

(資料 19 : 低酸素状態下での中枢神経由来培養細胞の遺伝子発現変化)

	Probe set	Expression	Responsive gene	Common		Carbohydrate metabolism	Apoptosis	Cell cycle	Cell proliferation
				SK	SV				
SK-N-SH	58182	27171	7+	-	0	0	0	0	0
			64-	-	0	0	-1	0	0
SVGp12	58182	27006	155+	0	-	15+	3+	3+	6+
			15-	0	-	0	0	1-	2-
OL(H)	58182	25416	2100+	0	75+	46+	31+	60+	95+
			1264-	4-	5-	15-	22-	84-	97-

Gene Category	EASE score		
	Oligodendrocyte	Astrocyte	Neuron
signal transduction	1.28E-07	*	*
cell communication	6.07E-07	*	*
immune response	0.00174	*	-
transcription regulator activity	0.00205	*	-
protein binding	0.00225	*	-
cell surface receptor linked signal transduction	0.00336	*	*
response to external stimulus	0.0037	*	-
glycolysis	0.00451	1.23E-05	-
protein modification	0.00574	*	-
cytoskeletal protein binding	0.00719	*	-
defense response	0.00736	*	-
soluble fraction	0.00737	*	-
cytoskeleton	0.00804	*	-
cellular process	0.00891	*	*
response to biotic stimulus	0.00908	*	-
carbohydrate metabolism	0.00916	1.34E-07	-

\*:P&lt;0.05

## II. 研究成果の刊行に関する一覧

論文発表（総説）

1. 富田博秋、田中千晶：精神疾患研究におけるミトコンドリア関連遺伝子の発現変化～病態か、アーチファクトか？  
脳と精神の医学. 19(2):97-106, 2008.
2. 富田博秋：精神科ブレインバンク構築のための倫理的基盤.  
分子精神医学. 8(4):69-72, 2008.
3. 富田博秋：気分障害の網羅的遺伝子発現解析.  
医学のあゆみ. 229(3), 8121-8125, 2009.
4. 富田博秋、田中千晶、兪志前：交絡因子に配慮した脳バンク構築の必要性.  
脳と精神の医学. 20(1), 17-24, 2009.
5. 富田博秋、田中千秋、兪志前、小松浩、木村好、曾良一郎、Helen B. Kim, William E. Bunney. 気分安定薬奏功機序解明のための包括的遺伝子発現解析.  
臨床薬理の進歩30, 2009.

### Ⅲ. 研究成果の刊行物・別冊

## 特集：ミトコンドリア機能障害と精神神経疾患

97-106

精神疾患研究におけるミトコンドリア関連遺伝子の発現変化  
～病態か、アーチファクトか？

富田 博秋\*, 田中 千晶\*

**Key words** : postmortem brain, microarray, agonal state, hypoxia, mental disorder, psychiatric disorder

## 1. はじめに

統合失調症や気分障害等の精神疾患の病態にミトコンドリア機能障害が関与を示す証拠が集積されてきている。統合失調症では、ミトコンドリア呼吸鎖コンポーネントの発現や活性の変化、電顕所見によるアクソン当りのミトコンドリア数の減少等の報告がなされ、気分障害では Phosphorus-31 核磁気共鳴スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy, MRS) によるエネルギー代謝の変化、ミトコンドリア DNA 欠失の増加、ミトコンドリア DNA 多型との相関、ミトコンドリア病との連鎖、灰白質の乳酸レベルの上昇、気分安定薬のミトコンドリア関連遺伝子 BCL2 への影響およびミトコンドリア障害マウスの表現型の類似等の多角的な知見が報告されてきている<sup>1) 2) 10) 11) 12)</sup>。その中で、精神疾患罹患者と健常対照者から提供された死後脳を対象としたマイクロアレイ等の技術を用いて分子遺伝学的現象の包括的解析研究を行っている複数の研究グループがミトコンドリア関連遺伝子の発現変化を示唆する報告を行って

り、精神疾患の病態へのミトコンドリア機能障害の関与を示す更なる証拠として関心が寄せられている<sup>1) 2) 10) 11) 19) 24) 25)</sup>。

一方で、死後脳組織を対象とする研究では、解析の標的となる精神疾患の病態という因子以外に、死戦期 (死に至る過程にある時期) の状況や服薬歴、喫煙歴等の生前の状況などの因子群、さらに死戦期の状況、服薬歴、喫煙歴等の因子によって引き起こされるとされる脳組織の pH の低下や RNA の退縮という因子群が、マイクロアレイ研究などで得られる発現プロファイルに大きく影響を及ぼすことが知られている<sup>8) 9) 14) 15) 16) 22) 25) 26)</sup>。特に、マイクロアレイで解析しうる数万の全ゲノム遺伝子の転写物の中でも、ミトコンドリア機能に関連する遺伝子の転写物発現は死戦期の状況や組織 pH の低下等の因子に敏感に影響を受けることを示唆する複数の報告がなされていることから<sup>9) 14) 25)</sup>、死後脳組織におけるミトコンドリア関連遺伝子の発現変化の解釈には注意を要する。筆者らはカリフォルニア大学アーバイン校の脳バンクと連携して精神疾患の分子遺伝学的病態解明を行っているブリッカー・コンソーシアムの一員と

Mitochondria-related Gene Expression Profile in Psychiatric Postmortem Brain Studies ~ Pathology or Artifact ?

\* 東北大学大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野 [〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1] Hiroaki Tomita, Chiaki Tanaka : Department of Biological Psychiatry, Tohoku University Graduate School of Medicine, 1-1 Seiryō-Machi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan.

【富田博秋 E-mail : htomita@mail.tains.tohoku.ac.jp】

表1 精神疾患(統合失調症・気分障害)死後脳マイクロアレイ研究が示すミトコンドリア関連遺伝子発現異常

研究グループ	ハーバード大学	サイキアトリック ジェノミクス社	ケンブリッジ大学	トロント大学	理化学研究所 精神疾患動態	ブリッカー コンソーシアム
出典	Konradiら 2004	Altarら 2006	Prabakaranら 2004	Sunら 2006	Iwamotoら 2005	Vawterら 2006
脳バンク	ハーバード	スタンレー	スタンレー	スタンレー	スタンレー	アーバイン
解析された脳領域	海馬	海馬	前頭前野	前頭前野	前頭前野	前頭前野 (帯状回)
ミトコンドリア遺伝子発現 変化が観察された疾患	双極性障害 (統合失調症)	統合失調症 (気分障害)	統合失調症	双極性障害	双極性障害 (統合失調症)	双極性障害 大うつ病性障害
平均 pH (平均 28S/18S)	(対照者: 1.1) (罹患患者: 0.8)		対照者: 6.54 罹患患者: 6.4	対照者: 6.61 罹患患者: 6.43	対照者: 6.73 罹患患者: 6.65	対照者: 6.95 罹患患者: 6.97
pH カットオフ					> 6.5	>6.6

