

全ゲノムデータ基盤新規作用機序 抗精神病薬探索プラットフォームの開発



藤田医科大学

岩田仲生、貝淵弘三、永井拓、
吉本潤一郎、加瀬義高



慶應義塾大学

岡野栄之



浜松医科大学

瀬藤光利



名古屋大学

池田匡志



東京大学

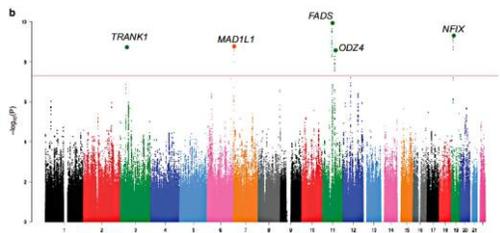
鎌谷洋一郎



理化学研究所

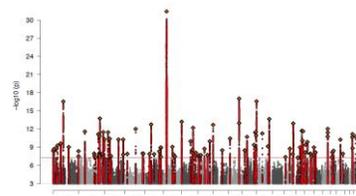
高田篤





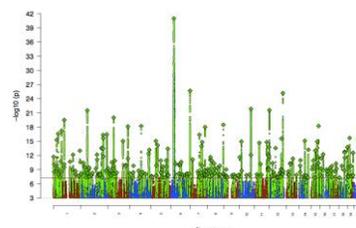
GWAS: common variant common disease
効果量は小さいが疾患全般に関連する遺伝子を多数同定

Genetic Architecture 解明の必要性
多数遺伝子の機能・連携を解明し疾患全般を理解する



双極性障害遺伝子
FADS1/2, NPAS4, RASAL2

精神病共通遺伝子 C4



統合失調症遺伝子
YWHAE, DOCK3, ABL2, CACNA2D2

日本人ゲノムデータから世界初の精神疾患メカニズム解明を目指す



藤田医科大学



全日本の共同研究体制
統合失調症15施設
双極性障害28施設

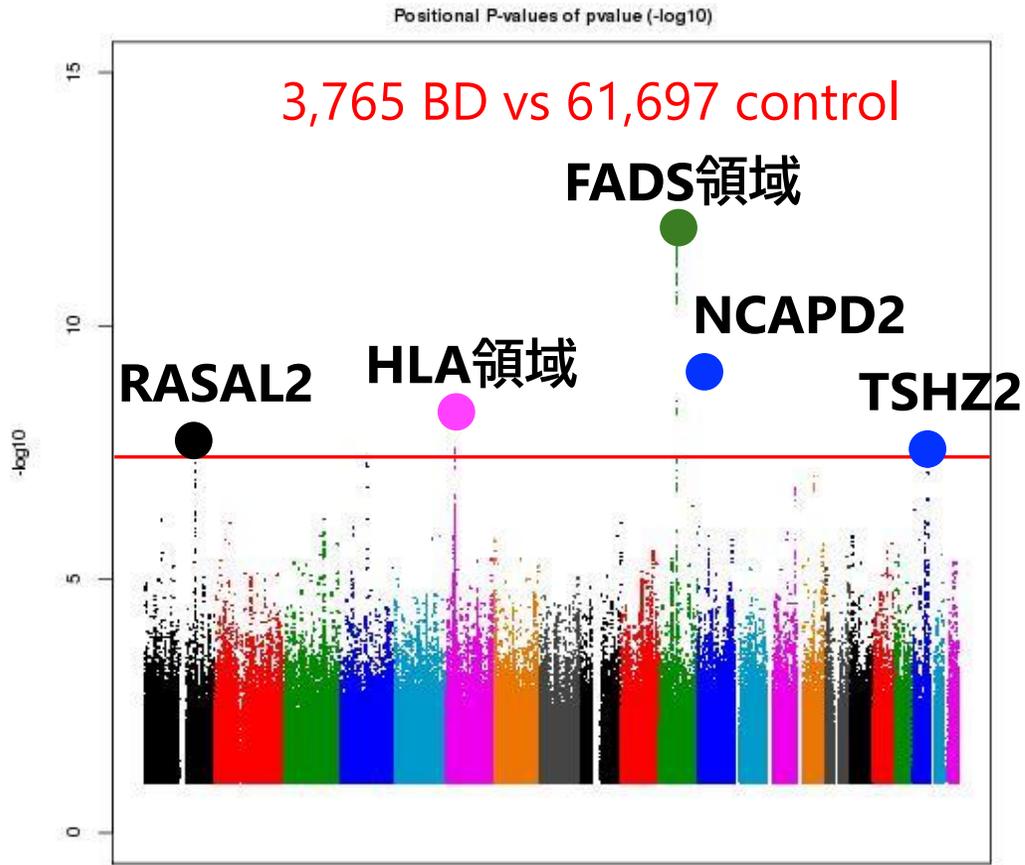
最大の国際コンソーシアム
創立時からPIとして参画
Raw data へのアクセス権
Polygenic Risk Score 解析
Trans-ethnic/disease 解析

臨床サンプルへアクセス可能

世界に先駆けて日本人発の精神疾患関連遺伝子の同定が可能

ゲノム研究成果を活かした社会実装への取組

日本人双極性障害(BD)でのGWAS

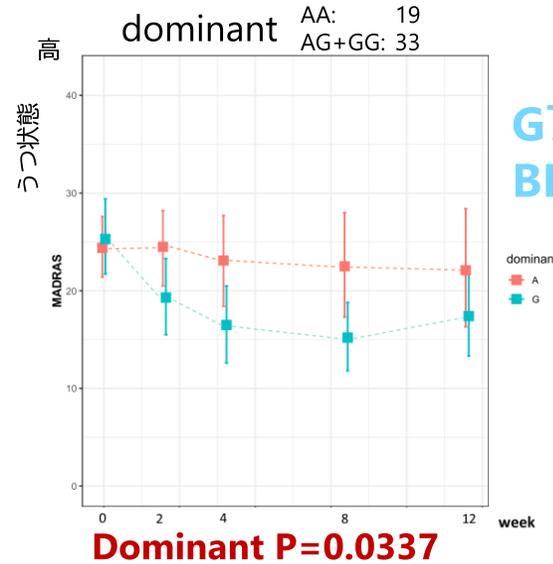


Mol Psychiatry. 2018;23:639-647.

