



ムーンショット目標 9

2050年までに、こころの安らぎや活力を増大することで、
精神的に豊かで躍動的な社会を実現

実施状況報告書

2023 年度版

子どもの虐待・自殺ゼロ化社会

菱本 明豊

神戸大学 大学院医学研究科精神医学分野



1. 当該年度における研究開発プロジェクトの実施概要

(1) 研究開発プロジェクトの実施状況

研究開発項目 1: 子どもの被虐待/自殺傾性の末梢試料エピゲノム・シングルセル遺伝子発現データの構築・解析

概要: 11～17 歳の被虐待歴のある子ども(自殺念慮/行動歴なし 35 名・自殺念慮/行動歴あり 35 名)および年齢・性別をマッチさせた対照群(被虐待歴・自殺念慮/行動歴ともなし)の子ども 35 名について、血液(うち各群 25 例ずつ唾液も)より DNA を抽出し網羅的 DNA メチル化データを取得し、若年自殺者末梢試料において PM らが発見した「エピゲノム年齢異常老齢化・テロメア異常短縮・NK 細胞異常増加・特定の遺伝子領域のメチル化異常」といった所見が、①健常な子どもに比して被虐待歴のある子どもで、②さらに被虐待歴のある子どもの中でも、自殺念慮/行動歴を有する群で、それぞれ有意に生じているかを検討する。自殺行動歴については、自殺念慮を有した上で自傷行動に至ったものを対象とする。さらに被虐待歴のある子どもの中でも特に強い自殺念慮/行動歴を有する子どもの一部の血液検体(及び年齢・性別をマッチさせた一部の対照群)については同時にシングルセル RNA シークエンスを行い、細胞種ごとの遺伝子発現や、シングルセルレベル解像度での細胞構成比率まで測定し、被虐待歴のある子どもの中で特に強い自殺念慮/行動歴を有する群で、有意な変化が生じているかを検討する。

目標: 研究開発課題 1-1「子どもの虐待・自殺リスクの早期把握を可能にする初のバイオマーカー確立」のために、①健常な子どもに比して被虐待歴のある子どもで、②さらに被虐待歴のある子どもの中でも、自殺念慮/行動歴を有する群で、「エピゲノム年齢異常老齢化・テロメア異常短縮・NK 細胞異常増加・特定の遺伝子領域のメチル化異常」がそれぞれ統計学的有意に生じ、それらのデータを用いて機械学習により確立したパラメータにより、高精度の被虐待歴・自殺行動歴の予測が可能であることを同定する。

加えて、血液検体の一部について同時にシングルセル RNA シークエンスを行い、被虐待歴のある子どもの中でも特に強い自殺念慮/行動歴を有する群で、細胞種ごとの遺伝子発現や、シングルセルレベル解像度での細胞構成比率異常が有意に生じていることを見出し、エピゲノム解析で見出した NK 細胞異常増加や特定の遺伝子領域のメチル化異常のデータと統合的に解釈することで、研究開発課題 1-2「被虐待～自殺傾性のエピゲノム異常・シングルセル遺伝子発現異常の同定」を目指す。

研究開発項目 2: 若年成人の被虐待/自殺傾性の脳内 AMPA-PET・末梢血エピゲノムデータの構築・解析

概要: ヒト生体脳内 AMPA 受容体可視化陽電子断層撮影(Positron Emission Tomography: PET)用トレーサー技術を用いて、幼少期に虐待歴のある 20 歳～29 歳の対象者(自殺行動歴なし 10 名・自殺行動歴あり 10 名)に対し AMPA-PET(及び T1・安静時 fMRI)撮像を施行し、脳内 AMPA 受容体密度を測定する。自殺行動歴については、自殺念慮を有した上で自傷行動に至ったものを対象とする。これを同年齢の健常者 30 名の AMPA-PET(及び T1・安静時 fMRI)データ(構築済)と比較することにより、被虐待歴と自殺行動歴(及び、抑うつ・自殺傾性に関わる各種心理検査スコア)に関連して AMPA 受容体量が変化する脳領域を特定する。これにより、過去の虐待歴がもたらす自殺に