して、死後脳組織を対象とする研究を行う一方、培養細胞を用いて死後脳研究に必要な諸要因が脳内細胞特異的に及ぼす遺伝子発現プロファイルへの影響の評価を行っている。本稿ではこれまでの精神疾患の死後脳研究におけるミトコンドリア関連遺伝子を含む発現プロファイリングのデータが病態とアーチファクトのどちらをどの程度反映している可能性があるかについての考察を行うとともに、ミトコンドリア関連遺伝子の発現解析のみならず、今後、死後脳組織を対象とする分子遺伝学的研究を行う際や、その研究結果を解釈する際に留意すべき点について検討を行う。

## 2. 死後脳マイクロアレイ研究が示す精神疾患の病態がミトコンドリア関連遺伝子発現に及ぼす影響

精神疾患罹患者と健常対照者の死後脳マイクロアレイ所見の比較の際に見られる顕著な遺伝子発現プロファイリングの変化として、これまで、ミエリン・オリゴデンドロサイト関連遺伝子<sup>2) 5) 7) 10) 20) 25)</sup>、細胞間・細胞内の信号伝達関連遺伝子<sup>3) 6) 7) 17) 18) 20) 24)</sup>とともにミトコンドリア関連遺伝子の発現プロファイリングの変化は複数のグループが共通して報告している<sup>1) 10) 13) 19) 24) 26)</sup>。ミトコンドリア関連遺伝子の発現変化を複数の研究グループが観察していることは、これまでのMRS研究やDNA多型

解析等と併せて考えると、精神疾患の病態にミトコンドリア機能異常が関与していることを裏打ちする有力な証拠に思える(表1)。

しかし、注意しなければならないのは、死後脳マイクロアレイ研究において報告されているミトコンドリア関連遺伝子の発現変化はミトコンドリア関連遺伝子の総体でみたカテゴリとしての一致であるという点である。ミトコンドリア関連遺伝子というカテゴリには非常に多種の遺伝子が含まれるが、ミトコンドリア関連のどの遺伝子の発現が変化しているかということになると研究グループ間での共通はほとんどなくなるといってもよく、オリゴデンドロサイト関連や細胞間・細胞内の信号伝達関連の遺伝子では個々の遺伝子レベルでも発現変化に再現性があることと対照的である。

例えば、統合失調症の死後脳マイクロアレイ研究でミトコンドリア関連遺伝子に着目した報告にケンブリッジ大学のグループが前頭前野、ハーバード大学およびサイキアトリック・ジェノミクス社が各々独立に海馬を解析した研究がある。対象となる組織が同じではないとはいえ、顕著に変化するミトコンドリア関連遺伝子としてリストされた遺伝子には全く共通が見出せない<sup>1) 18) 19)</sup>。

さらに、トロント大学、理化学研究所、ブリッカー・コンソーシアムの三つの研究グループが各々独立に双極性障害罹患者の前頭前野という同

一疾患、同一脳領域を対象としたマイクロアレイ解析を行い、ミトコンドリア関連遺伝子というカテゴリ・レベルでは一致した遺伝子発現変化を報告しているが、個々の遺伝子レベルでみると、やはり、全く共通するところがない。トロント大学の研究では25個、理化学研究所の研究では26個、ブリッカー・コンソーシアムの研究では17個の遺伝子が一定の基準を超えて顕著に遺伝子発現変化を受ける遺伝子としてリストされているが、これらで共通する遺伝子はUQCRC2遺伝子の一つのみで、しかもこの遺伝子はトロント大学の研究では健常対照者群に比して双極性障害群に低く観察されているのに対して、理化学研究所の研究では逆に双極性障害群に高く観察されている。しかも、トロント大学も理化学研究所も同じスタンレー脳バンクから供給される脳組織を対象に行われているにも関わらず、このような相違が生じるのは主に理化学研究所の方が、次節で記載する通り、より組織pH等の交絡因子に関して厳しい基準を設けて解析していることに由来していると考えられる。しかし、組織pH等に関して同様に厳しい基準を設けて解析しているブリッカー・コンソーシアムの研究とのオーバーラップも見られないことは、死後脳組織におけるミトコンドリア関連遺伝子の発現解析の難しさを示している<sup>9) 24) 26)</sup>(表2)。

ケンブリッジ大学のグループは統合失調症群と健常者群の前頭前野を比較して、ミトコンドリア関連遺伝子の他に、低酸素に惹起されることが知られている遺伝子を差の見られた遺伝子群として報告している。さらに、研究対象とした統合失調症群の組織pHが健常者群のものに比べて有意に低いことを指摘し、このpHの差こそ、統合失調症の病態に関係したものであるという仮説を提起している<sup>10)</sup>。しかし、もし組織のpH低下とそれに伴うミトコンドリア遺伝子発現変化が疾患特異的なものであれば、もう少し研究グループ間に再現性が見られてもよいと思われる。研究グループ間でミトコンドリア関連遺伝子がカテゴリ・レベルでは検出されるのに、個々のレベルでの再現性が低いということが物語るのは、ミトコンドリア関連遺伝子のカテゴリに属する遺伝子は総じて

様々な因子に敏感に反応して発現に影響を受け易く、その影響の受け方はランダムであるということ、このため、現時点では精神疾患の病態以外の因子の影響を強く反映しており、疾患特異的な変化を検出することが困難な状況であると考えられる。

### 3. 精神疾患の病態以外の諸要因が死後脳組織の分子遺伝学的状態に及ぼす影響の検討

精神疾患の病態を解析する上で、病態という因子以外に死後脳組織の分子遺伝学的状態に影響を及ぼす因子は交絡因子として、注意深く情報を収集しその影響を検討しなければならない。これらの交絡因子として、性別、死亡時の年齢、生活歴(アルコール、喫煙、その他の依存性物質摂取歴を含む)、死戦期(Agonal Factor: 死に至る過程にある時期で循環動態が脳等の重要臓器の機能を維持するには不十分と考えられる)の状況や期間、死亡後脳組織凍結までの時間(Postmortem Interval: PMI)、解析に用いられるまで凍結されていた期間(Freezer Time)などの一般情報、生前の病状の経過、死亡時の精神状態、治療歴、合併症の影響などの臨床情報が考えられる。また、これらの臨床情報を反映もし、さらに、組織の状態の客観的な指標になるのが、組織の神経病理学的所見、組織pH、総RNAの退縮(Degradation)の程度などの情報である(図1)。

