

特集 2 ヒト検体・データを活用した基礎臨床連携

1. 空間的遺伝子発現解析をはじめとしたヒト死後脳組織の解析

久保健一郎^{1, 2)}, 吉永 怜史^{1, 2)}

抄録：筆者らは、東北精神疾患ブレインバンクから提供された統合失調症の死後脳組織を用いて、空間的遺伝子発現解析と単一細胞（核）遺伝子発現解析の統合的解析に取り組んでいる。解析によって検出された変化については、より多くの死後脳組織を用いて、組織学的な検証を進めている。これらの解析の進展によって、統合失調症の病態生理の一端が明らかになることが期待される。本稿では、主に筆者らが取り組んでいる統合失調症の死後脳組織を用いた空間的遺伝子発現解析を中心に、遺伝子発現解析による統合失調症研究を、ヒト検体・データの活用の一例として紹介する。

日本生物学的精神医学会誌 36 (4) : 141-144, 2025

Key words : spatial transcriptomics, postmortem brain, schizophrenia, Visium, single-nucleus RNA sequencing, snRNA-seq

はじめに

統合失調症は代表的な精神疾患の一つであるが、未だにその病態生理学には不明な点が多い。その要因として、精神疾患に罹患したヒトの検体（脳）を得るには、そのための体制作りを含めて、大きな困難を伴うことが挙げられる。しかしながら、ヒトの脳はほかの動物に比べて高度に発達しているために種差が大きく、精神疾患の脳における変化を知るためには、ヒトの死後脳を用いた解析が必須である。

筆者らは、東北精神疾患ブレインバンクから提供された統合失調症の死後脳組織を用いて、空間的遺伝子発現解析と単一細胞（核）遺伝子発現解析の統合的解析に取り組んでいる⁵⁾。遺伝子発現解析によって検出された、統合失調症における変化については、より多くの死後脳組織を用いて、組織学的な検証を進めている。本稿では、ヒト検体・データの活用の一例として、主に筆者らが取り組んでいる統合失調症の死後脳組織を用いた空間的遺伝子発現解析を中心に、遺伝子発現解析による統合失調症研究を紹介する。

1. 単一細胞遺伝子発現解析

近年の技術的進展によって、単一細胞の遺伝子発現解析や、細胞の空間配置と結びついた解析が可能な空間的遺伝子発現解析などが登場した。特に前者の、単一細胞の遺伝子発現解析を用いた、統合失調症の脳に関する研究についての報告が、有力誌で相次いでいる。

Batiuk らは統合失調症 9 例と対照 14 例の背側前頭前皮質（DLPFC）ブロードマン第 9 野について、単一細胞核の RNA シークエンス（single-nucleus RNA sequencing : snRNA-seq）を行い、GABA 作動性神経細胞の減少とそれに伴う興奮性神経細胞の増加を報告した¹⁾。Ruzicka らは、より大規模に、統合失調症 65 例と対照 75 例の前頭前皮質を用いて snRNA-seq を行った。解析の結果、統合失調症の脳において、特定のサブタイプの細胞の増減は認められず、もっとも影響を受けていたのは興奮性神経細胞であり、神経発達（neurodevelopment）やシナプスに関連する分子経路における遺伝子発現の変化が顕著であった⁹⁾。同様に統合失調症 94 例と対照 97 例の前頭前皮質を用いて snRNA-seq を行っ

Analyses of human postmortem brain tissues including spatial transcriptomics

1) 東京慈恵会医科大学解剖学講座（〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8）Ken-ichiro Kubo, Satoshi Yoshinaga : Department of Anatomy, The Jikei University School of Medicine. 3-25-8 Nishi-shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8461, Japan

2) 慶應義塾大学医学部解剖学（〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35）Ken-ichiro Kubo, Satoshi Yoshinaga : Department of Anatomy, Keio University School of Medicine. 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan

【久保健一郎 E-mail : ken16@jikei.ac.jp, kkubo@keio.jp】

た Ling らの研究では、統合失調症の脳では、神経細胞においてシナプス成分にかかわる遺伝子発現が低下しており、並行して、アストロサイトにおいてシナプスの細胞接着やコレステロールの生合成にかかわる遺伝子発現が低下していた。ただし、同様の低下は加齢でも観察された⁶⁾。

2. 空間的遺伝子発現解析

一方、空間的遺伝子発現解析については、これも Batiuk らがごく簡潔に報告しているが¹⁾、詳細な報告はまだなされていない。筆者らは、統合失調症の死後脳に関して、空間的遺伝子発現解析の中でもプロトタイプである Visium を用いた解析を進めており、その解析結果を含めた研究成果をプレプリントとして bioRxiv に発表した⁵⁾。以下では、その研究成果のごく一部について、かつ、そこで触れていない内容を中心に紹介する。それ以外の内容および詳細については bioRxiv に発表したプレプリントをご参照いただきたい。