双極性障害関連遺伝子FADS1/2は
ヒト表現形及び臨床症状と関連

リスクアレル保持者は早期にうつ状態が改善:

repeated measures ANOVA



Gアレル
BDのリスク

FADSの機能低い

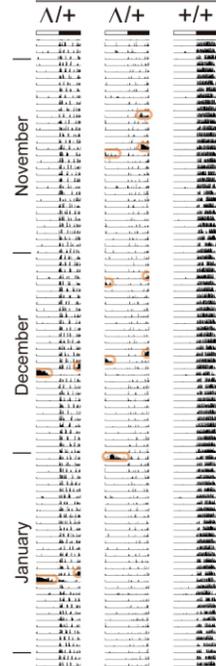
ω3 PUFA補充

うつ状態を早期改善

ω-3脂肪酸エチルは安全性は確立
Repositioning (既存薬適応追加)
DHA/EPA最適比率を探索し創薬へ

→特許取得 橋渡し研究へ

Males



Fads(D/+)マウスの長期輪回し行動解析

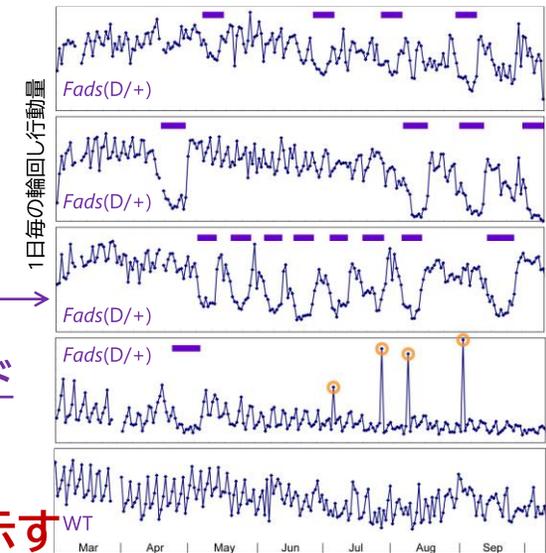
Mol Psychiatry. 2023;28:2848-2856.

主にオス:
行動量が非常に多い
半日~1日が見られた
(hyperactive bouts)

この躁様エピソード中は
尾懸垂試験において
無動時間が短い

メスマウスでは
抑うつ様エピソード
2~3週間みられた
(行動量が大きく減少)

成果
BDのphenotypeを示す



統合失調症 |

- 生涯有病率1% 好発年齢15-30歳 生涯を通じて障害が継続
- 14万3千人が入院(日本の全入院患者数の12%)平均在院日数570日
- 治療を受けている患者数は80万人 受療率は傷病分類中第1位

(2020年厚生労働省患者調査より)

- 病態生理は不明
- 遺伝率は80% GWASから300以上の関連遺伝子は同定されつつある
- 治療薬は1950年代に偶然発見されたドパミンD2受容体(D2R)アンタゴニストのみ

作業仮説

統合失調症 | 3つの症状ドメイン

陽性症状



幻覚・妄想

辺縁系
ドパミン神経系

陰性症状



意欲欠如・自閉・感情鈍麻

前頭前野
?

認知機能障害



実行機能・注意障害

前頭前野・側頭葉
?

全ての統合失調症患者は
単一の作用機序の薬物の
治療反応性で二分される

治療反応性の違う患者で
のD2シグナル伝達の差異
を同定できれば新規治療
薬の標的を同定できるの
では？

D2Rアンタゴニスト

ゲノムデータ基盤による統合失調症患者群での治療反応性層別化

(池田、鎌谷、高田 担当)