#### 1. 組織pHとRNAの退縮

これらの因子のうちでも死後脳組織の遺伝子発現プロファイルに大きな影響を持つ要因に関してコンセンサスを得ている因子は、組織pHの低下と総RNAの退縮である。総RNAの退縮の程度がマイクロアレイ解析などの遺伝子発現プロファイルに多大な影響を及ぼすことについては多くの論文が一致して報告しており、このことに疑いを挟むものはないと思われる。RNA退縮の程度を評価する方法についての検討もなされてきており、従来はリボソームRNAの28Sと18Sの発現量や発現量の比などが指標として用いられてきたが、Agilent Bioanalyzer等により28Sと18Sの

表2 双極性障害死後脳（前頭前野）マイクロアレイ研究が示すミトコンドリア関連遺伝子発現異常

研究グループ	トロント大学		理化学研究所 精神疾患動態		ブリツカー コンソーシアム	
出典	Sun ら 2006		Iwamoto ら 2005		Vawter ら 2006	
脳バンク	スタンレー		スタンレー		アーバイン	
健常者 pH	6.61 ± 0.27		6.73 ± 0.15		6.95 ± 0.07	
双極性障害 pH	6.43 ± 0.30		6.65 ± 0.14		6.97 ± 0.10	
脳領域	前頭前野		前頭前野		前頭前野	
遺伝子リスト	遺伝子シンボル	増減	遺伝子シンボル	増減	遺伝子シンボル	増減
A で始まる遺伝子	ATP5C1	減	AK2	減	APG1	増
	ATP5G3	減	AKAP10	増	ATP6V0E1	増
	ATP5J	減	AKAP10	増		
			ANKRD6	増		
C で始まる遺伝子	CLPX	増	CASQ1	増	CAT	増
	COQ7	減	COX15	増	CCT3	増
	COX5A	減			COX6A1	減
	COX6C	減				
D で始まる遺伝子	DIABLO	減	DKFZp547P234	増	DAD1	増
			DLAT	増		
E で始まる遺伝子	ENO2	減	ETFDH	増		
F で始まる遺伝子			FLJ20288	増		
G で始まる遺伝子	GAPDH	減	GLDC	増	GATM	増
	GPI	減			GLUL	増
	GPX4	減				
H で始まる遺伝子	HMGCS2	増	HADH	増	HADHB	増
	HTRA2	減			HSPA2	増
					HSPA5 増	
I で始まる遺伝子			IDE	増		
M で始まる遺伝子	MCCC1	減	MAOB	増	MAPK1	減
	MCEE	増	ME1	増		
	MMAA	増	MRPL3	増		
	MPST	減	MRPL39	増		
	MRPS12	減	MRPL48	減		
	MSRB2	減	MRPS22	増		
			MTO1	増		
N で始まる遺伝子	NDUFS7	減	NDUFS1	増	NAPG	減
	NDUFS8	減	NME6	増	NR4A1	減
O で始まる遺伝子			OGG1	減		
P で始まる遺伝子			PPM2C	増		
S で始まる遺伝子	SLC25A16	減			SPP1	増
T で始まる遺伝子	TOMM40	減	TIMM22	減	TM4SF10	増
U で始まる遺伝子	UQCRC2	減	UQCRC2	増		



<p><b>一般情報</b></p> <p>性別、死亡時の年齢          生活歴 (アルコール、喫煙、依存性薬物摂取歴を含む)  <u>死因、死亡時の状況 (Agonal Factor)</u>          死亡後脳組織凍結までの時間 (Postmortem Intervals)          解析に用いられるまで凍結されていた期間 (Freezer Time)</p> <p><b>臨床情報</b></p> <p>生前の病状の経過、死亡時の精神状態          治療歴          合併症の影響</p> <p><b>組織の状態の客観的指標</b></p> <p>神経病理学的所見  <u>組織 pH</u>  <u>総RNAの退縮 (Degradation)</u></p>
--

図1 死後脳組織を対象とする分子遺伝学的研究においてデータへの影響を考慮すべき要素

ピークに加え、ベースラインの状態も含めて RNA 退縮を評価する指標である RIN (RNA Integrity number)<sup>21)</sup> がより信頼性の高い指標として広く用いられてきている他に、RQS (RNA quality scale) も提唱されている (Copoys 2007)。また、アレイデータに基づく Post-hoc Quality 評価 (Degradation Plot, Average Correlation Index, Clustering Analysis, Dispersion Tree 等) も有用と考えられる<sup>9) 14) 25)</sup>。

組織 pH の低下と総 RNA の退縮には高い相関を見出す報告は、一部の例外はあるものの、数十年に渡って非常に多くのデータが蓄積されており、マイクロアレイ研究が登場以降は組織 pH 低下が RNA 退縮と遺伝子発現プロファイルに大きな影響をもつという報告が多くなされている<sup>8) 9) 14) 15) 16) 22) 25) 26)</sup>。

組織 pH の因子が遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響の大きさは、その他の精神疾患の病態、治療歴、喫煙歴、性別、PMI、組織の保存期間などを含む他の要因よりもはるかに大きいという複数の報告があり、死後脳組織の分子遺伝学的解析を行う上で注意して取り扱うべき因子と考えられる。複数の研究グループが死後脳組織の分子遺伝学的状態に顕著なアーチファクトを引き起こしうる cut-off 値を検討した結果、pH6.5 前後が提唱されている<sup>9) 14) 16) 25)</sup>。もちろん cut-off 値はより高い

ほうが良いと考えられるが、pH6.5 以下の組織を含む解析では大多数の遺伝子の発現レベルが組織 pH と相関し、pH の遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響が他の因子に比べて圧倒的に大きいものに対し、pH6.5 以上の組織のみでの解析を行うと pH の影響は顕著に弱まる。

死後脳組織によって組織 pH が生体の生理的 pH に近く保たれているものから、pH6.0 を切るような顕著なアシドーシスを来しているものまであることに関しては、一般に、次項以降で述べる死戦期の低酸素等の細胞へのストレスのため、細胞内の乳酸が上昇し、組織のアシドーシスを来し、組織 pH が低下することが死後脳組織に観察される著しい pH 低下の機序として考えられている。動物実験から死後組織の pH が著しく低下するのは死後 10 分間以内の比較的直ぐの時期で、一旦、低下してしまうとそのまま 24-36 時間は安定という報告もある。死後脳組織で観察されるような pH6.0 前後で生体脳の機能が保たれているとは考え難いので、死戦期にストレスを受けた脳では死後急速にアシドーシスが進むものと思われる (図 2)。

低 pH の脳組織で RNA の退縮が進む機序についてもよくわかっておらず推測の域をでない。通常 RNA 分解酵素が活性化すると数時間以内に RNA の退縮が進むはずであるので、死後脳組織

