

特集 2 ブレインバンク / 死後脳研究

1. 精神疾患ブレインバンクと死後脳研究の現在

國井 泰人^{1,2)}, 長岡 敦子²⁾, 日野 瑞城²⁾, 泉 竜太²⁾, 宍戸 理紗²⁾, 矢部 博興²⁾

抄録: 多彩な方向から活発に行われている生物学的研究によって、精神疾患の病態解明は急速に進んでおり、これらの研究で得られた知見を検証するための死後脳研究も最近数多く行われるようになってきている。こうした死後脳研究のためには、研究に適した脳試料を提供できるブレインバンクが不可欠である。筆者らは全国に先駆け精神疾患ブレインバンクを構築し 20 年以上にわたって運営してきた。当バンクは、当事者・家族の積極的参加による運営、賛助会による支援、インフォームド・コンセントによる当事者・健常者の生前登録、開かれた研究活動を基本理念としている。2016 年からは日本ブレインバンクネット (JBBN) が組織され、全国に広がる生前登録者の希望に対応すべく、ブレインバンクの全国ネットワーク化が進められている。本稿ではわが国における精神疾患ブレインバンクの取り組みを紹介するとともに、死後脳試料を用いた精神疾患研究の現状について概説する。

日本生物学的精神医学会誌 32 (4) : 179-185, 2021

Key words : psychiatric brain bank, postmortem brain, psychiatric disease, molecular mechanisms

はじめに

これまで精神疾患の生物学的研究は、遺伝学的研究、生理学的研究、画像研究、動物モデル研究など多彩な方向から活発に行われてきており、現在その病態解明は急速に進んでいる。また、これらの研究で得られた知見を検証するための死後脳を用いた分子レベルの研究も最近数多く行われるようになってきているが、こうした死後脳研究を実現するためには、研究に適した脳試料を提供できるブレインバンクの存在が不可欠である。筆者らは全国に先駆け精神疾患ブレインバンクを構築し 20 年以上にわたって運営してきた^{10, 12)}。当バンクは、当事者・家族の積極的参加による運営、賛助会 (つばめ会) による支援、インフォームド・コンセントによる当事者・健常者の生前登録、開かれた研究活動を基本理念としている。さらに、2016 年からは、精神疾患、神経疾患、老化・認知症疾患の死後脳リソース構築の努力を行ってきた施設を中心に日本ブレインバンクネット

(Japan Brain Bank Net : JBBN) が組織され、共通のデータベース、集積から保管まで一貫した品質管理システムの実現や全国に広がる生前登録者の希望に対応すべく、ブレインバンクの全国ネットワーク化に着手している。本稿ではわが国における精神疾患ブレインバンクの取り組みを紹介するとともに、死後脳試料を用いた精神疾患研究の現状について、統合失調症を中心に概説する。

なお、本稿で言及する研究は福島県立医科大学および東北大学の倫理委員会の承認を得ており、ヘルシンキ宣言に基づいた倫理的原則に則って実施され、発表にあたっては十分なインフォームド・コンセントを得て、プライバシーに関する守秘義務を遵守し、匿名性の保持に十分な配慮をした。

1. わが国における精神疾患ブレインバンクの取り組みについて

福島県立医科大学では、1997 年 12 月に精神疾患

Current status of psychiatric brain bank and postmortem brain research

1) 東北大学災害科学国際研究所 災害精神医学分野 (〒 980-8573 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1) Yasuto Kunii : Department of Disaster Psychiatry, International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University. 2-1, Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8573, Japan

2) 福島県立医科大学 神経精神医学講座 (〒 960-1295 福島県福島市光が丘 1) Yasuto Kunii, Atsuko Nagaoka, Mizuki Hino, Ryuta Izumi, Risa Shishido, Hirooki Yabe : Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Fukushima Medical University. 1, Hikarigaoka, Fukushima, Fukushima 960-1295, Japan

