

ハンチントン病モデル脳の遺伝子共発現を網羅解析

—共発現ネットワークをつなぐ遺伝子が選択的細胞死と関連—

概要

理化学研究所（理研）光量子工学研究センター画像情報処理研究チームの於保祐子客員研究員（実践女子大学食科学部管理栄養学科教授）、横田秀夫チームディレクター（情報統合本部生命科学データ共有開発ユニット上級研究員、生命医科学研究センター予測医学特別プロジェクトプロジェクトディレクター代理）らの共同研究グループは、独自に開発した TT 法^[1]を用いて、ハンチントン病（HD）^[2]モデルマウスの脳で約 40,000 遺伝子について 3 次元発現マップを作成して解析し、HD 脳で遺伝子共発現ネットワークに多様で特異な変化が生じることを見いだしました。

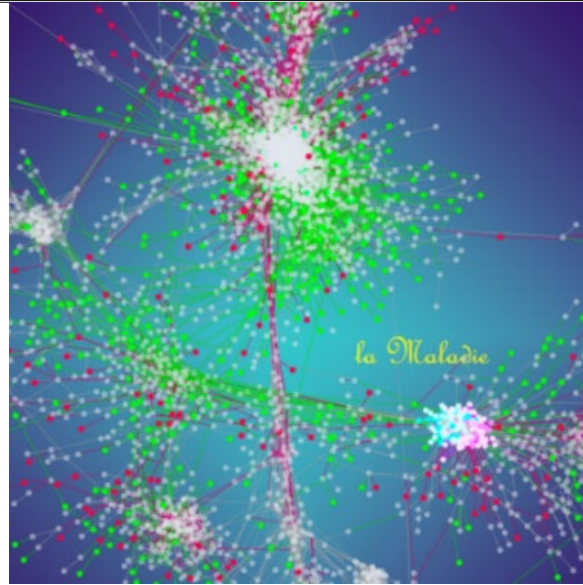
今回の研究は、疾患に特徴的な病変を生じる鍵となる遺伝子について、トポロジカルモデル^[3]を用いた仮説を提示するもので、その結果は更なる病態の理解と今後の治療薬の開発などに応用が期待できます。

ヒトの HD 病因遺伝子 *HTT* は多くの細胞に発現するにもかかわらず、発病初期に脳線条体中型有棘（ゆうきょく）神経細胞（MSN）^[4]に特異的病変が生じ、その後特定の経路で神経細胞死が進行します。その分子メカニズムは、病因遺伝子が同定されて 30 年を経てなお解明されていません。

本研究では、遺伝子間の発現類似性（共発現）に注目して、ネットワーク手法^[5]を用いて発病初期のマウス HD 脳を網羅的に解析し、正常マウスと比較しました。

その結果、マウスの HD 脳で遺伝子共発現ネットワークに多様な変化が見られ、特に神経栄養因子 BDNF^[6]の機能に関連する遺伝子群と HD 病因遺伝子 *Htt* との共発現や、エネルギー代謝を支えるミトコンドリア遺伝子群内の共発現に大きな違いがあることが分かりました。さらに、MSN の形成に重要な *Lhx6* 遺伝子の発現パターンが変化して共発現遺伝子群から脱落していること、共発現遺伝子群の間のハブとなる遺伝子 *Smarca4* や *Fcho1* が消失してネットワークが分断されていることを見いだしました。こうした新知見は、脳で広く機能する BDNF やミトコンドリアの障害が疾患特異的細胞死を起こすメカニズムに、これらの遺伝子の働きが関連している可能性を示すものです。

本研究は、科学雑誌『*Scientific Reports*』オンライン版（6月30日付：日本時間6月30日）に掲載されました。



病（la Maladie）に抗う生命の華（les Fleurs）ように見える HD 脳での遺伝子ネットワーク

背景

脳は、その構造と機能が密接に関連していることから、細胞レベルでの遺伝子発現の研究が難しい臓器です。神経細胞は長い突起を持ち、それらの連結が重要で、薬剤処理で単一細胞にするとその構造が失われること、脳の機能単位となる部位は立体的に複雑な形で相互に入り組んでいるため、注目部位を切り出しする際に正確性に欠けることなどから、フローサイトメトリー^[7]や、組織片を用いた従来の研究方法では十分に得られない情報があります。