D2Rアンタゴニスト反応性

Responder

抗精神病薬継続投与により
改善し再発がない

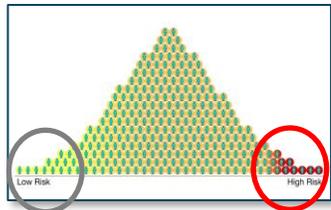


vs **Non-responder**

治療抵抗性
=クロザピン投与サンプル

遺伝学的評価

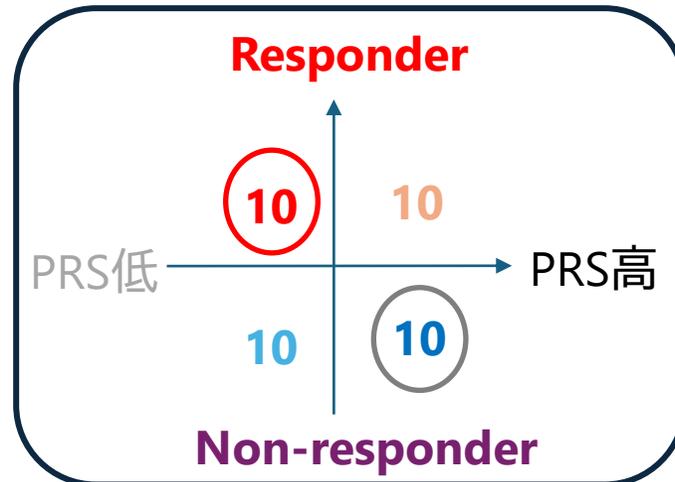
統合失調症 PRS



PRS低

PRS高

統合失調症(SCZ)PRSが高いとの既報
Biol Psychiatry 2022.07.014

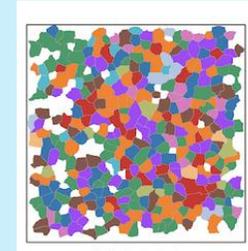


空間トランスクリプトーム
解析の最適化

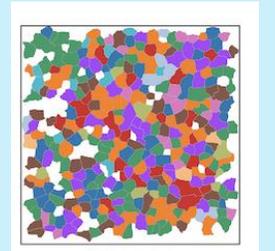
オルガノイド from iPSC

Responder

Non-responder



VS



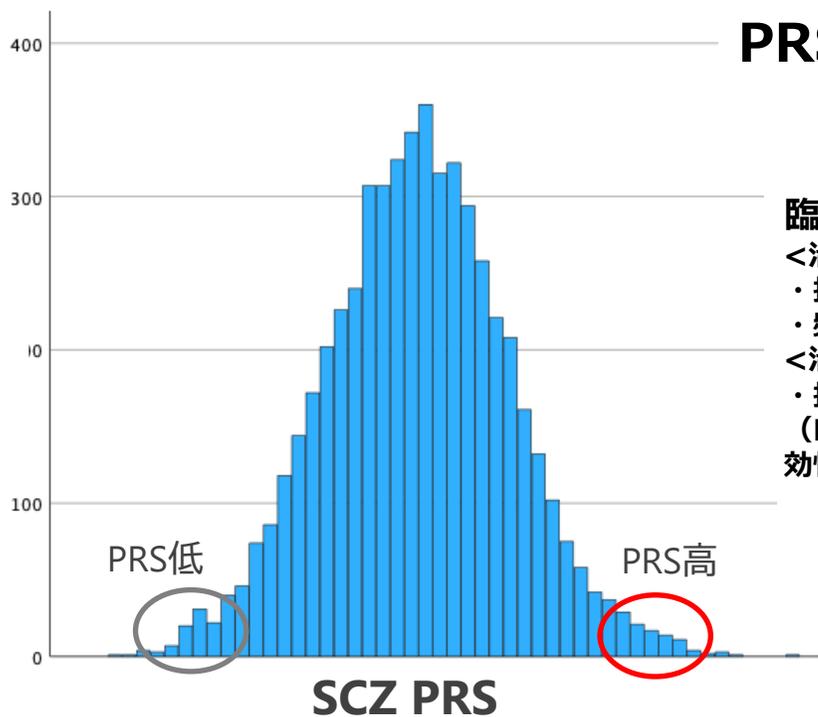
druggableターゲット遺伝子の同定
分子経路・遺伝子オントロジーの特定
正常化させる化合物検索

統合失調症 (SCZ) PRSからサンプルを選定

(岡野 担当)

Discovery set :

The Psychiatric Genomics Consortium (PGC) Asia
East Asian participants (22,778 cases and 35,362 controls)



PRS上位/下位10%からサンプルを選定

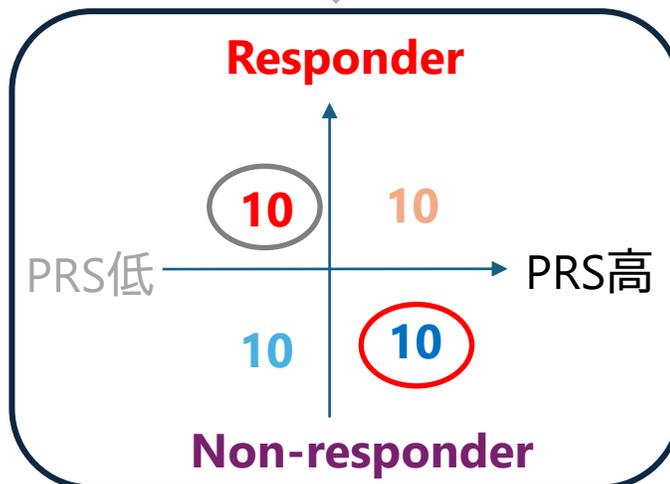
臨床上的治療抵抗性/治療反応良好例

<治療反応不良>

- ・抗精神病薬 (D2アンタゴニスト) 治療反応不良=クロザピン使用例
- ・頻回な入院歴

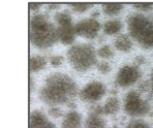
<治療反応良好>

- ・抗精神病薬 (D2アンタゴニスト) 治療により陽性症状が消退する (PANSS 陽性症状項目が改善) / また怠薬により悪化することや時効性注射剤が奏功することも目安



Target : 日本人統合失調症N=5,405

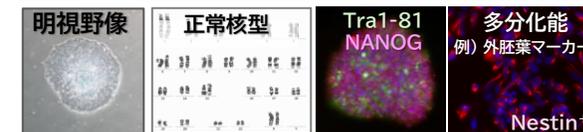
末梢血細胞



実際の患者検体:



iPS細胞



凍結保存細胞ライブラリー



種々の疾患感受性細胞の分化誘導 および 標的神経回路の構築:

- ヒト線条体 Medium Spiny Neuron (MSN) への分化誘導を中心に -

患者iPS細胞からの神経系細胞や
脳オルガノイドへの分化誘導

- 統合失調症の”多検体”を用いた実験系の導出
- 疾患感受性の高い候補となる神経回路を導出

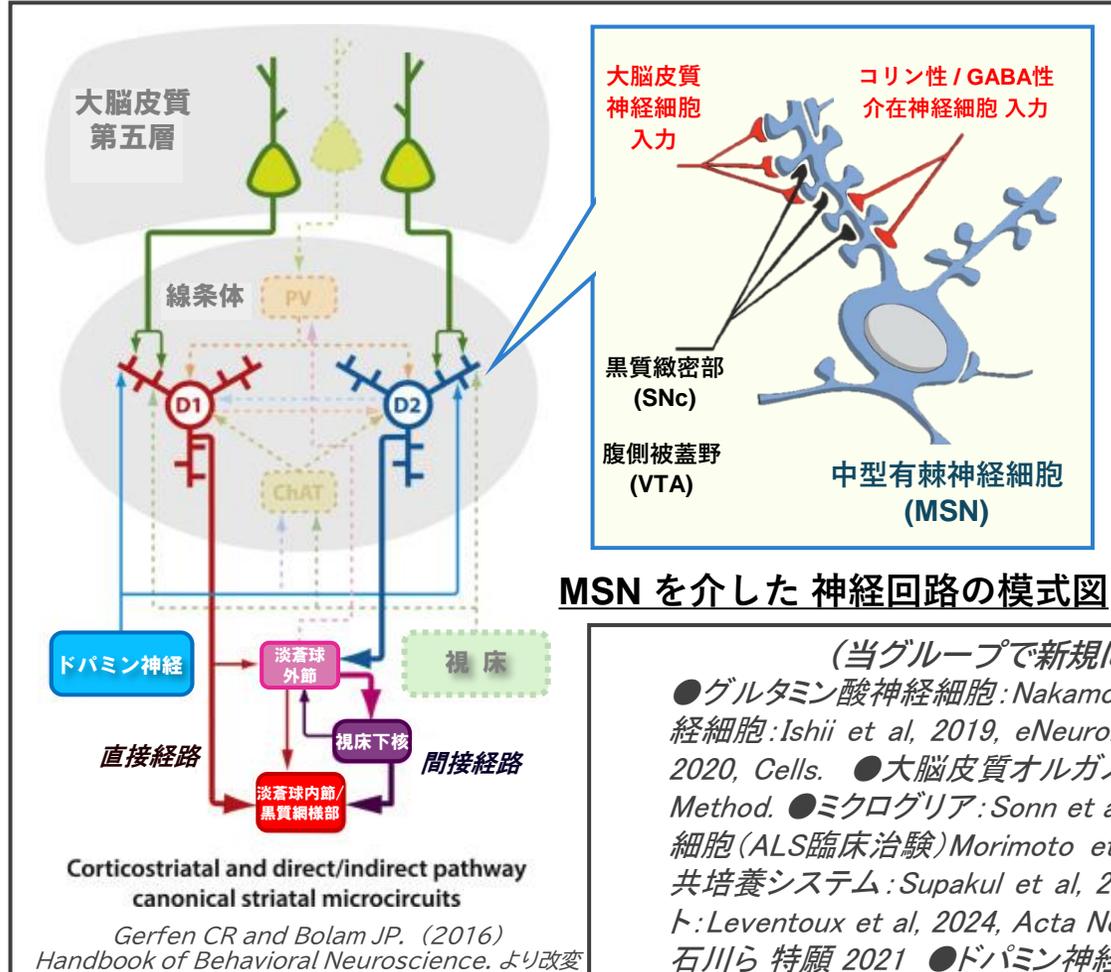
病態探索・創薬スクリーニングの
ロバストネスを上げる必要がある

当グループの強みを生かした 細胞調製法

- 遺伝子導入による標的細胞特異的な分化誘導
- 標的細胞同士の共培養・回路形成
- オルガノイドとの共培養

統合失調症治療薬の標的 (D2R) の主要発現細胞
の選択的な分化誘導法は世界中でまだ確立されていない

MSN : Medium Spiny Neurons (中型有棘神経細胞)



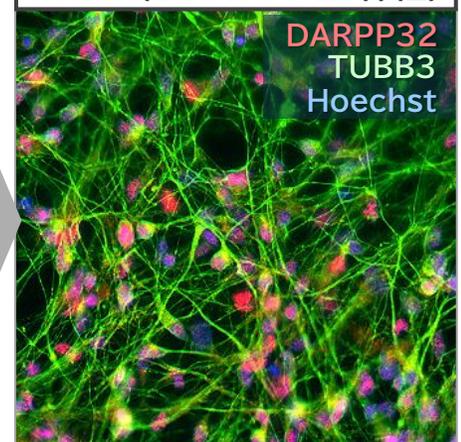
MSN を介した 神経回路の模式図

(当グループで新規に分化誘導報告した例)

- グルタミン酸神経細胞: Nakamoto et al, 2018, Sci Rep.
- GABA神経細胞: Ishii et al, 2019, eNeuro.
- 神経成熟加速: Ishikawa et al, 2020, Cells.
- 大脳皮質オルガノイド: Shimada et al, 2022, Cell Rep Method.
- ミクログリア: Sonn et al, 2021, Inflamm Regen.
- 運動神経細胞 (ALS臨床治験) Morimoto et al, 2023, Cell Stem Cell
- 神経系共培養システム: Supakul et al, 2024, Inflamm Regen.
- アストロサイト: Leventoux et al, 2024, Acta Neuropathol.
- オリゴデンドロサイト: 石川ら 特願 2021
- ドパミン神経細胞: 石川ら 特願 2023 他

当グループで確立した
新規分化誘導技術

MSN (DARPP32⁺神経)



Supakul S. et al

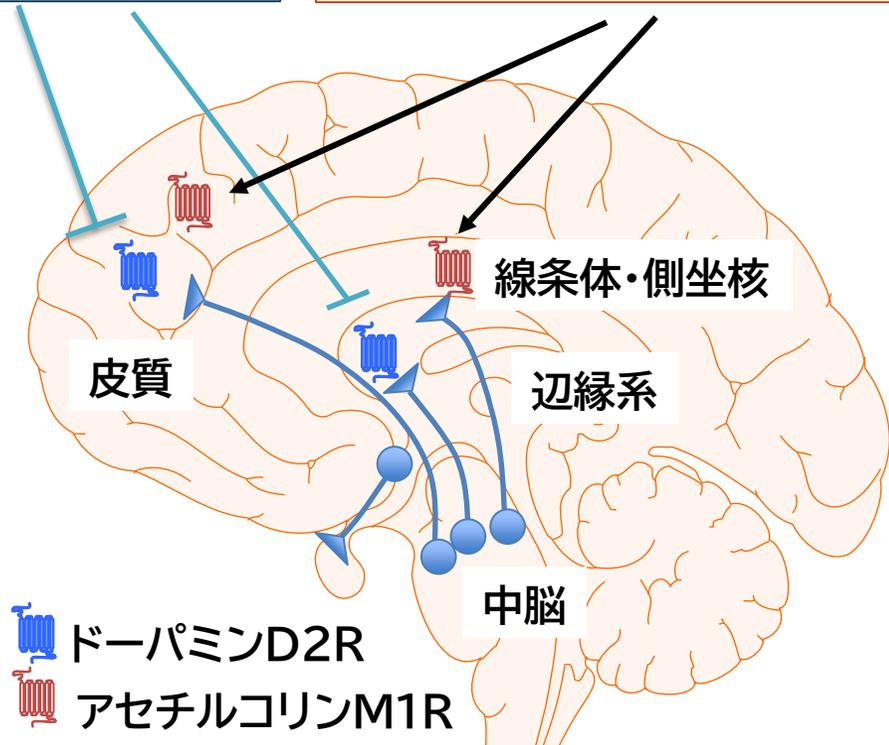
これまで当グループが報告してきた
各種細胞誘導のノウハウを結集し in
vitro病態を探索できる回路(皮質-線
条体や線条体-中脳など)を導出する

精神・神経疾患治療薬の評価と創薬に向けてのスクリーニング系の開発とシーズ探索

(貝淵 担当)

ハロペリドール
(定型抗精神病薬)・
D2Rの阻害薬)

ドネパジル
(認知症治療薬・脳内のアセチルコリンを上昇させる)



全脳レベルで以下の解析を行い、ドラッグスクリーニング系の開発とシーズ探索を目指す。

- ・トランスクリプトーム解析
- ・インターラクトーム解析
- ・細胞内シグナル解析(リン酸化プロテオミクス)
- ・リン酸化シグナルデータベース(KANPHOS)
- ・神経伝達物質と治療薬の定量(マスマイゼイング)
- ・細胞内シグナル操作(アデノ随伴ウイルス)

向精神薬、抗精神病薬、認知症治療薬を疾患モデルマウスに投与し、脳内の領域、細胞種、時間特異的なmRNA、神経伝達物質、リン酸化シグナルの変化と症状改善効果の関係を評価