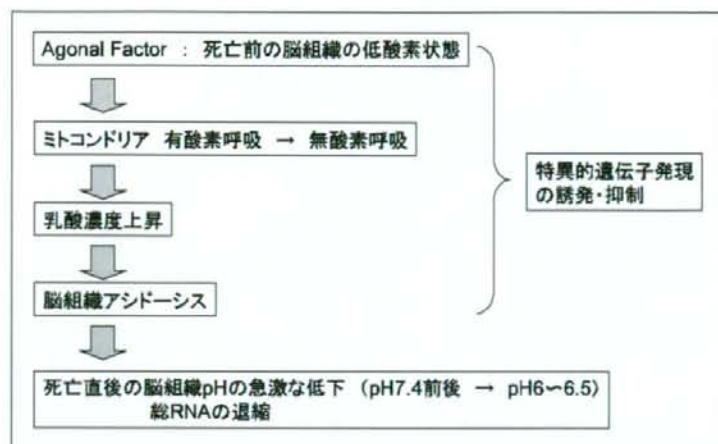


図2 脳組織のpH低下・発現プロファイル著明変化の機序

から比較的安定したRNAが抽出されることが多いのは、RNA退縮を防ぐ何らかの機構が働いているものと考えられる。次項で述べるような死戦期の影響を免れて組織pHが高く保たれている組織の場合、死後ATP濃度が急速に低下するためATP依存性のRNAの退縮が生じ難い、RNA分解酵素よりもRNA分解酵素の阻害酵素の方が長く失活を免れる、または、死後に翻訳されなくなったRNAはRNA分解酵素の分解の対象になりにくくなるなどの機序が想定されているのに対し、アシドーシスを呈する組織ではこれらのRNAを安定化させる機序が働き難くなるなどの可能性が考えられる。

また、組織pHの低下や死戦期の状況などの因子が遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響はRNAの退縮の程度に及ぼす影響を介したものでなく、死戦期の間の遺伝子発現調節への影響を介したものも含まれると考えられる。

組織pHは遺伝子発現プロファイル全体に大きな影響を及ぼすが、その中でも特にミトコンドリア関連遺伝子の発現は低酸素状態に敏感に影響を受けることを示唆する複数の報告がなされている<sup>9) 14) 26)</sup>。健常者の高pHの組織と低pHの組織を比較した場合、ミトコンドリア関連遺伝子は他のカテゴリの遺伝子よりも大きく動き、また、高pH組織だけを解析してもミトコンドリア関連遺

伝子の発現レベルは他のカテゴリの遺伝子よりもpHに相関する傾向が見られる。Halimらが指摘するように統合失調症群と健常対照者を比較した研究の多くで統合失調症群において若干pHが低いということは、データを解釈する上で十分な注意を要するものと考えられる<sup>9)</sup>。

## 2. 死戦期 (Agonal State) の状況と期間

死戦期とは死に至る過程にある時期で循環動態が脳等の重要臓器の機能を維持するには不十分と考えられ、脳組織の細胞にとって大きなストレスを引き起こすとされており、死戦期の状態や期間が死後脳組織の分子遺伝学的状態に大きな影響を及ぼすことは想像に難くない。死後脳組織の分子生物学的現象に影響を及ぼす死戦期の状態には図3に示すような因子が挙げられる。当然、この問題は長年に渡る死後脳研究の中でしばしば検討されてきており、著しい低酸素状態等に暴露されるという死戦期の状態や長期間の死戦期が組織pHの低下やRNAの退縮と相関することを示す多くの報告がなされている(図3)。

死戦期の影響が大きいと考えられる症例を予め解析の対象から除外することは理想的であると考えられる。一方、死戦期の影響の評価は主観的になりがちで、特に低酸素の評価を客観的に行うことは困難であることもあり<sup>27)</sup>、死戦期の状況だけ

**Agonal Factor Score**

- I. 苦悶状態の期間(Duration of agonal phase)
- II. 分子遺伝学的現象に影響する特異的な苦悶状態  
(1)低酸素 (2)昏睡 (3) 高熱 (4) 痙攣 (5) 著しい脱水 (6) 低血糖  
(7) 多臓器不全 (8) 頭部外傷 (9) 神経毒性物質の摂取

**脳組織 pH**

総RNA退縮(リボソーム RNA 28S/18S 比・RIN)

アレイデータに基づくPost-hoc Quality 評価

**Degradation Plot**

ACI (Average Correlation Index)

Clustering Analysis etc

図3 死後脳研究における Quality Control の指標

でサンプルを研究対象から外すかどうかは議論の分かれるところであると思われる。少なくとも可能な限り死戦期の状態を含む詳細な臨床データを集積し、慎重に評価を行うことは重要と考えられる。

**3. 服薬歴, 喫煙歴, その他の因子**

前項の通り, 死戦期の影響に比べるとその他の交絡因子の影響は比較的小さいと考えられるが, 死戦期の影響以外で組織の pH に影響を及ぼしうる交絡因子として報告されているものに服薬歴と喫煙歴が挙げられる。Halim らは統合失調症と健常者群では, 統合失調症群で pH が低いことを指摘し, この pH 低下は死因・死戦期の状態からくる影響だけではなく, 抗精神病薬の投与による影響を指摘している。Halim らの報告でこの可能性を示唆する証拠として, 統合失調症群で, 抗精神病薬を投与したラット脳内の乳酸上昇と pH 低下が観察されており, 統合失調症の脳組織の pH 低下には抗精神病薬の内服の影響である可能性を指摘している<sup>8)</sup>。一方, Lipska らは生前の喫煙歴が脳組織の pH を低下させ, RNA を退縮させる要因になっていることを指摘している<sup>15)</sup>。

症例数を考えると, 服薬歴や喫煙歴の影響は死戦期の影響程は大きくないと考えられるため, 抗精神病薬の未服薬症例や非喫煙症例だけを解析を行うことを考えるのは現実的ではないことから, 統計解析の際にこれらの因子を交絡因子として注意深く取り扱うことが重要と考えられる。

この他にも, PMI は死戦期の影響と比べると小さいものの RNA の退縮に若干の影響を及ぼし, また, 死亡時の年齢, 性差などの要因も特定の遺伝子発現のプロファイルに何らかの影響を及ぼすことが知られている。これらの因子もやはり統計解析の際に交絡因子として検討が必要である。

**4. 低酸素状態の細胞特異的な遺伝子発現プロファイルへの影響**

死後脳組織の分子遺伝学的研究を行う上で考慮しなければならないもう一つの重要なことに脳組織は多種多様な細胞種により様々な比率で構成されていることである。組織ブロックの遺伝子発現プロファイルのある種の特徴は, 各細胞種における遺伝子発現変化の総体であり, 細胞種のポピュレーションもある程度反映していると考えられる。脳を構成する神経細胞, 各種グリア細胞の種類によって低酸素に対する反応性が異なることが示唆されており, 各細胞種への影響を評価することは今後の重要な課題として残されている。グリア細胞の中でもオリゴデンドロサイトは, 前述の通り, 近年精神疾患の病態への報告が多い一方で, 神経細胞とともに低酸素などのストレスに脆弱なことが知られている。