こうした困難を克服するために、於保客員研究員らは 2012 年に TT 法を開発しました^{注 1)}。この方法では、数万遺伝子それぞれの発現パターンを示すマップを同一 3 次元空間に示し、さらに遺伝子間の発現類似性（共発現）について正確な情報が得られます^{注 2)}。

病因遺伝子 *HTT* の同定後 30 年余りの間に、MSN から脳全体へ病変が徐々に進行するこの病特有の分子メカニズムについて多くの研究がなされ、脳で広く作用する栄養因子 BDNF の不足との関連が示唆されています。こうした研究成果を治療に生かすためには、発病初期に BDNF が MSN に作用するメカニズムの解明が欠かせません。共同研究グループは、5 週齢の HD 疾患モデルマウスに軽微な運動異常があることを既に突き止めていました^{注 3)}。本研究はこのマウスを対象として行われました。

注 1) Okamura-Oho, Y. et al. Transcriptome tomography for brain analysis in the web-accessible anatomical space. *PLOS ONE* 7, e45373 (2012). 10.1371/journal.pone.0045373, Pubmed:23028969.

注 2) Virtual Brain with 3D-ISM (ViBrism) DB

<https://metadb.riken.jp/metadb/db/ViBrism>

注 3) Oota, S. et al. Neurorobotic approach to study Huntington disease based on a mouse neuromusculoskeletal model. 2018 *IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)* (IEEE, 2018). 10.1109/IROS.2018.8594491.