死後脳研究運営委員会を発足し、わが国で初となるシステムティックな精神疾患ブレインバンクとしてその活動を開始した^{10, 12)}。当バンクでは基本理念として、当事者・家族の積極的参画による運営、任意団体(賛助会)による支援、インフォームド・コンセントによる当事者・健常者の生前登録、開かれた研究活動を当初より掲げてきた。ブレインバンクの運営を担う運営委員会は2006年よりNPO法人化されており、その活動は、賛助会である「つばめ会」によって精神的、財政的に支えられている。また、当事者および家族の代表と学外の学識経験者からなる審議委員会を独自に設け、定期的に監査を受ける体制となっている。また、現時点で福島県内の13病院(総合病院精神科、精神科病院)が死後脳集積ネットワーク病院として登録しており、各登録病院にコーディネーターとして運営委員(すべて精神科医師)を置き、患者登録・診断、脳集積作業への協力、当事者、家族への啓発活動などを展開している。運営委員は登録者死亡に対して24時間 on call体制にあり、定期的に運営委員会がもたれ、より円滑な運営システムについて定期的に検討を行っている。2021年2月現在、生前登録者は200名(うち、精神疾患当事者140名)となっており(図1)、当然ながら福島県内がもっとも多く79例、県外でも東京の31例をはじめとして関東からも多くの登録(73例)があり、九州・沖縄から北海道まで日本各地の広い地域からご登録いただいている(図2)。現在の死後脳集積は62例で、そのうち、統合失調症34例、双極性障害10例、非精神疾患対照7例などとなっており、生前登録を経ての提供も14例と増えてきている。なお、これらの死後脳提供例については、遺族との面談、治療機関への聞き取りなどを十分に実施し、さらに診療録をもとに心理学的剖検を行ったうえで、臨床情報をレビューしたDiagnostic Instrument for Brain Science (DIBS)³⁾を作成し、該当する症状項目をスコア化し、生前の臨床プロファイルとして利用できるようにしている。一方、集積した脳組織を利用した研究成果^{11, 13, 15)}は現在までで30数報まで得られており、ブレインバンク本来の事業である死後脳リソースの他研究機関への提供と共同研究^{7, 8, 18)}も活発で現時点で、国内の研究機関に計14件の提供を行っており、それぞれ共同研究を進めている。

さて、冒頭でも触れたとおり、わが国のブレインバンクの取り組みは全国組織化の段階に入っている。もともと、福島精神疾患ブレインバンクは、全国津々浦々に存在する登録者に対応するシステムの

必要性から全国ネットワーク化をめざし、日本生物学的精神医学会ブレインバンク設立委員会および同学会ティッシュリソース整備タスクフォース(現ブレインバンク委員会)の活動を推進してきた。その流れを受け、国立精神・神経医療研究センター等すでに神経疾患、老化・認知症疾患のブレインバンク活動を行っている施設と協同し、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(Japan Agency for Medical Research and Development: AMED)「脳科学研究戦略推進プログラム」の平成28年度研究開発課題「臨床と基礎研究の連携強化による精神・神経疾患の克服(融合脳)」の助成を受け、2016年にJBBN(<http://www.jpbrain.net/>)が組織されるに至った。現在設立から5年を経たところであるが、全国の生前登録者への対応を含め、共通のデータベース、集積から保管まで一貫した品質管理システムなどの実現をめざし、連携を深めている。また、筆者らはJBBNにおいて、精神疾患診断名の項目の整理、取りまとめを行い、精神疾患リソースデータベースを構築したが、現在、日本では統合失調症165例、双極性障害23例、うつ病15例の死後脳が利用可能となっている。