我々はヒト脳のニューロンおよびオリゴデンドロサイト由来の培養細胞を用いて, 低酸素状態下における各細胞種に特異的な遺伝子発現パターンの変化をマイクロアレイ解析により包括的に検討を行った結果, オリゴデンドロサイト由来の細胞は低酸素状態下でミトコンドリア関連の遺伝子発現に顕著な変化が見られることを観察した。マイクロアレイ上には 54613 個の転写物があり, このうち 757 個の転写物がミトコンドリア関連転写物に分類されている。低酸素刺激により神経細胞由来細胞 SK-N-SH では 267 個の転写物の発現が増加, 295 個が減少しているのに対し, オリゴデンドロサイト由来細胞 OL では低密度での培養では 877 個の転写物が増加, 745 個の転写物が減少, 高密度培養ではさらに多くの転写物に顕著な変化が認められた。これらの発現が増減した転写物のうちミトコンドリア関連の転写物が占める割合は

表3 各種培養細胞で低酸素状態により発現に影響を受ける転写物数

	神経細胞由来細胞	オリゴデンドロサイト 由来細胞 (低密度)	オリゴデンドロサイト 由来細胞 (高密度)
マイクロアレイ上の全転写物数	54613	54613	54613
マイクロアレイ上の全転写物のうち ミトコンドリア関連の転写物数	757	757	757
低酸素により増加した転写物数	267	877	2882
低酸素により増加した転写物のうち ミトコンドリア関連の転写物数	1	19	53
増加したミトコンドリア関連転写物 数が偶然に観察される可能性	N.S.	< 0.05	< 0.05
低酸素により減少した転写物数	295	745	4012
低酸素により減少した転写物のうち ミトコンドリア関連の転写物数	4	18	125
減少したミトコンドリア関連転写物 数が偶然に観察される可能性	N.S.	< 0.05	< 0.01

ミトコンドリア関連転写物がアレイ上にデザインされている割合より有意に高く、ミトコンドリア関連転写物はオリゴデンドロサイト由来細胞でとりわけ敏感に低酸素に反応することを示唆している(表3)。

今後、さらに低酸素状態が及ぼす脳内の細胞種特異的な遺伝子発現パターンを明らかにすることで、低酸素の細胞への影響の分子基盤が解明されるとともに、死後脳組織の死戦期の低酸素への暴露の影響を評価する尺度の作成にも寄与することが期待される。

## 5. おわりに

～今後の死後脳研究に求められるもの～

以上から本稿の表題の精神疾患研究においてミトコンドリア関連遺伝子の発現変化が病態か、アーチファクトか?という問題については、ミトコンドリア関連遺伝子が特に死戦期の状況・組織pH等の因子に敏感に影響を受けやすいこと、そして実際に観察されている遺伝子群にほとんど一致が見られず、病態という因子に対してランダムな遺伝子発現変化を拾っているように見えることから、現時点においては、アーチファクトを観察

している可能性が高い、あるいは、精神疾患の影響という因子が死亡時の状況の影響などの他の因子の影に隠れて検出されていない状況と言わざるを得ないように考えられる。

もちろん、精神疾患の病態へのミトコンドリア遺伝子の関与は、MRS研究やDNA多型解析など複数の独立した手法からの証拠が蓄積されてきており、死後脳組織におけるミトコンドリア関連遺伝子発現に関して信頼おけるデータを得ることが困難であるだけで、精神疾患の病態へのミトコンドリア遺伝子の関与の可能性を否定するものではない。むしろ、ミトコンドリア関連遺伝子の発現が種々のストレス因子に敏感に反応することは、現状での死後脳研究での検出は困難であるものの、生体内で精神疾患の病態に関して何らかの遺伝子発現変化を来している可能性を示唆しているとも考えられる。何故、ミトコンドリア関連遺伝子の発現が種々のストレス因子に敏感に反応するのかということは、今後の興味深い課題とも言える。

一方、今後の死後脳組織を対象とする分子遺伝学的研究を進めていく上において、どこまでの情報を信頼おける安定した情報として評価しうるのかを見極める技術の開発が必要である。また、今

後、死戦期の影響、組織 pH、RNA の退縮、服薬歴、喫煙歴などを含む諸因子をより厳格にコントロールした、より多くの対象症例を解析することで、信頼性の高い解析結果が得られることが可能になることが望まれる。これまでのところ死後脳研究はこれらの諸因子のコントロールという点でも、対象症例数という点でも、精神疾患の病態の影響を検出するためのパワーは限定されたものであったと言えるが、今後、ミトコンドリア関連遺伝子の発現異常に関してまでも安定したデータが得られるような高い水準の研究が可能になるよう、研究の発展と脳バンク制度の整備が行われることで、精神疾患の分子病態の解明が着実に進められることが期待される。

#### 文 献

- Altar CA, Jurata LW, Charles V, et al (2005) Deficient hippocampal neuron expression of proteasome, ubiquitin, and mitochondrial genes in multiple schizophrenia cohorts. *Biol Psychiatry*, 58 : 85-96.
- Aston C, Jiang L, Sokolov BP (2004) Microarray analysis of postmortem temporal cortex from patients with schizophrenia. *J Neurosci Res*, 77 : 858-866.
- Choudary PV, Molnar M, Evans SJ, et al (2005) Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102 : 15653-15658.
- Copois V, Bibeau F, Bascoul-Mollevi C, et al (2007) Impact of RNA degradation on gene expression profiles : assessment of different methods to reliably determine RNA quality. *J Biotechnol*, 127 : 549-559.
- Dracheva S, Davis KL, Chin B, et al (2006) Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. *Neurobiol Dis*, 21 (3) : 531-540.
- Evans SJ, Choudary PV, Neal CR, et al (2004) Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101 : 15506-15511.
- Hakak Y, Walker JR, Li C, et al (2001) Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98 : 4746-4751.
- Halim ND, Lipska BK, Hyde TM, et al (2008) Increased lactate levels and reduced pH in post-mortem brains of schizophrenics : Medication confounds. *J Neurosci Methods*, 169 : 208-213.
- Iwamoto K, Bundo M, Kato T (2005) Altered expression of mitochondria-related genes in post-mortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet*, 14 : 241-253.
- Iwamoto K, Bundo M, Yamada K, et al (2005) DNA methylation status of SOX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J Neurosci*, 25 : 5376-5381.
- Kato T (2007) Mitochondrial dysfunction as the molecular basis of bipolar disorder : therapeutic implications. *CNS Drugs*, 21 : 1-11.
- Kato T (2008) Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder. *Cell Calcium*, [Epub ahead of print]
- Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, et al (2004) Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 61 : 300-308.
- Li JZ, Vawter MP, Walsh DM, et al (2004) Systematic changes in gene expression in post-mortem human brains associated with tissue pH and terminal medical conditions. *Hum Mol Genet*, 13 : 609-616.
- Lipska BK, Deep-Soboslay A, Weickert CS, et al (2006) Critical factors in gene expression in postmortem human brain : Focus on studies in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 60 : 650-658.
- Mexal S, Berger R, Adams CE, et al (2006) Brain pH has a significant impact on human postmortem hippocampal gene expression profiles. *Brain Res*, 1106 : 1-11.
- Mirnic K, Middleton FA, Marquez A, et al (2000) Molecular characterization of schizophre-