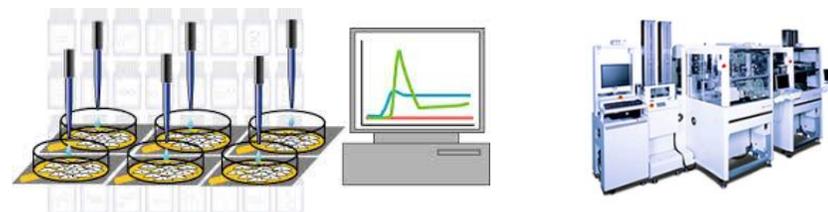
GPCR、イオンチャンネル、キナーゼ、低分子量Gタンパク質などのmiRNAを導入してターゲットシグナルを部位・時間特異的に操作し、症状改善との関係を評価



シグナル関連分子に着目して創薬ターゲットを絞り込む(種々のGPCRの部位別プロファイリングを含む)

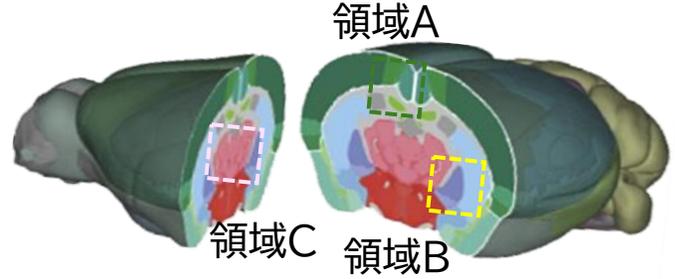
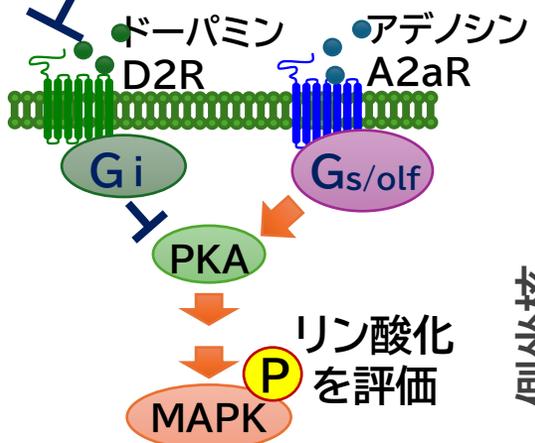


ドラッグスクリーニング系の開発とシーズ探索 (AMED-BINDS、橋渡し研究シーズ探索センターと連携)

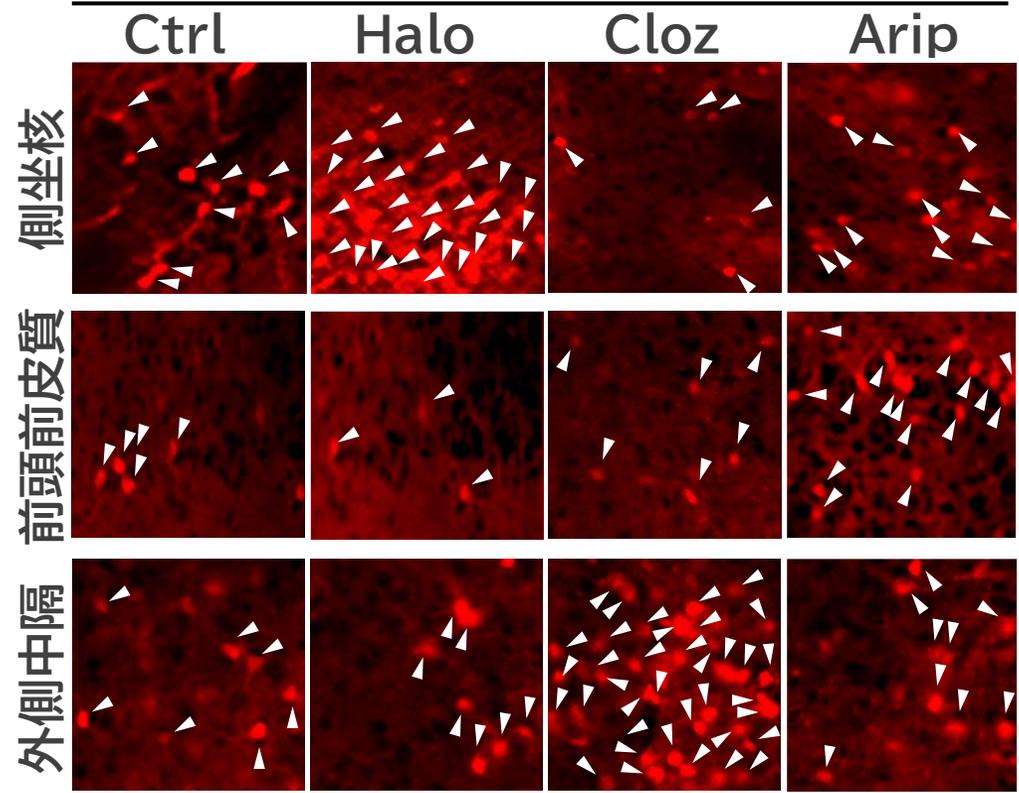


リン酸化シグナルマッピングによる精神疾患 モデルマウスの解析

D2R結合能を有する抗精神病薬



リン酸化MAPKの多領域イメージング



各脳領域毎にシグナル伝達活性を評価

- Ctrl: コントロール溶媒
- Halo: ハロペリドール (定型抗精神病薬)
- Cloz: クロザピン (非定型抗精神病薬)
- Arip: アリピプラゾール (非定型抗精神病薬)

(MAPKK阻害剤によってMAPKリン酸化シグナルは減弱する)

神経伝達物質、
向精神薬の投与



統合失調症モデルマウス (YWHAE, D2R-L KO)、
うつ病のモデルマウス (ストレス負荷、グルココルチコイド曝露)