至る情動不安定性の脳基盤を明らかにする。上記対象者について、Infinium MethylationEPIC array を用いた網羅的 DNA メチル化データを取得し、各 CpG サイトのメチル化頻度・エピゲノム年齢・テロメア長・各細胞構成比率と、AMPA 受容体密度の相関を解析し、後天的なストレス負荷蓄積の反映であるエピゲノムデータと脳内 AMPA 受容体異常の関連についても検討する。

目標:研究開発課題 2-1「被虐待～自殺傾性の AMPA 受容体異常の同定」のため、現在の科学技術において AMPA 受容体が被虐待・自殺傾性に関連する分子基盤に関連していることを臨床的に検討できる唯一の方法である AMPA-PET 技術を用いて、被虐待・自殺行動歴の有無と脳内各領域 AMPA 受容体密度の有意な相関の同定を目指す。加えて被験者の各領域 AMPA 受容体量と、同一被験者血液の網羅的 DNA メチル化データの相関解析を実施し、研究開発課題 2-2「AMPA-PET データと網羅的 DNA メチル化データの相関の同定」を目指す。

(2) 研究開発プロジェクトの実施状況

約 80 名の 11～17 歳の被虐待歴のある子どもおよび対照群の子どもの生体試料(主に血液)より抽出した DNA について、Infinium MethylationEPIC array を用いて網羅的 DNA メチル化データを取得。同データの間解解析では、健常対照群に比して、被虐待歴ありの子どものエピゲノム年齢が顕著に老齢化していた。さらに被虐待歴ありの子どもの中でも、自殺念慮・行動のある子どもほど、エピゲノム年齢の老齢化は著しかった ($p < 0.0001$)。LASSO 回帰を用いて数千の CpG 部位の DNA メチル化率(%)を厳選し、被虐待や自殺リスクという表現型を予測する方法により、現時点のサンプルサイズで、被虐待・自殺リスクを AUC=0.75～0.9 程度で予測するモデルを開発できる可能性を見出している。また自殺傾性の強い子ども 3 名・健常対照者 3 名について、シングルセル RNA シークエンスを実施中である。2023 年度は費用削減とバッチ効果軽減を狙ったマルチプレックス法によるシングルセル RNA シークエンスの実験系の確立が達成されたため、研究期間全体(～2024 年度)の達成目標に向けて順調に準備が整ったといえる。横浜市立大学医学部附属病院のほうで、現時点で 5 例の対象者の AMPA-PET データ及び網羅的 DNA メチル化データを取得中である。R6 年度に向けても順調に体制構築・対象者リクルートが進んでいる。

(3) プロジェクトマネジメントの実施状況

プロジェクト全体及び個別課題の進捗の把握・活性化のため、PM 及び各課題推進者は、オンライン及び互いのラボを頻繁にサイトビジットし、密な連携を深めている。神戸大学医学部附属病院初の児童思春期・AYA 世代こころの総合医療センター外来を令和 5 年度より開設、兵庫県の各医療機関や一般市民に広く周知を徹底し、同専門外来受診者数のペースは順調に増加している。これにより、本プロジェクトの試料取得のペースの加速にもつながっている。令和 6 年 3 月には、第一線の科学誌である Nature にて、本プロジェクトの内容を紹介した(<https://www.nature.com/articles/d42473-023-00397-x>)。

2. 当該年度の研究開発プロジェクトの実施内容

(1) 研究開発項目1:子どもの被虐待/自殺傾性の末梢試料エピゲノム・シングルセル遺伝子発現データの構築・解析

研究開発課題 1-1:子どもの虐待・自殺リスクの早期把握を可能にする初のバイオマーカー確立

当該年度実施内容:約 80 名の 11~17 歳の被虐待歴のある子どもおよび対照群の子どもの生体試料(主に血液)より抽出した DNA について、Infinium MethylationEPIC array を用いて網羅的 DNA メチル化データを取得した。神戸大学医学部附属病院 児童思春期 AYA 世代こころの総合診療センター(課題推進者の大塚は副センター長)の受診・相談件数も増加しており、R6 年度に向けてさらなるサンプリングを進める体制も構築できた。約 80 例の網羅的 DNA メチル化データを用いた中間解析では、健常対照群に比して、被虐待歴ありの子どものエピゲノム年齢が顕著に老齢化し、さらに被虐待歴ありの子どもの中でも、自殺念慮・行動のある子どもほど、エピゲノム年齢の老齢化が著しかった($p < 0.0001$)。LASSO 回帰を用いて数千の CpG 部位の DNA メチル化率(%)を厳選し、被虐待や自殺リスクという表現型を予測する方法により、現時点のサンプルサイズで、被虐待・自殺リスクを AUC=0.75~0.9 程度で予測するモデルを開発できる可能性を見出している。