- nia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. *Neuron*, 28 : 53-67.
- 18) Nakatani N, Hattori E, Ohnishi T, et al (2006) Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder : relevance to neuronal network perturbation. *Hum Mol Genet*, 15 : 1949-1962.
- 19) Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, et al (2004) Mitochondrial dysfunction in schizophrenia : evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Mol Psychiatry*, 9 : 684-697.
- 20) Ryan MM, Lockstone HE, Huffaker SJ, et al (2006) Gene expression analysis of bipolar disorder reveals downregulation of the ubiquitin cycle and alterations in synaptic genes. *Mol Psychiatry*, 11 : 965-978.
- 21) Schroeder A, Mueller O, Stocker S, et al (2006) The RIN : an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. *BMC Mol Biol*, 7 : 3.
- 22) Stan AD, Ghose S, Gao XM, et al (2006) Human postmortem tissue : what quality markers matter? *Brain Res*, 1123 : 1-11.
- 23) Sugai T, Kawamura M, Iritani S, et al (2004) Prefrontal abnormality of schizophrenia revealed by DNA microarray : impact on glial and neurotrophic gene expression. *Ann N Y Acad Sci*, 1025 : 84-91.
- 24) Sun X, Wang JF, Tseng M, et al (2006) Downregulation in components of the mitochondrial electron transport chain in the postmortem frontal cortex of subjects with bipolar disorder. *J Psychiatry Neurosci*, 31 : 189-196.
- 25) Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, et al (2003) Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet*, 362 : 798-805.
- 25) Tomita H, Vawter MP, Walsh DM, et al (2004) Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile : quality control in microarray analyses of postmortem human brain. *Biol Psychiatry*, 55 : 346-352.
- 26) Vawter MP, Tomita H, Meng F, et al (2006) Mitochondrial-related gene expression changes are sensitive to agonal-pH state : implications for brain disorders. *Mol Psychiatry*, 11 : 663-679.
- 27) Weis S, Llenos IC, Dulay JR, et al (2007) Quality control for microarray analysis of human brain samples : The impact of postmortem factors, RNA characteristics, and histopathology. *J Neurosci Methods*, 165 : 198-209.

## 精神科ブレインバンク構築のための倫理的基盤

富田博秋

東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野

### はじめに

近年、精神疾患の分子病態を解明し合理的な治療法開発に繋げることを目指して、全ゲノムの分子現象を網羅的に解析する技術は精神疾患にも積極的に応用されつつある。中でも、死後脳の分子遺伝学的研究は、精神活動・精神症状の発現に直接関係する分子が脳に特異的に転写・翻訳され機能していると考えられるだけに、疾患の成因解明の有用な戦略と考えられる。欧米では、わが国にくらべて、死後脳の分子遺伝学的研究推進のため数多くの精神科ブレインバンクが運営され、精神医学研究の発展と精神医療環境の改善を願って遺族あるいは生前の本人の意思で寄付される死後脳の受け皿となっている。

一方、遺族や故人の生前の尊厳意思と社会のブレインバンクへの信頼を裏切ることなく、適正にブレインバンクを組織・運営するためには、倫理上のさまざまな面を慎重に考慮する必要がある。本稿では筆者がカリフォルニア大学アーバイン校 (University of California, Irvine: UCI) のブレインバンクの運営にかかわった前後に、欧米の臓器バンクに関連して議論をよんだ問題を紹介しつつ、今後、全国的な精神科ブレインバンクの体制整備の方針を検討するうえで考えなければならないことにつき考察を行いたい。

### 尊厳の遵守・厳格な管理体制

脳を含む死後の臓器を対象とする研究に関して最も考慮されるべきことはいかに故人・遺族・臓器の尊厳を遵守するかということで、遗体からの臓器摘出、保管、臓器・組織の解析のすべての過程をとおして、従事するすべての構成員がつねに敬意をもって臓器・組織を取り扱う必要があることはいうまでもない。

臓器提供者の尊厳意思を踏みにじる言語道断な事件として、2004年、カリフォルニア大学ロサンゼルス校 (University of California, Los Angeles: UCLA) の組織バンクの構成員が遺族の同意なしに違法に臓器を販売していた他<sup>1)</sup>、複数の組織バンクで不祥事が発覚している。運営者個人の資質に頼るのみでなく、複数のトレーニングを受けた構成員で組織的に脳組織を管理し、その管理体制を外部から監査する制度を設け、組織運営について完全な透明性を維持する必要がある。Graeber<sup>2)</sup>は「脳組織の価値は最も貴重な貴金属の価値を凌ぐものであり、文字通り「銀行」がセキュリティ管理を行なうのと同じくらい厳格に脳組織の管理を行う必要がある」と論じている。

### インフォームド・コンセント

遺族や生前に自らの死後の脳の提供を申し出る者に対し、研究について十分説明し、適切に同意を得ることの

必要性は広く認識されていることと考えられるが、インフォームド・コンセント取得の欠如あるいは不十分さはこれまでにしばしば問題となってきた<sup>2)</sup>。2005年、同意取得の方法への配慮の重要性を改めて感じさせる訴訟が遺族から米国のスタンレー医学研究所に対して起された<sup>3)</sup>。この財団は1995年のブレインバンク設立以来、20以上の国の160名以上の研究者に無償で組織を提供し、世界の精神科死後脳研究を牽引してきたといっても過言ではないだけにこの訴訟の影響は大きい。数家族がほんの少しの切片を採取すると理解していたのに対して脳全体が採取保管されているということ、1家族はあらゆる組織について一切同意していないと訴訟を起こしたのに端を発し、さらにその後、メイン州で摘出された脳のうち約1/3にあたる31例が適切な同意の手続きなしに採取されているとする遺族・検察側と正当な同意を得たとする同財団とのあいだで公判が行なわれている。本来のプロトコルにしたがえば遺族との会話がテープレコーダーに記録されているはずであったが、第三者による電話越しの会話の聴取という形で同意の証拠が残されたことも問題の1つとしてあげられている。具体的な運営手続きの検討に慎重を要することの教訓として真摯に受けとめる必要がある。