研究手法と成果

本研究では TT 法を用いて、5 週齢マウスで疾患特異的病変が形成される初期段階の異常に関連する遺伝子の同定を試みました (図 1)。

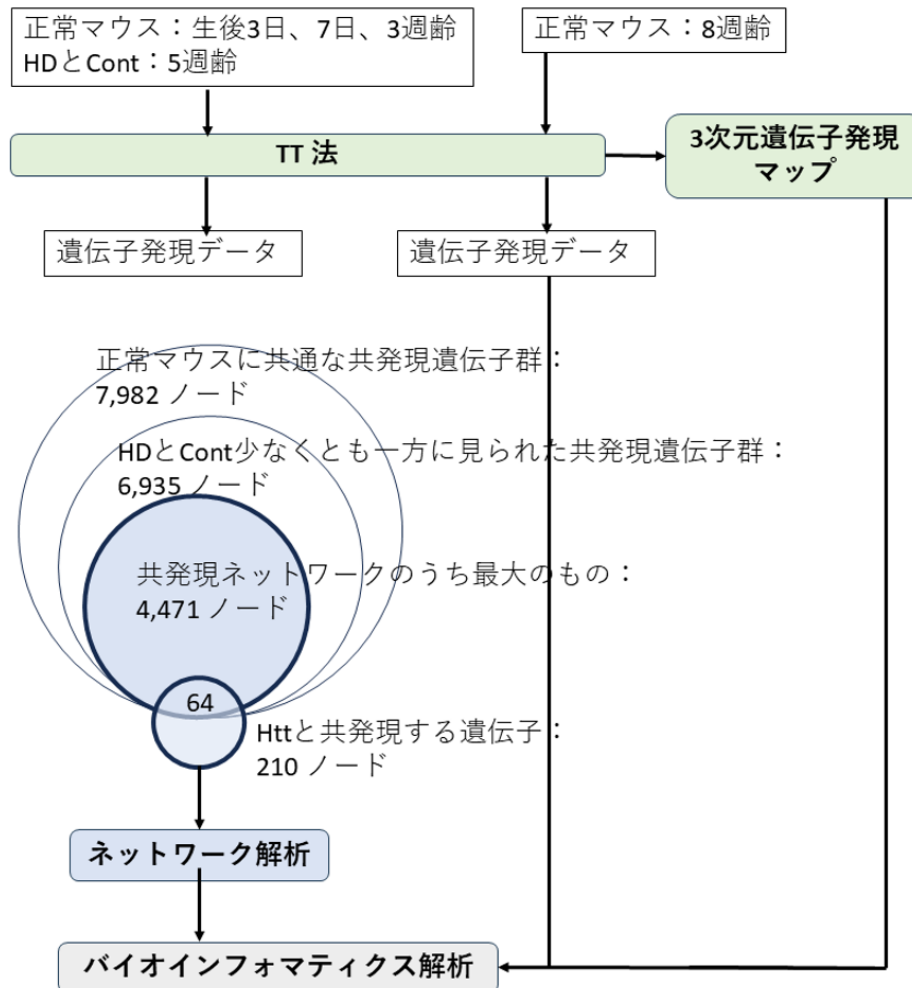


図 1 解析の概要

データセットと解析プラットフォームを示す。ベン図の太枠内の遺伝子データでネットワーク解析を行った。ノード（要素）は遺伝子データ単位を示す。HD：ハンチントン病、Cont：同腹仔対照。

生後発育期の正常マウス（生後 3 日、7 日、3 週齢の 3 時点）と 5 週齢の HD マウスとその同腹仔対照 (Cont) を用いて TT 法での遺伝子発現解析を行いました。発育期の 3 時点全てで発現パターンの類似性が高い（ピアソン相関係数^[8] $r > 0.85$ ）、すなわち共発現の状態が保たれている遺伝子ペアを選び、さらにその中から HD と Cont マウスでも共発現する遺伝子ペアを抽出しました。

遺伝子をノード（ネットワーク図では円）で示し、二つのノード間の距離の指標に r を用いて、共発現する遺伝子をエッジ（線）でつなぐ「共発現ネットワーク図」を作成したところ、4,471 ノードから成る大きなネットワークが見られま

した。このネットワークにはマウス *Htt* 遺伝子と共発現する遺伝子が 64 個含まれていました。このため、発育期に常に存在する共発現ネットワークと *Htt* との共発現を示すネットワークは一つにつながりました（「*Htt* に連結するネットワーク」）（図 2a）。HD では *Htt* から遠いノード、すなわち発現類似性の低い遺伝子にも共発現に変化が生じていました。さらに変化を生じるノードはネットワーク上に均一に分布しているわけではありませんでした。

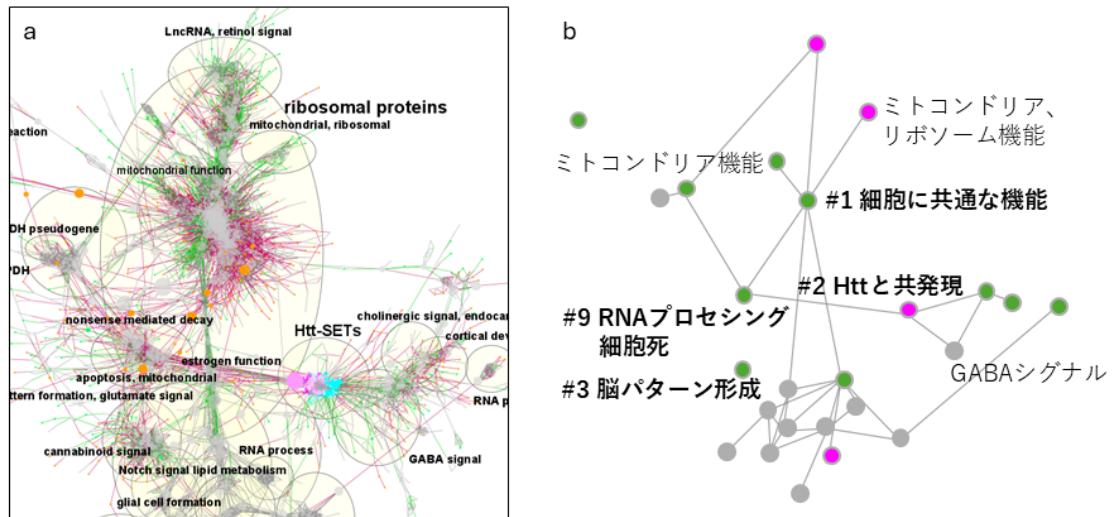


図 2 *Htt* に連結するネットワーク

a: *Htt* に連結するネットワーク (部分)。Htt-SETs は *Htt* と共発現する遺伝子群のネットワーク。このうち 64 ノードが共発現ネットワークに含まれ、二つのネットワークはつながっている。ノードの色は、緑 (Htt-SETs では淡青) が HD で消失する共発現、赤 (Htt-SETs ではマゼンタ) は Cont で消失し HD で維持される共発現、灰色は不変を示す。淡黄バック (背景色) はクラスタリング結果を示す。