2. 精神疾患死後脳研究の歴史と現在

統合失調症を主とした精神疾患死後脳研究の具体例について述べる前に、まずその歴史を振り返りたい。実はA Alzheimerは、アルツハイマー病における神経病理所見の発見に続いて、統合失調症死後脳の神経病理の探索も行っており、「軽い脳萎縮とある種の組織学的変化」を報告しているが、それ以降この研究は進展しなかった。その後実に50年にわたって200報以上の統合失調症死後脳における神経病理研究の論文が報告されたが、その結果は一貫せず一致した見解を得るには至らなかった。ついに、1952年開催の第1回国際神経病理学会では、統合失調症には特異的神経病理所見はないと結論づけられることになり、以来「統合失調症は神経病理学者にとって墓場である」とされ、統合失調症死後脳研究は生物学的精神医学研究の主流からは大きく外れる存在となった。図3は、[schizophrenia], [postmortem brain]のキーワードでPubmed検索した論文数の年次推移を示している。1970年ごろまではほとんど報告がなかった死後脳研究が、1990年代から大幅に増加し、特に2000年以降の増加が著しいことがわかる。その背景には、抗精神病薬の作用機序からドパミン神経伝達系にかかわる中脳、線条体、辺



図1 生前登録の状況：福島精神疾患ブレインバンク登録開始からの推移（2020年2月現在）



図2 生前登録者の全国分布（2020年2月現在）

縁系、皮質路などの脳領域が注目されるようになり、CT、MRIなどを用いた脳構造画像研究や single photon emission computed tomography (SPECT)、positron emission tomography (PET)などの脳機能画像研究の進展に伴い、次第に統合失調症の脳病理

の重要性が再評価されることとなったということがある。

このように、現在統合失調症の死後脳研究は非常に活発であり、近年の基礎神経科学分野の目覚ましい技術革新により、脳内に発現する mRNA、タン

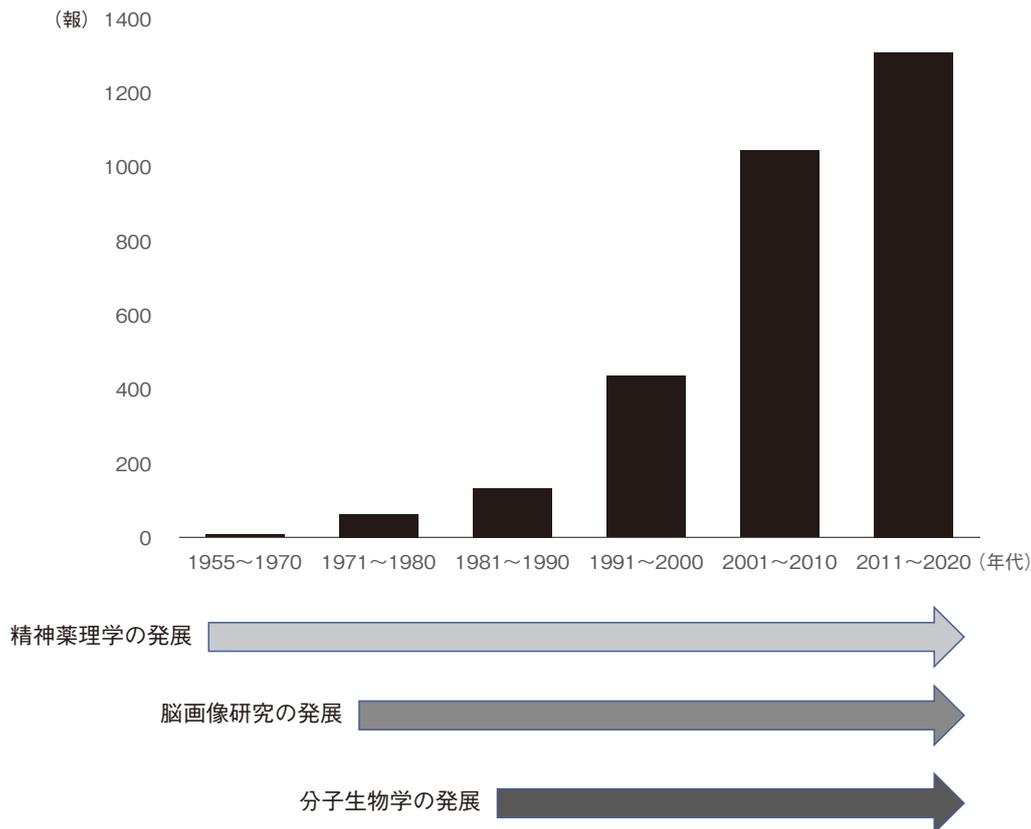


図3 統合失調症死後脳研究の年次推移

Pubmed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) でschizophrenia, postmortem brainのキーワードで検索した論文数の推移。(2020年7月7日に調査)