### 個人情報・遺伝情報の保護

ブレインバンクに保管される脳は多くの場合、何らかの分子遺伝学的な解析の対象となり、遺伝情報が取り扱われることになるので、インフォームド・コンセントの取得、検体の取扱いなどの手続きは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」にしたがう必要がある。ブレインバンクでは死後脳組織とともに正確で詳細な臨床情報を集積する必要があるが、脳組織および臨床情報は最初の段階でコード番号を割り当てて匿名化し、ブレインバンク内の脳組織と臨床情報の取扱いも匿名化して行う。また、脳組織・臨床情報が第三者研究機関に脳組織・臨床情報が送られる場合も匿名化されたものが送付されるべきである。遺族から脳組織の引渡しの要求があったときには、遅滞なく遺族に引き渡さなければならず、そのためには、故人・遺族の個人情報と匿名化コード番号を連結する対応表を個人情報管理者が厳重に保管

する形の連結可能匿名化により匿名化を行なう必要がある。生前登録制度を行う場合には登録者の個人情報管理も厳格に行う必要がある。

### 不特定の研究機関に組織を提供すること

欧米のブレインバンクには集積した脳を特定の研究組織による研究に限定して使用しているところもあるが、狭義のブレインバンクは医学発展への貢献が見込める適正な研究組織に広く組織を供与することを目的として死後脳を集積保管する。この場合、試料提供の要請のあった研究実施機関の研究計画の意義・妥当性等を第三者の参加する試料提供審査委員会が迅速かつ公平に審議することで、集積された脳組織が適正に分配され、精神疾患の病態解明に寄与するよう運営するべきである。申請を行なう研究実施機関はそれぞれの施設の倫理委員会により各研究計画に対する承認を得る必要がある。また、ブレインバンクから提供された組織を用いた研究成果は公開されるべきである。集積されている組織を個別の研究に使用するたびに、遺族に新たに同意を求めるのは現実的でなく、このことについても遺族に説明し、包括的同意を得る必要がある。

### ブレインバンクの技術的問題

集積された脳が技術的に適切に摘出・管理・解析され、精神医学に有益な情報が得られなければそもそも脳を提供する志に報いることにはならないことを考えると、技術的な問題は倫理的な問題と直結する。貴重な検体を無駄にしないためには脳組織の適正な品質管理と分配のシステムの確立が必須である。欧米の死後脳研究の中で明らかになってきた脳組織の品質管理の点で注意を喚起するべきことは、死亡時に身体疾患により低酸素・昏睡状態等のいわゆる死戦期を長時間経て亡くなった提供者の脳組織の場合、死亡時の状況の脳組織の分子現象への影響が大きく、生前に精神疾患に罹患していたことによる影響をはるかに凌ぐということである。欧米のブレインバンクは設立当初から検察局に検死のために搬送されたケースの遺族に対し研究への協力を要請するという体制を取っているところが多く、結果として、比較的急死し、死戦期状況の影響が少ないケースが摘出・保管



の対象となることが多く、近年では、長時間の死戦期を経たケースを研究あるいは集積・保管の対象から除外する施設も出てきている<sup>56)</sup>。これに対し、従来、日本での死後臓器を対象とする医学研究は長期の闘病の末に亡くなり、医療機関と遺族のあいだですでに形成された信頼関係のもとづく同意に伴う臓器提供であることが多く、結果として潜在的に死戦期状況の影響の影響が大きい症例が多いと考えられる。この問題は、当事者・遺族を含め社会全体のブレインバンクへの理解・関心が高まり、治療を受ける医療機関と遺族のあいだの信頼関係を越えて、社会とブレインバンクのあいだの信頼関係が形成されることでおのずから解消されるものと考えられる。

### 経済的問題

ブレインバンクは非利益団体として運営し、臓器の取扱で利益を得るべきではない。一方でブレインバンク運営には臓器の抽出、処置、保管、移送にかかわる費用が必要で、提供された脳の尊厳を守り続ける意味でもこの財源をいかに継続的に確保するかは大きな問題である。運営は公的資金にもとづくことが望ましいが、場合によっては、その全体あるいは一部を当事者や家族で組織される団体などの経済的な利害を生まない団体からの寄付でまかなうことや、臓器・組織を利用する研究者から徴収することも検討されるべきかも知れない。脳組織を仲介することによっては勿論のこと、研究から得られる情報で経済的利益を得る可能性のある組織・団体（具体的には医療技術・薬剤の開発、販売により利益を得ている会社など）からの資金供給は避けるべきであろう。

### 法整備

ブレインバンクの運営は、現行法上は、わが国の死体の解剖・保存を規定する法律として1949年に公布された死体解剖保存法にもとづいて、遺族の同意を得たうえで解剖・保存を行なうことで成り立つ。今後、生前に自らの死後の脳の提供を申し出る生前同意によるブレインバンクへの脳の提供が増えてくることが期待されるが、その場合でも現行法では生前同意に加え遺族の同意を得ることが必須の条件となり、何らかの事情で遺族の同意が得られない場合、故人の意思が活かされないというこ

とも起こりうる<sup>79)</sup>。医学教育のための献体に関しては1983年に献体法が制定されたが、献体法では正常解剖にかぎって書面での生前の意思表示があれば、遺族がその旨を拒まない場合や遺族がない場合には遺族の承諾を要さず、限定的にはあるが生前の本人の意思を活かすよう規定されている。

献体法は医学教育を支えるための法律であるが、将来の医療環境の改善に役立つことを願う市民による遺体・臓器の寄付という点ではブレインバンクの理念と共通するもので、献体の体制が形成された歴史からは、今後、ブレインバンクが進むべき方向として学ぶところが多い。1951年に故倉屋利助氏による「死後自分の遺体を医学の発展のために医学生に献する」との発願に始まり、東京大学医学部解剖学教室の故藤田恒太郎教授のもとに、1955年献体を希望する篤志家たちの集まりとして白菊会が結成され、その後、献体希望者の生前の登録機関が他大学にも次々と自発的に設置されていった。さらに、これらの横の連絡組織として篤志解剖全国連合会が結成され、1983年「医学及び歯学教育のための献体に関する法律」が制定されるに至る<sup>9)</sup>。現在では全国の白菊会の献体登録者の総数は21万人を超え、組織は献体者・遺族の尊厳を遵守して厳格に運営されている<sup>10)</sup>。

医学教育とともに医学研究の推進により将来の医療環境の改善を図るためにも、ブレインバンクを含め死後臓器の医学研究の適正な促進を促すような法が整備されることが望ましい。

### おわりに

#### ～望ましいブレインバンクのあり方に向けて～

親族が亡くなった直後に始めてその遺族がブレインバンク・死後脳研究のことを聞かされ、比較的短時間のうちに提供することに対する理解・同意を求められるよりは、普段から一般的知識としてこれらの情報に接する機会があり、折にふれて自分や親族の死後に脳を研究目的で提供することについて考える機会をもつということを経た後に、本人の生前の判断あるいは遺族のより主体的な判断による寄付という形でブレインバンクへの脳の提供が行なわれることが理想的である。そのためには普段から精神医学・医療の情報を積極的に市民に広報し、将