筆者らは、空間的遺伝子発現解析を用いて解析する脳部位として、空間的な方向などの推察が比較的容易であると考えられたため、希少試料ではあるものの、前帯状皮質を選択した。精神疾患や神経疾患の病歴のない非疾患対照 4 例と統合失調症 4 例の前帯状皮質を、Visium 解析のための専用スライドに貼り付け、空間的遺伝子発現解析を行った。

この Visium 解析で得られた遺伝子発現解析データを用いて、統合失調症でどのような遺伝子発現変化が生じているかを解析した。その結果、統合失調症と非疾患対照で合計 344 個の遺伝子に関する発現変化が示された⁵⁾。

それらの遺伝子発現変化を示した遺伝子の中で、発現低下を示した遺伝子としては、金属結合タンパク質のメタロチオネインのファミリー遺伝子である *metallothionein 1G (MT1G)*, *metallothionein 1E (MT1E)*, *metallothionein 1M (MT1M)*, *metallothionein 1X (MT1X)*, そして、*metallothionein 2A (MT2A)* が挙げられ、これらは主に統合失調症の脳において、灰白質である第 5/6 層や第 2/3 層において発現が低下していた。

マウスにおいては、メタロチオネインには 4 つの主要アイソフォーム (I~IV) があり、そのうちの 3 つ、I~III が中枢神経系に発現している。これらのメタロチオネインのアイソフォームのうち、I と II は脊髄と脳において、主にアストロサイトで発現し、III は主に神経細胞で発現する⁴⁾。メタロチオネインは亜鉛や銅に結合することが知られるが、そ

のほかにも、抗酸化作用や抗炎症作用をもつと考えられている⁴⁾。また、金属以外にも、酸化ストレスや炎症をはじめとする各種のストレスによってメタロチオネインの発現が上昇することが知られ、MT-I と MT-II のダブルノックアウトマウスは、LPS の投与に対して強い炎症反応が生じることから、メタロチオネインが炎症に対して保護的な役割をもっていると考えられる³⁾。

ヒトではメタロチオネインには 10 個のアイソフォームがあるが、マウスと同様に主に 4 つのグループ (1~4) に分かれる³⁾。そのうち、MT-1 については、上に挙げたファミリー遺伝子を含む、7 つもの遺伝子が MT-1 タンパク質をコードしており、その機能的な重要性が推察される。それらの多くが統合失調症の脳において、一致して発現が低下していたという所見は興味深い。

ほかには、グルタレドキシシン様タンパク質をコードする *chromosome 5 open reading frame 63 (C5orf63)* が、統合失調症の第 5/6 層や第 2/3 層に加えて、白質を含む多くの層において発現が低下していた。熱ショックタンパク質のファミリーである、*heat shock protein family A (Hsp70) member 1A (HSPA1A)*, *heat shock protein family A (Hsp70) member 1B (HSPA1B)* については、白質を中心とした層での発現が低下していた。これらの遺伝子がコードする熱ショックタンパク質の Hsp70 は、酸化ストレスや炎症反応を含む種々のストレス状況にかかわる分子シャペロンとして知られる^{7, 8)}。このように、酸化ストレスや炎症反応にかかわる複数の遺伝子の発現低下が統合失調症の脳において認められた。

一方、発現上昇を示した遺伝子として、免疫応答やアストロサイトの活性にかかわる遺伝子が複数検出された。たとえば、*beta-2-microglobulin (B2M)*, *major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)* と *class I, B (HLA-B)* などは免疫応答において重要な働きをもつ。CD74 は、クラス II の主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) と結合し、免疫応答のための抗原提示にかかわる重要なシャペロンであると同時に、サイトカインであるマクロファージ遊走阻止因子 (macrophage migration inhibitory factor : MIF) の受容体として細胞遊走などを制御する。これらの遺伝子は統合失調症の第 5/6 層などの灰白質に加えて、白質で発現が上昇していた。また、アストロサイトの細胞骨格における中間径フィラメントの一つであるグリア線維性酸性タンパク質をコードする *glial fibrillary acidic protein (GFAP)*、活性化アストロサイトのマーカーとして

も知られる SERPINA3 をコードする *serpin family A member 3* (SERPINA3), さらにはやはりアストロサイトでの発現が知られる分泌性の分子シャペロンで、アポリポタンパク質 J でもある Clusterin をコードする *clusterin* (CLU) などの遺伝子に関しても、統合失調症の灰白質に加えて白質での発現上昇が目立った。興味深いことに、SERPINA3 や Clusterin は、炎症や虚血、さらには変性疾患をはじめとする種々の中枢神経系の病態に関与することが知られている^{2, 10)}。