課題推進者:大塚郁夫(神戸大学)

研究開発課題 1-2:被虐待~自殺傾性のエピゲノム異常・シングルセル遺伝子発現異常の同定

当該年度実施内容:約 80 名の 11~17 歳の被虐待歴のある子どもおよび対照群の子どもの生体試料(主に血液)より抽出した DNA について、Infinium MethylationEPIC array を用いて網羅的 DNA メチル化データを取得。同データの間解分析では、健常対照群に比して、被虐待歴ありの子どものエピゲノム年齢が顕著に老齢化していた。さらに被虐待歴ありの子どもの中でも、自殺念慮・行動のある子どもほど、エピゲノム年齢の老齢化は著しかった($p < 0.0001$)。また自殺傾性の強い子ども 3 名・健常対照者 3 名について、シングルセル RNA シークエンスを実施中である。2023 年度は費用削減とバッチ効果軽減を狙ったマルチプレックス法によるシングルセル RNA シークエンスの実験系の確立に注力した。そのため当初の 2023 年度マイルストーンの目標対象者数には達しなかったが、白血球の細胞分画に加え、NK 細胞内のサブタイプの分離に成功し、サブタイプ構成比の個体差も検出できている。このように 2023 年 3 月に実験系確立が達成されたため、研究期間全体(~2024 年度)のマイルストーンに向けて順調に準備が整ったといえる。

課題推進者:古屋敷智之(神戸大学)

(2) 研究開発項目2:若年成人の被虐待/自殺傾性の脳内 AMPA-PET・末梢血エピゲノムデータの構築・解析

研究開発課題 2-1:被虐待～自殺傾性の AMPA 受容体異常の同定

当該年度実施内容:横浜市立大学医学部附属病院 人を対象とする生命科学・医学系研究倫理委員会にて本研究計画書が承認され、現時点で 5 例の対象者の AMPA-PET データ及び関連データを取得中である。R6 年度マイルストーンに向けても順調に体制構築・対象者リクルートが進んでいる

課題推進者:宮崎智之(横浜市立大学)

研究開発課題 2-2:AMPA-PET データと網羅的 DNA メチル化データの相関の同定

当該年度実施内容:横浜市立大学医学部附属病院のほうで課題 2-1 の体制構築が順調に進んだことと並行し、現時点で対象者 5 例について同時に末梢血由来の網羅的 DNA メチル化データを取得中である。R6 年度マイルストーンに向けても順調に対象者リクルートが進んでいる。

課題推進者:大塚郁夫(神戸大学)

3. 当該年度のプロジェクトマネジメント実施内容

(1) 研究開発プロジェクトのガバナンス

進捗状況の把握

- ・ 医学部研究支援課担当者1名および学術研究推進機構学術研究推進室生命・医学系 URA2名から成る代表機関 PM 支援体制チームを構築し、支援に当たっている。
- ・ PM、課題推進者で構成される運営会議を設置し、2か月に1回の頻度にて開催する。当該会議においては、本プロジェクト全体の進捗状況の確認、推進上の課題その他プロジェクト全体に関わる重要事項に関して連絡、議論し方針を決定することとしている。
- ・ 運営会議には、必要に応じて PM 支援体制チームメンバーが陪席することとしている。
- ・ 運営会議とは別途、個別課題の研究進捗について報告、確認し議論する場として、PM および各課題推進者から成る課題推進者会議(会期は2週間に1回を目途)をオンライン開催している。
- ・ 必要に応じ、PM は学外、学内の課題推進者ラボをサイトビジットし、実地で研究進捗を把握している。