来の精神医学・医療の発展にとって重要なシステムとしてブレインバンクを紹介していくことは、社会の信頼に足るブレインバンクのシステムを構築していくことと並んで重要な課題と考えられる。

#### 文 献

- 1) Broder JM, Pollack A : U. C. L. A. Official Is Held In Cadaver-Selling Inquiry. *The New York Times* March 8, 2004
- 2) Graeber MB : Twenty-first century brain banking : at the crossroads. *Acta Neuropathol* 115 : 493-496, 2008
- 3) Sheach Leith VM : Consent and nothing but consent? The organ retention scandal. *Sociol Health Illn* 29 : 1023-1042, 2007
- 4) Snyder D : A Dispute Over Brain Donations. Families Allege Improper Consent in Lawsuits Against Bethesda Institute. *Washington Post* June 30 : B01, 2005
- 5) Tomita H, Vawter MP, Walsh DM et al : Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile : quality control in microarray analyses of postmortem human brain. *Biol Psychiatry* 55 : 346-352, 2004
- 6) 富田博秋 : 死後脳組織を使った分子遺伝学的研究の実験. *分子精神医学* 6 : 243-250, 2006
- 7) 有馬邦正 : 生前同意制ブレインバンクの運営に際する法的・倫理的問題の研究. 厚生労働省科学研究費補助金 (こころの健康科学研究事業) こころの健康科学研究事業に係る企画及び評価に関する研究. 平成 15 年度報告書 : 129-136, 2004
- 8) 矢島基美 : ブレインバンクをめぐる法律上の論点. 厚生労働省科学研究費補助金 (こころの健康科学研究事業) こころの健康科学研究事業に係る企画及び評価に関する研究. 平成 15 年度報告書 : 137-140, 2004
- 9) 星野一正 : 献体の法制化を顧みて. *時の法令* 1486 : 55-61, 1994
- 10) 財団法人 日本篤志献体協会ホームページ (2008 年 9 月 4 日現在) <http://www.kentai.or.jp/>

医学のあゆみ 第229巻3号 (2009年4月18日号)

特集：精神疾患ゲノム研究

タイトル：気分障害の網羅的遺伝子発現解析

欧文タイトル：Comprehensive Gene Expression Analyses into Mood Disorder

著者名：富田 博秋

欧文著者名：Hiroaki Tomita

和文所属名：東北大学大学院 医学系研究科 精神・神経生物学分野

〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1

キーワード：1. 双極性障害 2. 大うつ病 3. 死後脳 4. 免疫細胞 5. マイクロアレイ

#### 「サマリー」

気分障害の成因を解明する上で、近年急速に発達を遂げたマイクロアレイを始めとする網羅的遺伝子発現解析技術を用いて双極性障害、大うつ病性障害罹患者や健常対照者の死後脳組織の遺伝子発現を解析することは有効かつ必須のアプローチと考えられ、これまでに複数の研究グループが解析結果の報告を行ってきている。一方、脳機能や精神活動と密接に関連する各種免疫細胞を含み、脳内細胞と発現調節領域を含めて同一の塩基配列のゲノムDNAを有する末梢血は死後脳組織に比べて採取を行いやすく、同一罹患者の病相、病状の違いによる遺伝子発現変化の評価も可能であることから、罹患者や健常者から採取した末梢血全血や血液中のリンパ球等を対象とする網羅的遺伝子発現解析も試みられてきている。本稿では気分障害成因解明に向けての死後脳組織、末梢血等を対象とする網羅的遺伝子発現解析のこれまでの成果と今後の課題、展望について検討を行う。

気分障害とは顕著な気分の変動を中心症状とする疾患を総称し、うつ病相と躁病相の両方を呈する双極性障害とうつ病相のみを呈する大うつ病性障害はその中核となる疾患である。ゲノムの塩基配列情報は脳組織特異的に mRNA に転写され、更にタンパク質に翻訳され、翻訳後修飾を受け、他の分子と相互作用することで始めて脳・精神機能に影響を及ぼすものであり、死後脳組織の網羅的遺伝子発現解析は精神疾患の病態解明には必須のアプローチである。一方、脳機能や精神活動と密接に関連する各種免疫細胞を含み、脳内細胞と発現調節領域を含めて同一の塩基配列のゲノム DNA を有する末梢血由来の細胞を対象とする網羅的遺伝子発現解析も精神疾患成因解明において有効なアプローチと成り得る(図1)。本稿では気分障害の病態解明に向けた死後脳と末梢血等を対象とする網羅的遺伝子発現解析研究のこれまでの成果と今後の課題・展望について検討したい。

### 「死後脳における遺伝子発現研究」

死後脳を対象とする双極性障害と大うつ病性障害の網羅的遺伝子発現研究のこれまでの成果と今後の課題を下記に概説する。

#### 1. 双極性障害

双極性障害の死後脳では MAG、ERBB、TF、PLP1、MOG、MOBP、MOG 等のミエリンを形成するオリゴデンドロサイトに関連する遺伝子発現が低下しており、この知見は統合失調症や大うつ病性障害罹患者の脳にも共通した現象として観察されている<sup>1,3)</sup>。また、双極性障害ではミトコンドリア機能<sup>4,8)</sup>、受容体・チャネル<sup>9,10)</sup>、ストレス・免疫反応<sup>9,10)</sup>、シャペロン機能<sup>9)</sup>、ユビキチン系<sup>10)</sup>、糖代謝<sup>6,11)</sup>に関連する遺伝子発現変化が報告されている。これまでに報告のある双極性障害の死後脳研究の多くはスタンレー脳バンクが世界の研究施設に供給した死後脳を解析したものであるが、スタンレー脳バンクの双極性障害死後脳に基づく12の研究の生データを統合したメタ解析が行われ、酸化リン酸化、ユビキチン系、RNA スプライシング、細胞内タンパク輸送、熱ショックタンパク質、主要組織適合遺伝子複合体クラス II 受容体活性、メタロチオネインという遺伝子カテゴリが双極性障害罹患者の脳で顕著に発現調節を受けていることや、個別の遺伝子として PENC、GRK3、BDNF、HSPA5、LARS2、APO-L、HINT1、UBE2N、RELN 等の発現が低下していることが報告されている<sup>12)</sup>。この他、双極性障害の自殺既遂者とそれ以外の死因による死亡者との比較で PLSCR4、EMX2 の発現量に差があるとする報告<sup>13)</sup>や、双極性障害、大うつ病性障害を含めた精神疾患罹患者脳組織では神経細胞周囲のオリゴデンドロサイト数やカルビンディン陽性介在神経密度の減少と神経発達やアポトーシスに関連した遺伝子の発現量が相関するという報告がなされている<sup>14)</sup>。