b: 平均化ネットワーク図。25 のクラスターに含まれるノード位置を平均化して 1 ノードとして表示し、その平均的連結を示した。本文中に記載したクラスター番号とそこに含まれる遺伝子の代表的機能を記載した。ノードの色はクラスターに含まれるノードの平均。色は a に同じ。

そこで、「*Htt* に連結するネットワーク」をノード位置の近さで群に分け (クラスタリング)、それぞれのクラスター群に存在する遺伝子の生物学的特徴についてバイオインフォマティクス手法^[9]を用いて解析しました。

クラスタリングの結果、ネットワークは 25 の主要なクラスター群に分けられました (図 2b)。

最も多くのノードから成るクラスター #1 には細胞に共通の機能に関する遺伝子が含まれ、これらの 93% において HD と Cont で共発現状態が保たれており、ネットワークの安定性を示す結果となりました。ただ、ミトコンドリア機能に関する一群の遺伝子 (サブクラスター #1) の間の共発現の多くが HD で失われていました。

クラスター #2 は *Htt* 遺伝子と直接共発現する遺伝子とその周辺ノードから成ります。MSN の特徴であるグルタミン酸受容体と GABA 作動性シナプス^[10]を構成するたんぱく質をコード (暗号化) する遺伝子、BDNF 受容体や神経突起の伸長に関する遺伝子が含まれ、さらに #2 に含まれる遺伝子のゲノム上流には

BDNF で制御される領域が有意に多く存在することが分かりました（統計上の有意差 $p < 1.66 \times 10^{-5}$: p は小さいほど統計上有意）。HD では、こうした遺伝子の多くについて *Htt* との共発現に変化が見られました。

サブクラスター#1 および#2 が示す結果は、HD におけるミトコンドリア機能障害、BDNF の不足や機能低下という既知の事実^{注4, 5)} を TT 法で再確認するものとなりました。

クラスター#3 には、胎児期の脳の形態形成や神経細胞の発生分化に重要な役割を果たす遺伝子が多く含まれていました。これらを含む共発現ネットワークは HD と Cont に違いが少なく安定性を示しました。クラスターを構成する 89 遺伝子のうち、HD では 3 遺伝子の共発現が失われ、Cont で消失した 2 遺伝子の共発現が HD で残っていたという違いが生じただけでした。

HD で消失した遺伝子の一つは、胎児期の MSN 形成過程で鍵となる働きをする *Lhx6* 遺伝子でした。*Lhx6* の生後の機能は十分に解明されていませんが、於保客員研究員らが既に報告した TT 法での解析では、胎児期脳で大腦皮質から線条体への神経回路を形成する際に協働して機能する *Lhx6* を含む一群の遺伝子が、8 週齢の成体の脳でも互いに近傍に発現していることが示されています^{注6)}。

今回の研究でも、同様の共発現は発育期の 3 ステージおよび Cont 脳で保たれていました。保存された共発現関係から *Lhx6* が脱落していることは、HD の発病初期における *Lhx6* の局在異常や機能不全を示唆するものです。実際、TT 法による 3 次元発現マップの結果と同様に、従来法（ISH 法（*in situ* ハイブリダイゼーション法）^[11]）を用いて *Lhx6* を脳組織切片上で染色してみると、Cont の 5 週齢では大腦腹側に *Lhx6* プラス細胞が多く認められるのに対して、HD では分布の限局性が弱まって特に線条体背側領域ではより多くの細胞に *Lhx6* の発現を認めました（図 3）。