パク質、脂質などの解析、copy number variation (CNV)、DNAメチル化など脳特異的ゲノム多型性の解析等、分子レベルでの検討が急速に行われるようになってきている。これらの多面的発展に伴って脳神経科学が進展していること、少量のサンプルで網羅的な解析が可能になったことなどを背景として、死後脳研究は基礎神経科学研究で得られた結果を検証するものという従来の位置づけから、新しい知見を加えて他のアプローチにフィードバックするというより探索的な役割に変化してきているといえる。次に、具体的な項目ごとに精神疾患死後脳研究の現在を概括する。

a. ゲノム、トランスクリプトーム研究

ヒトの脳内では神経細胞の約30%で染色体構造変化がみられるという報告がある¹⁹⁾。先に述べたように、脳内に発現するmRNA、CNVなど脳特異的ゲノム多型性についての死後脳での解析が進展している。以前から、統合失調症死後脳におけるmRNA発現解析として、マイクロアレイを用いた網羅的解析が多数行われてきたが⁶⁾、今後は次世代シーケンシング(next-generation sequencing: NGS)技術

の発展に伴い全mRNA発現を統一的に評価する研究の増加が予測される。すでに、大規模データとの連結、データサイエンスとの連携として、CommonMind Consortiumが公開する健常対照者の死後脳前頭皮質サンプル(206名)のRNAシーケンスデータと15万人以上の統合失調症の大規模なゲノム関連解析(genome-wide association study: GWAS)データを連結して解析するという、興味深い試みも行われてきている²¹⁾。

筆者らも新潟大学脳研究所と共同で、死後脳の線条体から抽出したDNAを用いてCNV解析を行っているが²⁰⁾、この研究では常染色体上の1,381領域のゲノムコピー数に統合失調症群で有意差がみられ、85領域については多重比較補正後も有意であった。このうち26領域についてはアジア人集団で新規のCNVであり、統合失調症関連の遺伝子(ANTXRL, CHST9, DNM3, NDST3, SDK1, STRC, SKYなど)が含まれていた。CNV領域については遺伝子量を定量したが、統合失調症群ではコピー数が整数倍にならないサンプルが存在し、脳組織内での体細胞変異によるCNVの存在が示唆された。

b. エピゲノム研究

DNA メチル化等のエピジェネティック修飾機構も脳特異性を有すると考えられるためその解析には死後脳研究が不可欠であり、これまで統合失調症死後脳における Reelin, SOX10, CACNA1C などの特定の分子についての DNA メチル化パターンが調べられてきた。筆者らも以前 bisulfite sequencing 法で、死後脳のモノアミン酸化酵素 (monoamine oxidase : MAO) A および MAOB のプロモーター領域における CpG 島の DNA パターンをマッピングして臨床プロファイルとの関連を検討し、男性では MAOA および MAOB プロモーターがどちらもほとんど低メチル化アレルであること、メチル化パターンは脳領域ごとに異なることがあること、などを明らかにした²³⁾。しかし、近年はゲノムワイドに DNA メチル化の死後脳プロファイルを解析する研究^{17, 22)}が主流となってきており、米国では、自閉スペクトラム症、双極性障害、統合失調症のエピゲノムの全容解明を目的に PsychENCODE というコンソーシアムが設立されている¹⁾。

c. プロテオーム研究

核酸に比し、タンパク質は構造、機能が格段に複雑でありその解析は困難であるため、核酸の研究に比べて、その解析は遅れてきたが、統合失調症死後脳のプロテオーム解析は徐々に増えてきている^{2, 16)}。筆者らも以前、標的プロテオミクスと網羅的プロテオミクスを組み合わせた質量分析による、統合失調症死後脳前頭皮質のプロテオーム解析を行った⁴⁾。統合失調症脳において 50 種以上のタンパク質発現に変動がみられ、それらのネットワーク解析の結果、GNA13-ERK シグナル伝達系の減弱が示唆され、すなわち軸索形成やシナプス可塑性の障害が統合失調症病態に関与している可能性が考えられた。

