

# ヒト iPS 細胞由来神経細胞のミトコンドリアに着目した双極性障害の創薬基盤構築

田宗秀隆

順天堂大学大学院医学研究科 精神・行動科学

## 【研究の背景】

双極性障害は遺伝因が比較的強い精神疾患であるが、原因に基づいた個別の治療には至っていない。報告者が所属するグループ(加藤忠史主任教授)では、ミトコンドリアと双極性障害の関連について、マウス研究を中心に多数報告しており、最近、ヒト集団でも m.3243A>G 変異が双極性障害患者で一般集団よりも多く観察されることも見出した<sup>1)</sup>。

他分野においても、m.3243A>G 変異を持つミトコンドリア糖尿病を門脇らが報告し(NEJM, 1994)、2021年にはミトコンドリアをターゲットにした新規機序の血糖降下薬が上市されるなど、ミトコンドリアに着目した創薬が注目されている。

## 【目的】

本研究では、双極性障害の中心病態(Ca<sup>2+</sup>シグナリングの異常→Hyperexcitability→精神症状)にいたるメカニズムのひとつとして、ミトコンドリア異常をモデルと位置づける。ヒト iPS 細胞を用いて 1 細胞レベルでのイメージング、電気活動取得、RNA-seq 解析を行い、ミトコンドリア変異のモザイク状態と神経機能の関連を明らかにする。これにより、ミトコンドリアに着目した創薬基盤を構築することを目的とする。本研究期間においては、特に電気活動取得についてマルチ電極アレイ(MEA)の解析系確立を主要な達成項目とした。

## 【方法】

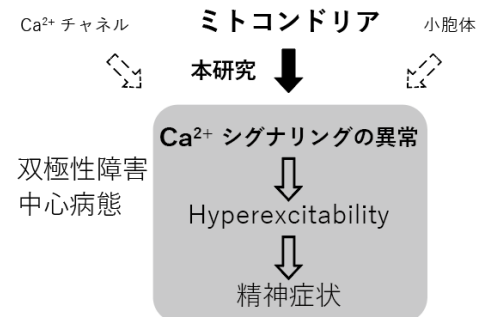
・m.3243A>G 変異をもつ患者さんの診療を担当し、T 細胞を供与いただき、共同研究にて iPS 細胞を樹立した。(臨床データあり;ヘテロプラスミー率 24.7%)

・既存の m.3243A>G 変異ヒト iPS 細胞から、Neurogenin-2 強制発現により興奮性細胞を誘導できる株を樹立した。

・Ca<sup>2+</sup>シグナリングの異常と Hyperexcitability(過興奮性)という双極性障害の中心病態を細胞レベルでモデル化して評価するため、イメージング、マルチ電極アレイ(MEA)を中心に検討を行った。

・コントロール株および他のミトコンドリア異常が示唆される症候群を持つヒト iPS 由来神経細胞の bulk RNA-seq データを取得し、本研究計画の Proof of Concept を得た。

