

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 西岡 将基

本研究は、ヒト脳神経組織における体細胞一塩基変異の検出方法・ヒトゲノムにおけるレトロトランスポゾン LINE1 挿入部位の網羅的な検出方法を確立するとともに、ヒト死後脳試料における体細胞一塩基変異、及び一卵性双生児不一致例由来血液試料における体細胞一塩基変異を検出する目的で行われ、以下の結果を得た。

1. 理論的深さ 100 前後の全ゲノムシーケンスデータを用い、脳組織試料と他組織試料を比較することで体細胞一塩基変異候補を検出し、深さ約 20 万のターゲットアンプリコンシーケンスにより体細胞一塩基変異候補のアレル割合を定量的に確認する手法を確立した。2%前後の定量性には課題があるものの、計測したアレル割合は再現性があり、変異の一部はパイロシーケンスにても存在が確認できたことから、本研究で開発した高深さのターゲットアンプリコンシーケンスは、体細胞一塩基変異の確認に使用できるものと考えられる。
2. 3名の健常者由来死後脳試料の全ゲノムシーケンスデータを用いた体細胞一塩基変異解析にて、脳神経組織試料の体細胞一塩基変異 31ヶ所をターゲットアンプリコンシーケンスで確認した。脳神経組織における体細胞一塩基変異のアレル割合は 0.7~14%に分布しており、組織間でアレル割合が異なっていた。肝臓には存在せず脳に特徴的であった変異や、小脳や皮質に特徴的な一塩基変異も認め、推定発生時期や組織間の局在の多様性を認めた。
3. 脳神経組織における体細胞一塩基変異は、神経細胞関連遺伝子群に多く、神経細胞関連遺伝子群の変異に対する脆弱性が示唆された。また、シトシンからチミンへの transition が 3分の2を占めており、変異パターンの特徴を認めた。31ヶ所の体細胞一塩基変異の機能推定では、アミノ酸変化を伴う変異は1つのみであり、機能欠失に至る変異は認めず、健常者由来試料であることと矛盾はなかった。脳神経組織の体細胞一塩基変異は神経細胞関連遺伝子群が多いこと、シトシンからチミンの頻度が多いという知見は先行研究と一致した。
4. 統合失調症圏の疾患について不一致な一卵性双生児 5組の血液試料の全ゲノム・エクソームシーケンスデータを用い、体細胞一塩基変異解析を行った。妄想性障害罹患患者を含む1組から7ヶ所の体細胞一塩基変異を検出し、アレル割合は 1.1~7.3%に分布していた。アレル割合の高い4ヶ所はパイロシーケンスでも体細胞変異の存在が確認でき、妄想性障害罹患患者特異的に *ABCC9* 上のミスセンス変異 (アレル割合 7.3%) を認めた。血液幹細胞のクローナルな増殖の結果である可能性は否定できないが、脳神経組織にも

同じ体細胞変異が存在する可能性が考えられ、*ABCC9* と妄想性障害の関連可能性を示唆する結果となった。

5. ヒトゲノムに存在するレトロトランスポゾン LINE1 の挿入位置を網羅的に検出するため、先行研究の L1Hs-seq を実験方法及び解析方法から改良し、リファレンスゲノムに存在しない LINE1 挿入を複数検出し、サンガー法にて挿入位置の確認を行った。挿入位置を一塩基レベルの解像度で検出しており、体細胞変異をシミュレートした試料にて、アレル割合 0.5~10%に相当する非リファレンス LINE1 新規挿入を検出できることを示した。健常者由来小脳試料に適用し、非リファレンス LINE1 新規挿入を約 150 カ所検出し、うち 122 ヶ所は文献上の報告がない新規のものであった。LINE1 コピー数が報告されている統合失調症などの疾患試料に適用することで、疾患試料の LINE1 新規挿入位置が検出できるものと期待される。

脳神経組織における生理的な体細胞一塩基変異のパターンを示すとともに、一卵性双生児間の体細胞一塩基変異パターンの差異を定量的に確認した。精神疾患と体細胞変異の関連を明らかにするための手法の開発及び、脳神経組織における生理的な体細胞変異の状態、妄想性障害と *ABCC9* 上の体細胞変異の関連を示唆する結果を示した。精神医学研究に一定の貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。