研究開発プロジェクトの展開

- ・ 本プロジェクトの確実な目標達成のため、PM は運営会議、課題推進者会議およびサイトビジットを通じて研究推進のための適切な助言を行うと共に、必要に応じて適時にプロジェクト全体の方向性を見直しを行うこととしている。
- ・ また、PM は必要に応じて、個々の研究開発課題の修正、追加を行う。
- ・ その他、外的要因や科学技術の進歩を踏まえ、時期を逸さずPMはプロジェクトの方向性を修正する予定である。
- ・ 神戸大学医学部附属病院初の児童思春期・AYA 世代こころの総合医療センター外来を令和 5 年度より開設、兵庫県の各医療機関や一般市民に広く周知を徹底し、同専門外来受診者数のペースは順調に増加している。これにより、本プロジェクトの試料取得のペ

ースの加速にもつながっている。

(2) 研究成果の展開

- ・産官学連携本部および(株)神戸大学イノベーションとの連携をとりながら、予想されるビジネスモデルも踏まえた知財戦略を立案する方針である。
- ・プロジェクトに関連する技術動向調査、市場調査については、産官学連携本部および(株)神戸大学イノベーションに依頼実施する方針である。
- ・被虐待に苦しむ若者、またその中でも自殺傾性の高まっている若者について、末梢試料のエピゲノム年齢老化や免疫細胞数異常を早期に把握し、さらには機械学習的手法にて厳選した数千箇所 DNA メチル化状態から客観的に予測するリスクスコアモデルを開発することにより、介入を必要とする者に適切な介入が行われる社会を目指している。神戸大学産官学連携本部と連携をとり、エピゲノムデータを用いた新たな心のストレス指標の開発をテーマに、既に企業との共同研究講座立ち上げの準備を始めている。