リン酸化シグナルマッピング



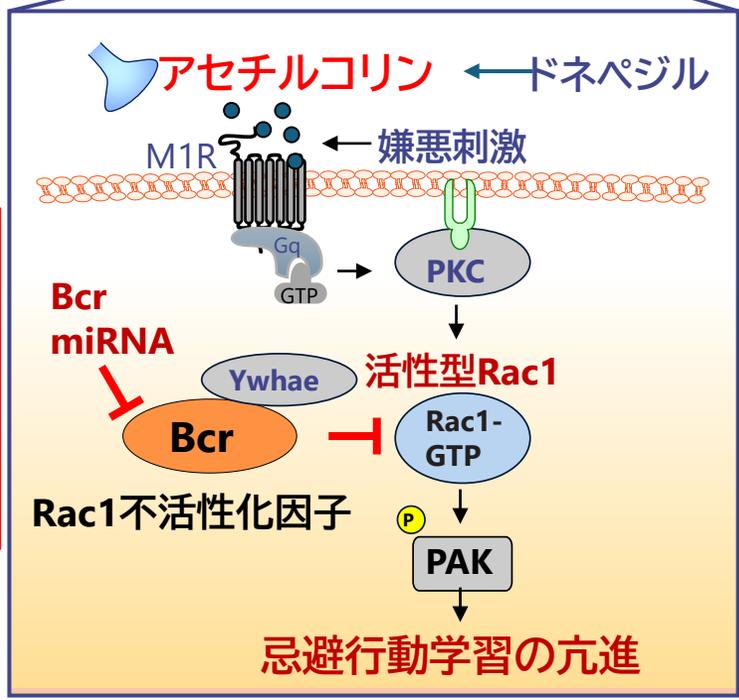
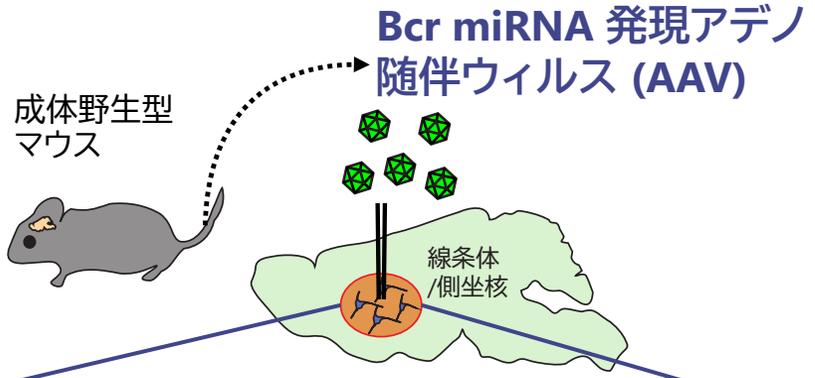
神経伝達物質と向精神薬の作用領域、細胞種、作用点の同定。疾患モデルマウスでのシグナル改変部位の同定

認知機能を改善する新規抗精神病薬の開発(アセチルコリン経路を利用して)

約70種類ある
RacGAP から
側坐核で働く
RacGAPとして
Bcrを同定

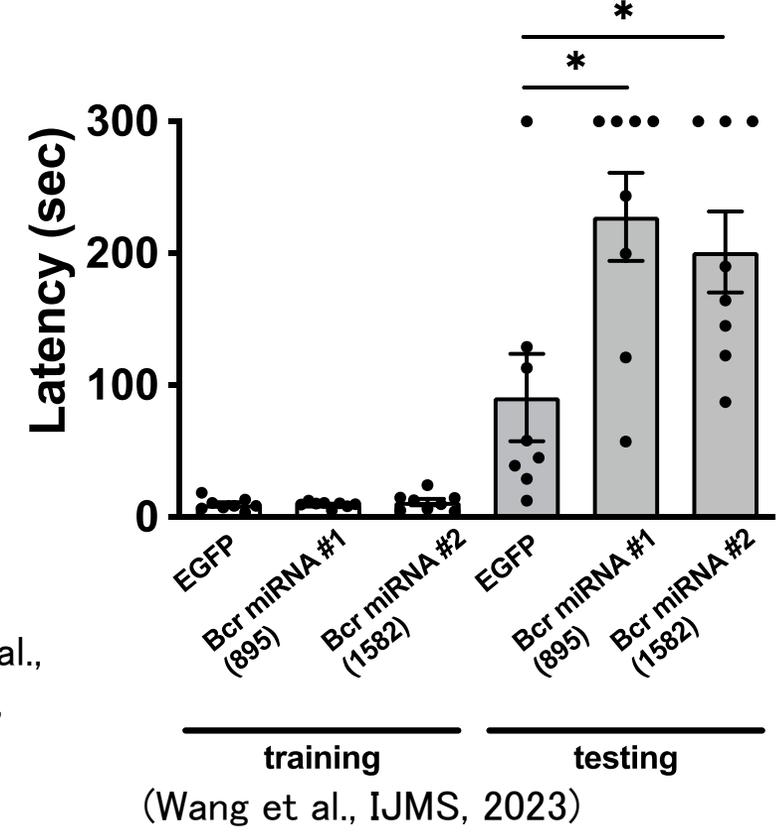
Bcr のノックダウンによるRac1の
活性化が
忌避行動学習を
亢進する

RacGAP Bcr が認知機能改善のための
創薬ターゲットになる



(Yamahashi et al.,
Mol Psychiatry,
2022)

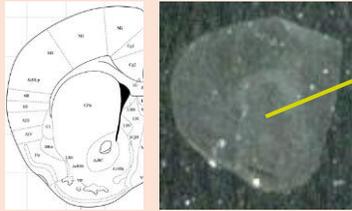
受動回避試験 (忌避行動学習)



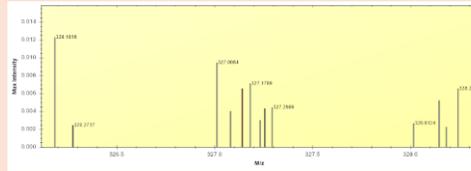
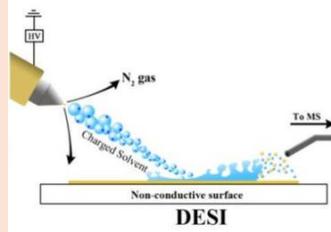
In silicoでFDA認可の10000化合物をスクリーニングし
て16種類の候補薬物を同定 -> 内2種類はRacGAP
活性を抑制 -> 向精神薬Xを同定

質量分析イメージング(MSI)を用いた抗精神病薬と 生体分子の空間オミクス解析

(瀬藤 担当)



