatry brain bank in Japan. *Nagoya J Med Sci*, 80 : 309–315. doi : 10.18999/nagjms.80.3.309.
 - 8) Ju YS, Martincorena I, Gerstung M, et al (2017) Somatic mutations reveal asymmetric cellular dynamics in the early human embryo. *Nature*, 543 : 714–718. doi : 10.1038/nature21703.
 - 9) Kataoka M, Matoba N, Sawada T, et al (2016) Exome sequencing for bipolar disorder points to roles of de novo loss-of-function and protein-altering mutations. *Mol Psychiatry*, 21 : 885–893. doi : 10.1038/mp.2016.69.
 - 10) Koemans TS, Kleefstra T, Chubak MC, et al (2017) Functional convergence of histone methyltransferases EHMT1 and KMT2C involved in intellectual disability and autism spectrum disorder. *PLoS Genet*, 13 : e1006864. doi : 10.1371/journal.pgen.1006864.
 - 11) Krupp DR, Barnard RA, Duffourd Y, et al (2017) Exonic mosaic mutations contribute risk for autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet*, 101 : 369–390. doi : 10.1016/j.ajhg.2017.07.016.
 - 12) Lee JH, Huynh M, Silhavy JL, et al (2012) De novo somatic mutations in components of the PI3K-AKT3-mTOR pathway cause hemimegalencephaly. *Nat Genet*, 44 : 941–945. doi : 10.1038/ng.2329.
 - 13) Lim ET, Uddin M, De Rubeis S, et al (2017) Rates, distribution and implications of postzygotic mosaic mutations in autism spectrum disorder. *Nat Neurosci*, 20 : 1217–1224. doi : 10.1038/nn.4598.
 - 14) Lim JS, Kim WI, Kang HC, et al (2015) Brain somatic mutations in MTOR cause focal cortical dysplasia type II leading to intractable epilepsy. *Nat Med*, 21 : 395–400. doi : 10.1038/nm.3824.
 - 15) Maury EA, Jones A, Seplyarskiy V, et al (2022) Enrichment of somatic mutations in schizophrenia brain targets prenatally active transcription factor bindings sites. *bioRxiv*, 2022.2002.2023.481681. doi : 10.1101/2022.02.23.481681.
 - 16) Maury EA, Sherman MA, Genovese G, et al (2022) Schizophrenia-associated somatic copy number variants from 12, 834 cases reveal contribution to risk and recurrent, isoform-specific NRXN1 disruptions. *medRxiv*, 2021.2012.2024.21268385. doi : 10.1101/2021.12.24.21268385.
 - 17) Milholland B, Dong X, Zhang L, et al (2017) Differences between germline and somatic mutation rates in humans and mice. *Nat Commun*, 8 : 15183. doi : 10.1038/ncomms15183.
 - 18) Nishioka M, Kazuno AA, Nakamura T, et al (2021) Systematic analysis of exonic germline and postzygotic de novo mutations in bipolar disorder. *Nat Commun*, 12 : 3750. doi : 10.1038/s41467-021-23453-w.
 - 19) Rodin RE, Dou Y, Kwon M, et al (2021) The landscape of somatic mutation in cerebral cortex of autistic and neurotypical individuals revealed by ultra-deep whole-genome sequencing. *Nat Neurosci*, 24 : 176–185. doi : 10.1038/s41593-020-00765-6.
 - 20) Singh T, Poterba T, Curtis D, et al (2022) Rare coding variants in ten genes confer substantial risk for schizophrenia. *Nature*, 604 : 509–516. doi : 10.1038/s41586-022-04556-w.
 - 21) Takata A, Ionita-Laza I, Gogos JA, et al (2016) De novo synonymous mutations in regulatory elements contribute to the genetic etiology of autism and schizophrenia. *Neuron*, 89 : 940–947. doi : 10.1016/j.neuron.2016.02.024.
 - 22) Takata A, Miyake N, Tsurusaki Y, et al (2018) Integrative analyses of de novo mutations provide deeper biological insights into autism spectrum disorder.

Cell Rep, 22 : 734-747. doi : 10.1016/j.celrep.2017.12.074.

23) Takata A, Xu B, Ionita-Laza I, et al (2014) Loss-of-

function variants in schizophrenia risk and SETD1A as a candidate susceptibility gene. Neuron, 82 : 773-780. doi : 10.1016/j.neuron.2014.04.043.

■ ABSTRACT

Somatic mutations in neuropsychiatric disorders

Atsushi Takata

Laboratory for Molecular Pathology of Psychiatric Disorders RIKEN Center for Brain Science

Many things in the world have exceptions. For example, the genome sequence of each cell in the human body is not always the same. This is because there are somatic mutations, changes in the genome sequence that are generated in some cells during their differentiation and growth. Somatic mutations are known to cause human diseases such as cancer and focal cortical dysplasia. Also there is accumulating evidence supporting the contribution of somatic mutations to the pathogenesis of neuropsychiatric disorders. In this review, I will introduce our own research showing that deleterious somatic mutations in genes known to be causal for neurodevelopmental disorders, which affect some but not all cells, may confer the risk of bipolar disorder. Subsequently, recent findings from comprehensive genetic explorations of the association between somatic mutations and neuropsychiatric disorders using peripheral or brain tissue samples will be overviewed.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (4) : 151-155, 2023)