図 1：本研究の位置付け



## 【結果】

・ヒト iPS 細胞由来の神経細胞が 1 細胞レベルでイメージングできた。

・ヒト神経細胞の分化はマウス等のげっ歯類よりも時間がかかり、シナプス関連タンパク質は特に後部タンパク質の発現が遅いことが明らかになった。

・そこで、薬剤スクリーニングにおいては電気生理学的解析がより有益であると考え、MEA を用いて種々の検討を行った。

図2：MEAで24 wellの同時解析

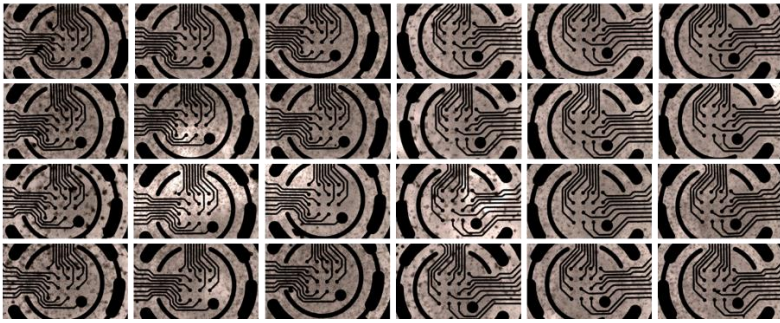
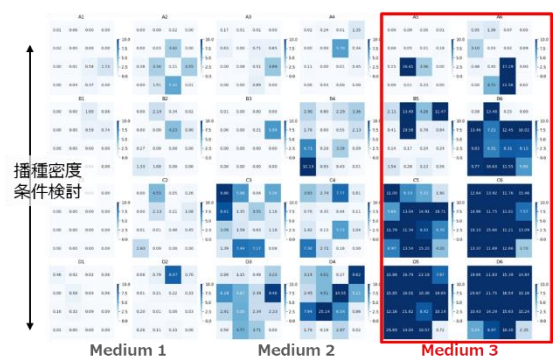


図3：各wellの各電極ごとの1秒あたりの平均発火数



・薬理的なポジティブコントロールで発火頻度に変化することが確認でき、実験誤差を少なくするため、培養条件等の最適化を行った(図2、図3)。その結果、安定して電気活動を取得できる播種密度・培養条件が見出された。

・今後、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の双方を組み込んだ神経回路をモデル化して議論するために、抑制性神経細胞の誘導にも着手し、コントロール株を樹立した。

## 【考 察】

- ・ヒト iPS 培養系を持っていなかった本グループにおいて、本助成により培養系を立ち上げた。
- ・これまでに経験のなかった MEA を用いた電気生理学的実験を立ち上げた。コントロール株で実験条件が安定しつつあるため、今後は樹立した m.3243A>G 変異株を用いて実験を行う。その際、m.3243A>G 変異は細胞ごとにヘテロプラスミー率が異なることが期待されるため、ヘテロプラスミー率と電気生理学的パラメーターの関係を精査する。
- ・予備実験として薬理的介入で発火率の変化を記録できており(Data not shown)、ミトコンドリアに着目した創薬・ドラッグ・リポジショニングへの展望が期待される。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

- ・臨床情報のある iPS 細胞で研究する価値は高く、その Proof of Concept になりえる。発展的には、疾患横断的に診断法・治療法の開発を進め、従来の臨床症状による疾患分類とは異なる新たな類型を提唱し、個別化医療を提案したい。
- ・本研究課題が発展すれば、研究代表者のセフェピム脳症についての計算論的精神医学の論文<sup>2)</sup>の手法を高度化することで、MEAの電気生理学的解析を臨床脳波データと統合して解釈することができるのではないかと見込んでいる。
- ・詳細の記述は避けるが、m.3243A>G 変異を持つ患者さんの診療において、精神症状のある患者さんの臨床的ケアの診療の質改善が急務であることが示唆された。研究期間において、特徴的な臨床症状を持つ患者さんに対する GABA 受容体作動薬の脳波解析<sup>3)</sup>や、精神科以外の診療科に進む臨床研修医を含めた精神科医学教育についての論文<sup>4)</sup>を発表した。

## 【参考・引用文献】

- 1) Nishioka M, Takayama J, Sakai N, et al. Deep exome sequencing identifies enrichment of deleterious mosaic variants in neurodevelopmental disorder genes and mitochondrial tRNA regions in bipolar disorder. **Mol Psychiatry**. 2023;28(10):4294-4306.
- 2) Tamune H, Hamamoto Y, Aso N, et al. Cefepime-induced encephalopathy: Neural mass modeling of triphasic wave-like generalized periodic discharges with a high negative component (Tri-HNC). **Psychiatry Clin Neurosci**. 2019;73(1):34-42.
- 3) Tamune H, Tsukioka Y, Sakuma S, et al. EEG and video documentation of benzodiazepine challenge in catatonic stupor: A case report. **Neuropsychopharmacol Rep**. 2024;44(2):468-473.
- 4) Tamune H, Fujikawa H, Harada H, et al. Integrating psychiatry into basic clinical skills: A three-year nationwide quantitative assessment of postgraduate training programs. **PCN Rep**. 2024;3(4):e70014.