抗精神病薬投与マウス
脳組織切片



MSIによる
抗精神病薬の分布解析

作用領域探索
薬物動態解析

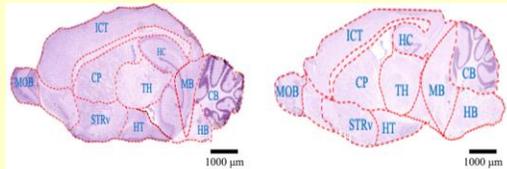
抗精神病薬の分布が
明らかになりつつある

【連携(瀬藤G, 貝淵G)】

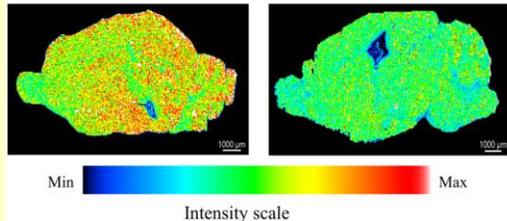
標的分子探索, 薬効評価

薬物 非投与 薬物投与

HE



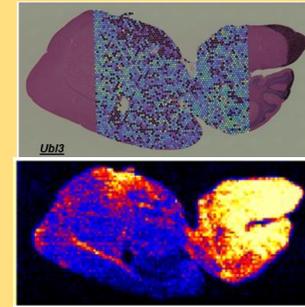
MSI



投与薬物によって脳組織における
分布が変動する分子をMSIデータ
から同定(Foydur et al. 2024)

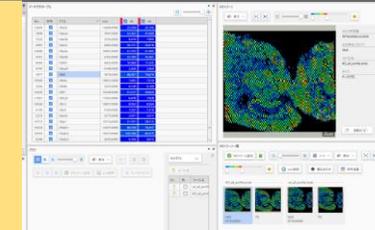
【連携(瀬藤G, 貝淵G)】

連続脳組織切片

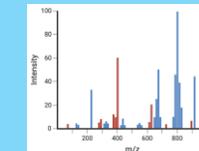


MSIと空間トランスクリプトームによる空間マ
ルチオミクス. 異なるプラットフォーム間で類
似画像解析が可能になった

標的分子・経路探索



ヒト試料計測



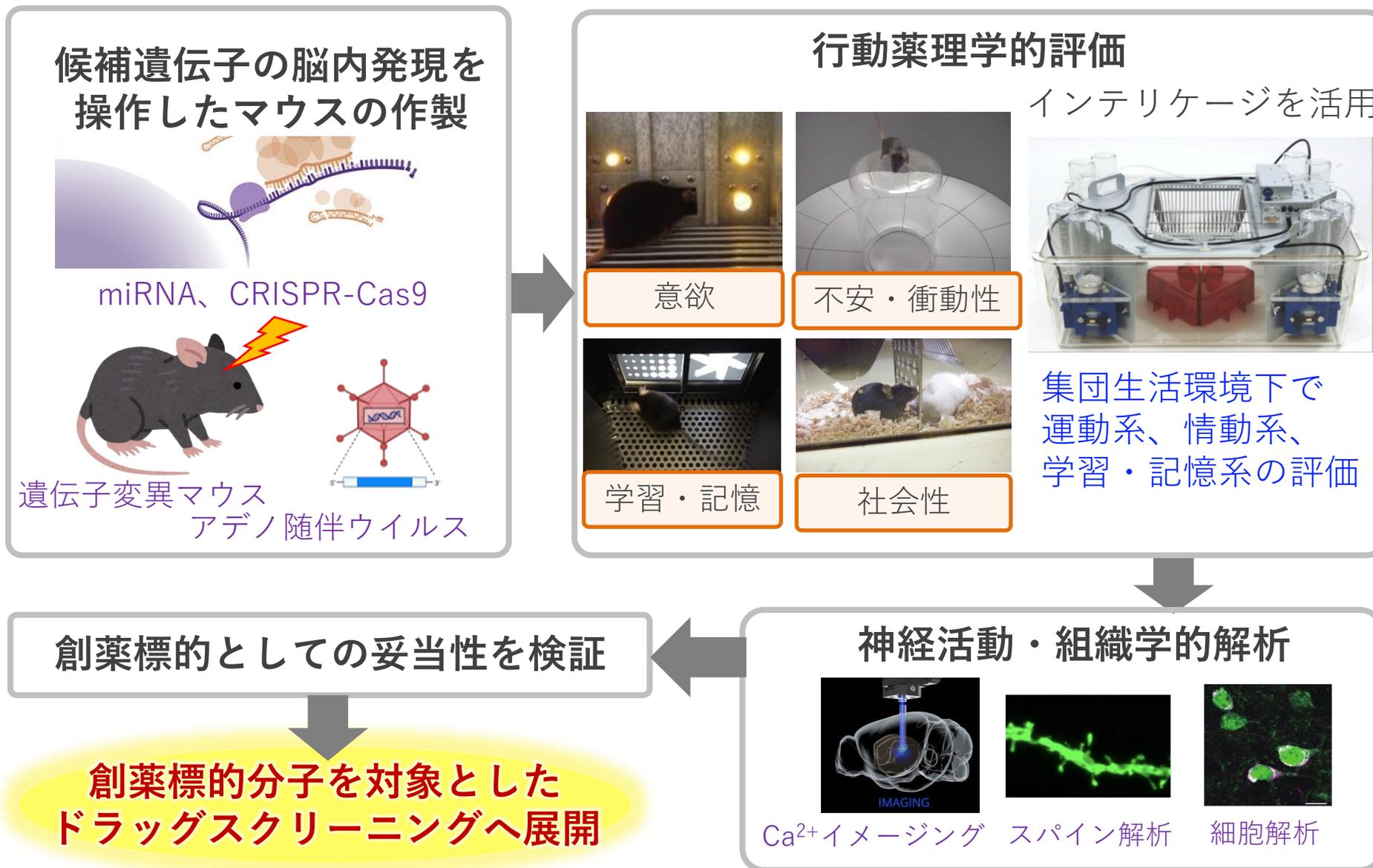
患者剖検脳のMSI

浜松医大にiPS細胞を導入 に向けて協議中

【連携(瀬藤G, 岡野G)】 【連携(瀬藤G, 岩田G)】

創薬候補分子の発現を操作したマウスの 行動薬理的評価

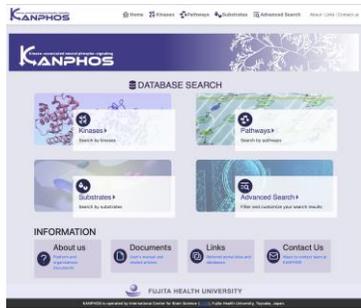
(永井 担当)