d. リピドーム研究

そのほか、リピドームの観点から統合失調症病態を捉えようとする研究がある。ニューロンやグリア細胞等の脳を構成する細胞の膜成分は脂質で成り、統合失調症患者の赤血球膜中での多価不飽和脂肪酸濃度低下の報告や多価不飽和脂肪酸投与による統合失調症症状緩和の報告などがあり、これまで、ガスクロマトグラフィー⁵⁾や高速液体クロマトグラフィー、MR スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy : MRS) 法⁹⁾などによる統合失調症死後脳の脂質解析が行われてきているが、リン脂質の種や対象脳領域が研究ごとに異なるた

め、一致した見解は得られていない。筆者らは浜松医科大学との共同で、生理活性物質の原料として重要なフォスファチジルイノシトールに注目し、質量顕微鏡法および精密微量質量分析という先端技術を用い統合失調症死後脳を解析した結果、統合失調症前頭前野における特定の分子種のフォスファチジルイノシトールの減少を見だし、認知機能障害の基盤に関連している可能性を明らかにした¹⁴⁾。

おわりに

精神疾患死後脳研究の現在を福島精神疾患ブレインバンクの脳試料を用いた共同研究を交えながら概説した。現在は、統合失調症をはじめとした精神疾患の死後脳研究が非常に活発に行われ、そのリソースとして死後脳への需要はきわめて高い。このことは、死後脳研究が遺伝学的研究、画像研究、動物モデル研究等で集積した知見を検証するための最終集約点だとすれば、精神疾患の生物学的理解が最終局面に差し掛かっていることを示しているのかもしれない。

なお、本論文に関して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っている。

謝辞

本研究は JSPS 科研費 JP19H05223, JP19K08053 および AMED JP20dm0107107, JP20dm0207067, JP20dm0107161 の助成を受けたものです。

文 献

- 1) Akbarian S, Liu C, Knowles JA, et al (2015) The PsychENCODE project. *Nat Neurosc*, 18 (12) : 1707-1712.
- 2) Davaliev K, Maleva Kostovska I and Dwork AJ (2016) Proteomics research in schizophrenia. *Front Cell Neurosci*, 10 : 18.
- 3) Hill C, Roberts S, Keks N, et al (2005) Diagnostic instrument for brain studies-revised. *Mental Health Research Institute, Victoria*.
- 4) Hirayama-Kurogi M, Takizawa Y, Kunii Y, et al (2017) Downregulation of GNA13-ERK network in prefrontal cortex of schizophrenia brain identified by combined focused and targeted quantitative proteomics. *J Proteomics*, 158 : 31-42.
- 5) Horrobin DF, Manku MS, Hillman H, et al (1991) Fatty acid levels in the brains of schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry*, 30 (8) : 795-805.