全体として、筆者らの Visium を用いた統合失調症死後脳の解析からは、統合失調症の脳における酸化ストレスや炎症反応、免疫応答にかかわる遺伝子の発現変化や、アストロサイトの活性化などが示唆された。発現変化を示した遺伝子がコードするタンパク質の多くが、分子シャペロンとしての性質をもっていることは興味深い。今後、これらの所見は、死後脳で組織学的な方法を用いて検証する必要がある。そして、組織学的な検証によって確かめられた場合には、それらの変化が統合失調症にどのようにかかわるのか、すなわち、これらの所見が統合失調症に罹患した結果生じたのか、それとも統合失調症を発症する原因となっているのか、因果関係についての検証を含めた、さらなる精査が必要となる。

おわりに

本稿のような遺伝子発現解析に関する研究では、膨大な情報が得られる。上述のように、研究成果についてのより詳細な内容は bioRxiv にプレプリントとして掲載しているが⁹⁾、その中で記述できなかった情報も実際には多い。本稿では主にプレプリントでは触れられなかった内容について、かつ、行った解析のごく一部について、記載した。

謝辞

貴重な死後脳組織をご提供いただいた、ブレインバンクにご登録いただいた方々に改めて深く感謝申し上げます。

この研究は、理化学研究所および UCSF の Julio Leon 博士、理化学研究所および GIS の Jay W Shin 博士、理化学研究所 Chung Chau Hon 博士、東北大学および福島県立医科大学の國井泰人先生、日野瑞城先生、長岡敦子先生をはじめとする、多くの先生方との共同研究で進められた。

開示すべき利益相反として、本研究で行われた

Visium を用いた解析は、10x Genomics 社が募集した 10x Genomics 2021 Neuroscience Challenge の Winner として無償で行われた。また、筆者らは、上原記念生命科学財団、内藤記念科学振興財団、先進医薬研究振興財団からの研究費を受けた。

本論文に関連して、その他の開示すべき利益相反はない。また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い、倫理委員会による承認を得たうえで行った。

文 献

- 1) Batiuk MY, Tyler T, Dragicevic K, et al (2022) Upper cortical layer-driven network impairment in schizophrenia. *Sci Adv*, 8 : eabn8367.
- 2) Du X, Chen Z and Shui W (2025) Clusterin : structure, function and roles in disease. *Int J Med Sci*, 22 : 887-896.
- 3) Inoue K, Takano H, Shimada A, et al (2009) Metallothionein as an anti-inflammatory mediator. *Mediators Inflamm* : 101659.
- 4) Juárez-Rebollar D, Rios C, Nava-Ruiz C, et al (2017) Metallothionein in brain disorders. *Oxid Med Cell Longev* : 5828056.
- 5) Leon J, Yoshinaga S, Hino M, et al (2024) Integrative transcriptomics reveals layer 1 astrocytes altered in schizophrenia. *bioRxiv*, doi : 10.1101/2024.06.27.601103.
- 6) Ling E, Nemesh J, Goldman M, et al (2024) A concerted neuron-astrocyte program declines in ageing and schizophrenia. *Nature*, 627 : 604-611.
- 7) Makhoba XH (2025) Two sides of the same coin : heat shock proteins as biomarkers and therapeutic targets for some complex diseases. *Front Mol Biosci*, 12 : 1491227.
- 8) Rosenzweig R, Nillegoda NB, Mayer MP, et al (2019) The Hsp70 chaperone network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 20 : 665-680.
- 9) Ruzicka WB, Mohammadi S, Fullard JF, et al (2024) Single-cell multi-cohort dissection of the schizophrenia transcriptome. *Science*, 384 : eadg5136.
- 10) Zhu M, Lan Z, Park J, et al (2024) Regulation of CNS pathology by Serpina3n/SERPINA3 : the knowns and the puzzles. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 50 : e12980.

■ ABSTRACT

Analyses of human postmortem brain tissues including spatial transcriptomics

Ken-ichiro Kubo^{1,2)}, Satoshi Yoshinaga^{1,2)}

1) *Department of Anatomy, The Jikei University School of Medicine*

2) *Department of Anatomy, Keio University School of Medicine*

We have been performing an integrated analysis of spatial and single-nucleus transcriptomics using postmortem brain tissues from individuals with schizophrenia, which were provided by the Tohoku Postmortem Brain and DNA Bank for Psychiatric Research. To validate the changes detected by the transcriptomics, we performed histological analyses using tissues from more individuals. The progress of these analyses will elucidate certain aspects of the pathophysiology of schizophrenia. Here we introduce some of the results of schizophrenia research using transcriptomics as examples of the use of human postmortem samples and data, focusing mainly on spatial transcriptomics.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 36 (4) : 141–144, 2025)