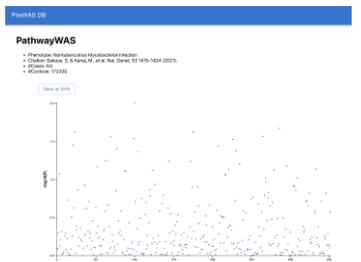
データベース横断解析による創薬標的候補分子の推定ツール開発



BioGRID
インタラクトームDB



KANPHOS
リン酸化シグナルDB



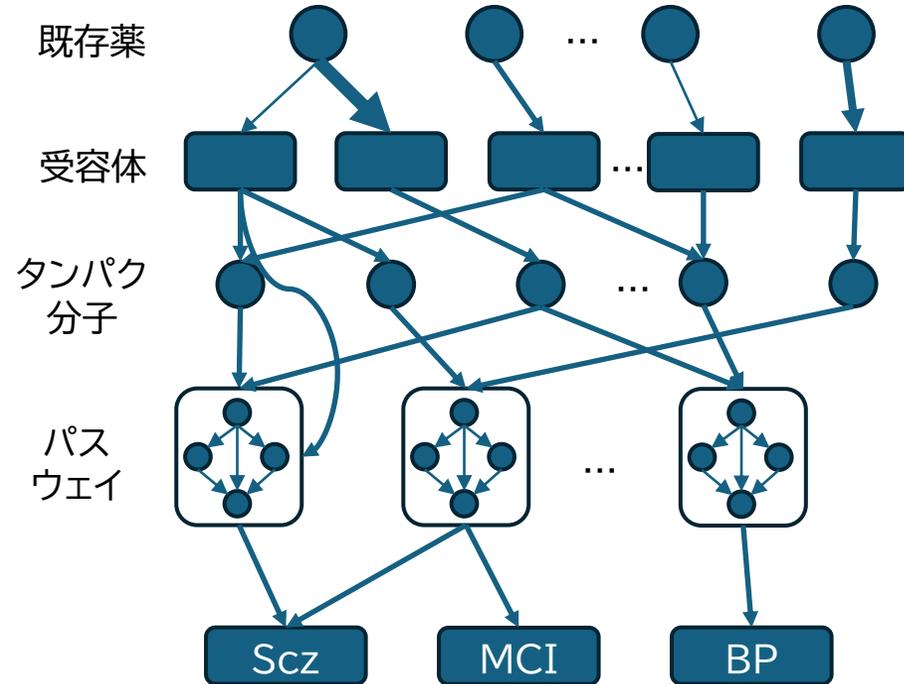
パスウェイワイド関連解析DB
(開発中)

リガンド分子
↕
受容体
↕
タンパク分子

受容体
↕
シグナル
伝達経路

シグナル
伝達経路
↕
精神疾患

DB情報に基づく
グラフ構成

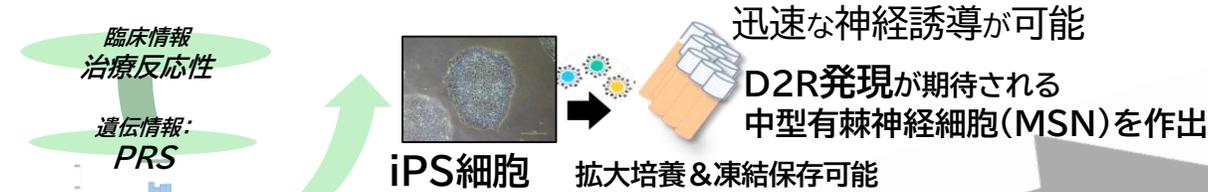


グラフ解析によって以下を推定

- 疾患につがりやすいネットワーク経路は？
- 中継地的なノードとなっているタンパク/遺伝子は？
⇒ 介入ポイントになり得るノードをスクリーニング

治療反応性/抵抗性をin vitroで評価する迅速な病態・創薬スクリーニング系

治療反応性と遺伝情報(PRS)で層別された患者由来 iPS細胞・脳オルガノイド

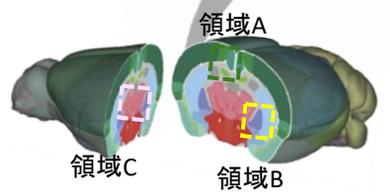


【研究の出口・価値】
 既に候補分子Xを同定
 リード化合物の同定と構造転換
 創薬候補による介入治療
 薬剤コア領域を標的とした治療介入

主要精神疾患ゲノム解析情報

包括的リン酸化情報の
3次元マッピング解析

統合失調症モデルマウス
(YWHAE, D2R-L KO)



神経伝達物質と向精神薬の作用領域、
細胞種、作用点を同定
疾患モデルマウスでのシグナル改変
部位を同定

リン酸化
マッピング

ゲノム

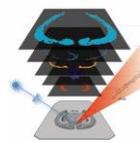
iPS/再生

MSI

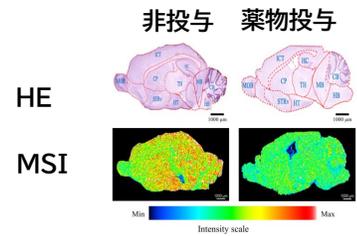
データ
科学

行動解析

質量分析イメージング(MSI)を用いた
抗精神病薬と生体分子の空間オミクス解析



1. 抗精神病薬投与マウス
2. 抗精神病薬投与疾患モデルマウス
3. iPS 細胞から得られた脳オルガノイド



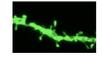
分布変動分子の探索(Foydur et al. 2024)

創薬候補分子の発現を操作した
マウスの行動薬理的評価

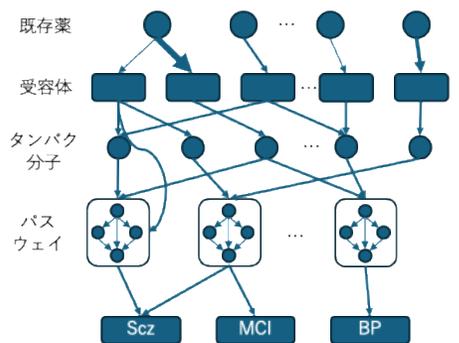
AAVを活用したCRISPR-Cas9システム
短期間で簡単に候補遺伝子改変マウスの作成が可能
行動薬理的評価 + 神経活動・組織学的解析

インテリケージを活用

- ・運動系
- ・学習・記憶系
- ・情動系の評価



DB情報からグラフを構成し、グラフ特徴量を算出



- ・疾患につがりやすいネットワーク経路
- ・中継地的なノードとなっているタンパク質/遺伝子

複数DBを活用したin-silico解析と介入ポイントになり
得るタンパク質/遺伝子スクリーニング系の開発・公開