- 6) Horváth S, Janka Z and Mirnics K (2011) Analyzing schizophrenia by DNA microarrays. *Biol Psychiatry*, 69 (2) : 157-162.
- 7) Ide M, Ohnishi T, Toyoshima M, et al (2019) Excess hydrogen sulfide and polysulfides production underlies a schizophrenia pathophysiology. *EMBO Mol Med*, 11 (12) : e10695.
- 8) Komatsu H, Takeuchi H, Kikuchi Y, et al (2020) Ethnicity-dependent effects of schizophrenia risk variants of the OLIG2 gene on OLIG2 transcription and white matter integrity. *Schizophr Bull*, 46 (6) : 1619-1628.
- 9) Komoroski RA, Pearce JM, Griffin WS, et al (2001) Phospholipid abnormalities in postmortem schizophrenic brains detected by 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy : a preliminary study. *Psychiatry Res*, 106 (3) : 171-180.
- 10) 國井泰人 (2019) 精神疾患死後脳研究の実際. 日本生物学的精神医学会誌, 30 (4) : 163-167.
- 11) Kunii Y, Hino M, Matsumoto J, et al (2019) Differential protein expression of DARPP-32 versus Calcineurin in the prefrontal cortex and nucleus accumbens in schizophrenia and bipolar disorder. *Sci Rep*, 9 (1) : 14877.
- 12) 國井泰人, 松本純弥, 長岡敦子, 他 (2018) 生前登録制度に基づく精神疾患ブレインバンクの実践—当事者と研究者が協働する研究体制とは—. *精神神経学雑誌*, 120 : 269-276.
- 13) Matsumoto J, Nagaoka A, Kunii Y, et al (2018) Effects of the-141C insertion/deletion polymorphism in the dopamine D2 receptor gene on the dopamine system in the striatum in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*, 264 : 116-118.
- 14) Matsumoto J, Nakanishi H, Kunii Y, et al (2017) Decreased 16 : 0/20 : 4-phosphatidylinositol level in the post-mortem prefrontal cortex of elderly patients with schizophrenia. *Sci Rep*, 7 : 45050.
- 15) Nagaoka A, Kunii Y, Hino M, et al (2020) ALDH4A1 expression levels are elevated in postmortem brains of patients with schizophrenia and are associated with genetic variants in enzymes related to proline metabolism. *J Psychiatr Res*, 123 : 119-127.
- 16) Nascimento JM and Martins-de-Souza D (2015) The proteome of schizophrenia. *NPJ Schizophr*, 1 : 14003.
- 17) Numata S, Ye T, Herman M, et al (2014) DNA methylation changes in the postmortem dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Front Genet*, 5 : 280.
- 18) Ohnishi T, Balan S, Toyoshima M, et al (2019) Investigation of betaine as a novel psychotherapeutic for schizophrenia. *EBioMedicine*, 45 : 432-446.
- 19) Paquola ACM, Erwin JA and Gage FH (2017) Insights into the role of somatic mosaicism in the brain. *Curr Opin Syst Biol*, 1 : 90-94.
- 20) Sakai M, Watanabe Y, Someya T, et al (2015) Assessment of copy number variations in the brain genome of schizophrenia patients. *Mol Cytogenet*, 8 : 46.
- 21) Takata A, Matsumoto N and Kato T (2017) Genome-wide identification of splicing QTLs in the human brain and their enrichment among schizophrenia-associated loci. *Nat Commun*, 8 : 14519.
- 22) Wockner LF, Noble EP, Lawford BR, et al (2014) Genome-wide DNA methylation analysis of human brain tissue from schizophrenia patients. *Transl Psychiatry*, 4 (1) : e339.
- 23) Yang Q, Ikemoto K, Nishino S, et al (2012) DNA methylation of the Monoamine Oxidases A and B genes in postmortem brains of subjects with schizophrenia. *Open J Psychiatry*, 2 (4) : 374-383.

■ ABSTRACT

Current status of psychiatric brain bank and postmortem brain research

Yasuto Kunii^{1,2)}, Atsuko Nagaoka²⁾, Mizuki Hino²⁾, Ryuta Izumi²⁾, Risa Shishido²⁾, Hirooki Yabe²⁾

1) *Department of Disaster Psychiatry, International Research Institute of Disaster Science, Tohoku University*

2) *Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Fukushima Medical University*

Biological research that is being actively conducted from various directions is rapidly elucidating the pathophysiology of psychiatric diseases. Many postmortem brain studies have recently been performed to verify the findings of the above studies. For such postmortem brain researches, a systematic psychiatric brain bank that can provide brain samples suitable for study is essential. Since 1997 we have managed the systematic postmortem brain bank on psychiatric diseases specializes in schizophrenia for the first time in Japan in order to understand and cure psychiatric diseases and currently maintains 62 brain tissue resources. Since 2016, Japan Brain Bank Net (JBBN) has been organized, and brain banks in Japan are being networked nationwide in order to meet the wishes of nationwide pre-registered donors. In this article, we show the practices of psychiatric postmortem brain bank in Japan and the outlines the current status of psychiatric disease studies using postmortem brain samples.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (4) : 179-185, 2021)