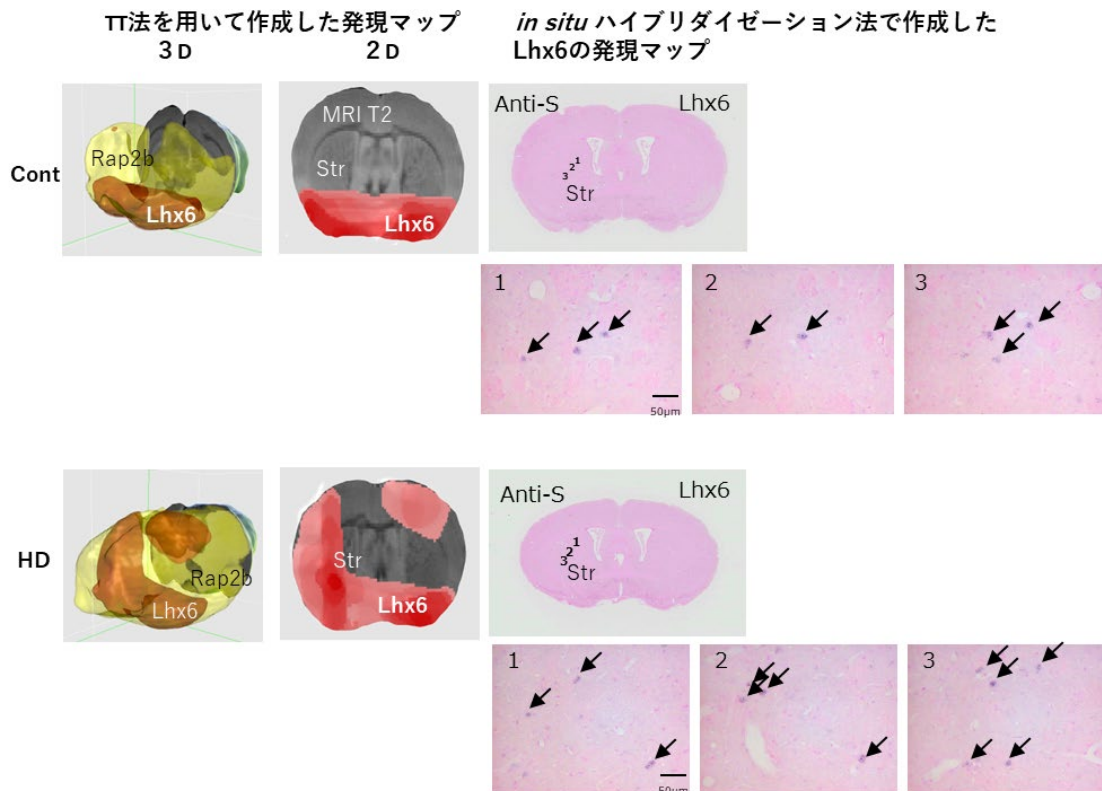


図 3 TT 法の 3 次元発現マップと ISH 法との結果の比較

Lhx6 は、Cont では大脳腹側に限局し、HD では背側方向に分布域が拡大している。ISH 法を用いて線条体 (Str) 背側部分 (1、2、3) を細胞レベルで検討した結果について、染色された Lhx6 を含んだ細胞を矢印で示す。HD では線条体背側領域により多く存在する。MRI T2 強調画像、 μm : マイクロメートル ($1\mu\text{m}$ は 100 万分の 1 メートル)。Rap2b: Cont で Lhx6 と共発現する遺伝子例。HD では共発現しない。

#1~3 のクラスター (Cluster) はネットワークハブとなる遺伝子で連結されていました (図 4)。Fcho1 はミトコンドリア機能と関連するサブクラスター #1 と Lhx6 が存在するクラスター #3 をつなぐハブ遺伝子でした。Fcho1 近傍のノードを連結する線に沿って拡張しながら選択する伝播法 (でんぱほう) を用いて集めた遺伝子群には、HD の病因に関連する遺伝子 ($p < 4.0 \times 10^{-5}$)、シナプス形成 ($p < 4.0 \times 10^{-5}$) やミトコンドリア障害 ($p < 6.8 \times 10^{-3}$) に関連する遺伝子が有意に集まっていました。一方、HD ではこれらの共発現の多くが失われていました。

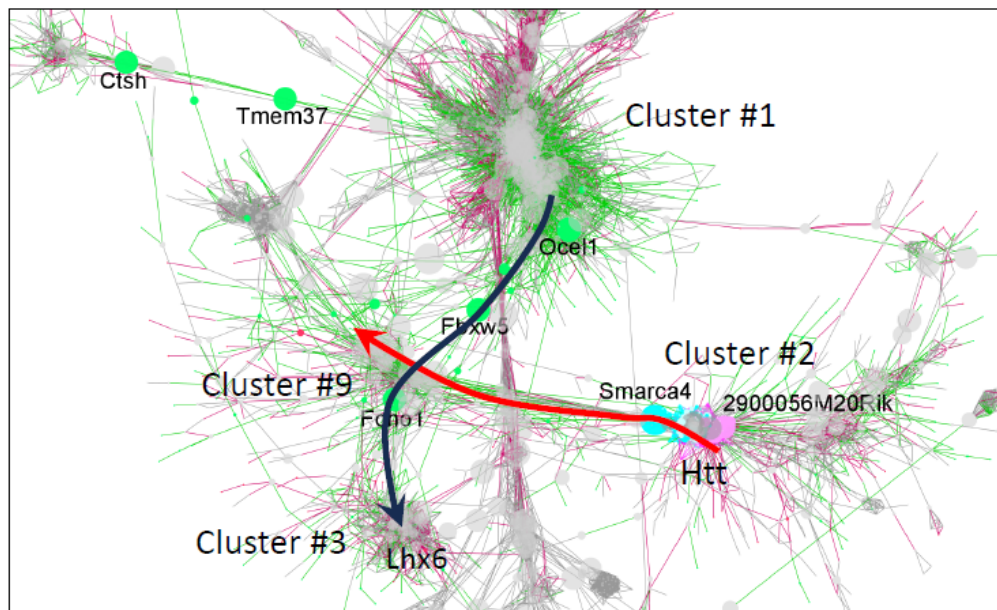


図4 遺伝子クラスターをつなぐネットワークハブとなる遺伝子

「Htt に連結するネットワーク」でハブとなる遺伝子を大きな円で示す。Fcho1 と Smarca4 はそれぞれ、Htt の組織特異的病変に関連すると推定される一群の遺伝子をつないでいる。

この結果は、広く脳に影響する可能性のあるミトコンドリア機能障害と MSN 形成に関与する Lhx6 の変化をつなぐ、すなわち疾患遺伝子が引き起こす広範な障害が疾患特異的病変を引き起こす機構に、Fcho1 が関与する可能性をトポロジカルモデルとして示唆するものです。一方、Smarca4 はクラスター#2 と#9をつなぐハブノードの働きをしていました。Smarca4 はクロマチン構造を変化させることで多くの遺伝子の転写を調節することが知られています。クラスター#9 にはアポトーシス^[12]や細胞死を調整する遺伝子が有意に集まっていることから、これらの遺伝子が Smarca4 を介して HD での細胞死に関与している可能性が示されました。また、これら二つのネットワーク上の伝播システム「ミトコンドリア遺伝子群→Fcho1→Lhx6」と、「Htt 共発現/BDNF→Smarca4→細胞死関連遺伝子群」には、共通する遺伝子がほとんど含まれないことから、これら二つは独立であると推定されました。

注4) Carmo, C. et al, Mitochondrial dysfunction in Huntington's disease. *Adv. Exp. Med. Biol.* (2018). 1049, 59–83. 10.1007/978-3-319-71779-1_3, Pubmed:29427098.

注5) R.D Almeida et al. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3-kinase pathways. *Cell Death Differ.* **12**, 1329–1343 (2005). 10.1038/sj.cdd.4401662, Pubmed:15905876.

注6) Okamura-Oho, Y. et al. Broad integration of expression maps and co-expression networks compassing novel gene functions in the brain. *Sci. Rep.* **4**, 6969 (2014). 10.1038/srep06969, Pubmed:25382412.

今後の期待

TT 法は、複雑な構造を持つ組織・臓器について位置情報を保持したまま網羅的に遺伝子発現を測定し、その結果を解剖学的な 3 次元発現マップとトポロジカルな共発現ネットワーク図として示す独自のシステムです。トモグラフィー

手法^[13]を用いることで少数試料から立体的な発現マップを再構成できることから、複雑な構造を持つ臓器・組織の分子生物学的研究に広く応用できます。今回の研究成果は、さまざまな疾患の組織特異的病変について、TT法を用いた網羅解析的アプローチ法の可能性を示すものです。

TT法、ネットワーク解析手法、バイオインフォマティクスの知見を用いて、HDの疾患特異的病態に関与する遺伝子候補とその分子メカニズムについて新規のモデルを提示することができました。この成果は、病態に特異的な治療法の開発、例えばBDNFを主軸に進められているHDの治療法の開発などの可能性を広げるものです。更に、同様の解析手法は他の脳変性疾患や脳腫瘍などの発症プロセスの研究や治療への応用も期待されます。

論文情報

<タイトル>

Topological modeling of gene expression in the brain with Huntington's disease reveals selective disruption of co-expression network

<著者名>

Yuko Okamura-Oho, Kazuro Shimokawa, Satoshi Oota, Atsushi Yoshiki, Masahiko Morita, Masaomi Nishimura, Sakiko Nakamura, Yuki Tsujimura, Shumpei Ishikawa, Hideo Yokota

<雑誌>

Scientific Reports

<DOI>

[10.1038/s41598-026-56101-8](https://doi.org/10.1038/s41598-026-56101-8)

補足説明

[1] TT法

正確な位置情報をもつ組織切片群について網羅的に遺伝子発現測定を行うプロセス (transcriptome analysis) を、複数検体を使って脳全体について多方向から繰り返し、結果をボリュームレンダリング手法 (連続した断層画像から立体的な3次元像を再構築する手法) を用いて3次元に再構成する (tomography) 方法。TTは transcriptome tomography の略。

[2] ハンチントン病 (HD)

HTT遺伝子の変異を原因とする進行性の遺伝性神経変性疾患。不随意運動、認知機能低下、精神症状を特徴とし、病状の進行に伴い日常生活機能が低下する。患者数が少ない希少疾患・指定難病の一つであり、根本的治療法が未確立の疾患。

[3] トポロジカルモデル

多数の要素間のつながりや配置関係をネットワークとして表現し、その全体構造や相互作用を解析するための数理モデル。個々の要素の性質だけでなく、要素同士の結び付きやネットワークの構造変化から、複雑な生命現象や疾患の仕組みを理解するために用いられる解析手法。

[4] 脳線条体中型有棘（ゆうきょく）神経細胞（MSN）

大脳の深部にある線条体の主要な神経細胞で、樹状突起に多数のとげ（スパイン）を持ち、大脳皮質からの情報を受け取って運動や認知、情動の制御に重要な役割を果たす。ハンチントン病ではこの細胞が選択的に変性・脱落することが病態の中核と考えられている。

[5] ネットワーク手法

遺伝子、タンパク質、細胞など多数の要素を「点」、それらの関係性を「線」として表現し、全体のつながりや構造を解析する手法。個々の分子だけでは見えない生命現象や疾患の全体像を捉え、病気の仕組みや重要な分子群を明らかにすることができる。

[6] 神経栄養因子 BDNF

神経細胞の成長や生存を支え、神経細胞同士のつながり（シナプス）の形成や維持を促すタンパク質。学習や記憶などの脳機能にも重要な役割を果たす。BDNF の働きの低下は、ハンチントン病をはじめとする神経変性疾患やうつ病などとの関連が報告されている。

[7] フローサイトメトリー

細胞を液体中で 1 個ずつ高速に流し、レーザー光を照射して細胞の大きさや内部構造、特定のタンパク質の量などを測定する解析手法。数万から数百万個の細胞を短時間で 1 細胞レベルに解析でき、細胞集団の多様性や希少な細胞集団の特徴を明らかにするために広く用いられる手法。

[8] ピアソン相関係数

二つの変数（ここでは遺伝子）の変動パターンがどの程度似ているかを数値化する統計指標。値は-1 から+1 の範囲を取り、+1 に近いほど同じように変動し、-1 に近いほど逆方向に変動することを示す。分子間の関連性を評価し、共発現ネットワークを構築するために広く用いられる。

[9] バイオインフォマティクス手法

ゲノムや遺伝子、タンパク質などの膨大な生命科学データを、統計学、情報科学を用いてコンピュータで解析する研究手法。

[10] GABA 作動性シナプス

神経伝達物質 GABA（ γ -アミノ酪酸）を介して神経細胞間の情報伝達を抑制的に制御するシナプス。脳の興奮と抑制のバランスを維持し、運動や認知機能の調節に重要な役割を果たす。ハンチントン病では、MSN を中心とした GABA 作動性神経回路の障害が病態形成に深く関与する。

[11] ISH 法（*in situ* ハイブリダイゼーション法）

組織や細胞内に存在する（*in situ*）特定の RNA や DNA を、相補的な塩基配列を持つ標識プローブを用いて検出し、その存在量や分布を可視化する解析手法。遺伝子が「どの細胞で」発現しているかを調べるために広く用いられる分子生物学的手法。ISH は *In Situ Hybridization* の略。

[12] アポトーシス

細胞が自身の遺伝子プログラムに基づいて能動的に死滅する仕組みであるプログラム細胞死。生体の恒常性維持に不可欠な機構である一方、神経細胞で過剰に誘導されると細胞の脱落や組織障害を引き起こす。

[13] トモグラフィー手法

多方向から取得した画像や測定データを基に、組織や細胞の内部構造を3次元的に再構築して解析する手法。

共同研究グループ

理化学研究所

光量子工学研究センター 画像情報処理研究チーム

客員研究員 於保祐子 (オホ・ユウコ)
(実践女子大学 食科学部 管理栄養学科 教授、同大学 食科学部長)

特別嘱託研究員 太田聡史 (オオタ・サトシ)

研究員(研究当時) 森田正彦 (モリタ・マサヒコ)

テクニカルスタッフⅠ 西村将臣 (ニシムラ・マサオミ)

テクニカルスタッフⅠ 中村佐紀子 (ナカムラ・サキコ)

テクニカルスタッフⅠ 辻村有紀 (ツジムラ・ユキ)

チームディレクター 横田秀夫 (ヨコタ・ヒデオ)

(情報統合本部 生命科学データ共有開発ユニット 上級研究員、生命医科学研究センター 予測医学特別プロジェクト プロジェクトディレクター代理)

バイオリソース研究センター 実験動物開発室

室長 吉木 淳 (ヨシキ アツシ)

(バイオリソース研究センター 副センター長)

東京大学 医学部・大学院医学系研究科 衛生学教室

客員研究員 下川和郎 (シモカワ・カズロウ)

教授 石川俊平 (イシカワ・シュンペイ)

研究支援

本研究は、日本学術振興会(JSPS)科学研究費助成事業基盤研究(B)「高次運動機能障害の分子病理理解に資するマウス・デジタル脳遺伝子発現解析(研究代表者:於保祐子、JP26280110)」による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所 光量子工学研究センター 画像情報処理研究チーム

チームディレクター 横田秀夫 (ヨコタ・ヒデオ)

(情報統合本部 生命科学データ共有開発ユニット 上級研究員、生命医科学研究センター 予測医学特別プロジェクト プロジェクトディレクター代理)

客員研究員 於保祐子 (オホ・ユウコ)

(実践女子大学 食科学部 管理栄養学科 教授)

<発表者のコメント>

ハンチントン病の遺伝子共発現ネットワークは、不条理な病の進行に抗って生きようとする生命の華（les Fleurs de la Maladie）のような美しさでした。病苦を軽減する治療法開発につながることを祈ってトップ画像としました。（於保祐子）



横田秀夫



於保祐子

<機関窓口>

理化学研究所 広報部 報道担当

Tel: 050-3495-0247

Email: ex-press@ml.riken.jp

実践女子大学 経営企画部 広報課

Tel: 03-6450-6837

Email: koho-ml@jissen.ac.jp