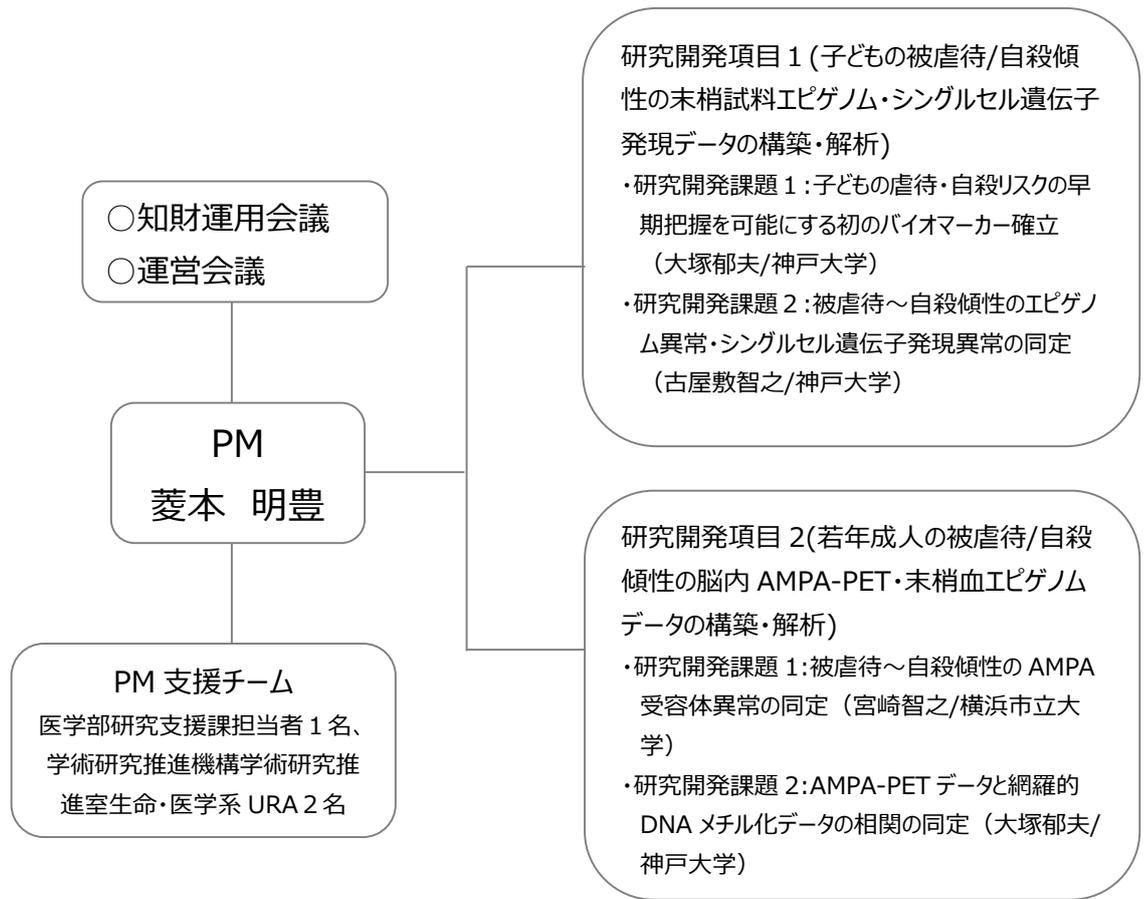
(3) 広報、アウトリーチ

- ・ホームページ、SNS 等を通じて積極的な広報、アウトリーチ活動を行う。また、同じ MS9 の他の PM とも連携をとりながら幅広い発信を模索した。
- ・神戸大学大学院医学研究科精神医学分野のホームページにて、当該プログラムの概要や、一般公開講座の宣伝を行っている。令和 6 年 3 月には、第一線の科学誌である Nature にて、本プロジェクトの内容を紹介した (<https://www.nature.com/articles/d42473-023-00397-x>)。また令和 6 年 4 月上旬に、本プロジェクト内容をテーマに神戸大学附属病院にて開催する市民講座の準備を行った。

(4) データマネジメントに関する取り組み

本研究開発にて実施するヒト臨床検体・画像データ・臨床情報の取得や使用に際しては神戸大学大学院医学研究科遺伝子解析研究倫理委員会/神戸大学大学院医学研究科医学倫理委員会/横浜市立大学附属病院認定倫理委員会の承認を受け、その規約を順守し、実施した。また、上記取得に際しては倫理委員会で承認された説明文書及び同意文書を使用し説明の上、本人・家族の自由意思での同意取得と自筆での署名を取得した。研究協力への同意後も任意の時期に撤回できることも文書と口頭で説明し、遵守した。提供を受けた試料については、特定の個人を識別しうる記述等を削除し、匿名化を行い、研究対象者識別番号を用いて管理した。研究対象者識別番号等は決して外部に漏れることのないよう厳重に保管・管理した。試料を用いて得られた研究成果についても個人情報を公開していない。よって、本研究計画を遂行するにあたって、人権の保護及び法令等の遵守への対応は問題ない。

4. 当該年度の研究開発プロジェクト推進体制図



知財運用会議 構成機関と実施内容

- ・ 産官学連携本部および（株）神戸大学イノベーションとの連携をとりながら、予想されるビジネスモデルも踏まえた知財戦略を立案する。
- ・ プロジェクトに関連する技術動向調査、市場調査については、産官学連携本部および（株）神戸大学イノベーションに依頼実施する。

運営会議等の実施内容

- ・ PM、課題推進者で構成される運営会議を設置し、2 か月に 1 回の頻度にて開催する。当該会議においては、本プロジェクト全体の進捗状況の確認、推進上の課題その他プロジェクト全体に関わる重要事項に関して連絡、議論し方針を決定する。
- ・ 運営会議には、必要に応じて PM 支援体制チームメンバーが陪席する。
- ・ 運営会議とは別途、個別課題の研究進捗について報告、確認し議論する場として、PM および各課題推進者から成る課題推進者会議（会期は 2 週間に 1 回を目標）をオンライン開催する。
- ・ 必要に応じ、PM は学外、学内の課題推進者ラボをサイトビジットし、実地で研究進捗を把握する。

5. 当該年度の成果データ集計

知的財産権件数				
	特許		その他産業財産権	
	国内	国際(PCT含む)	国内	国際
未登録件数	0	0	0	0
登録件数	0	0	0	0
合計(出願件数)	0	0	0	0

会議発表数			
	国内	国際	総数
招待講演	2	0	2
口頭発表	0	0	0
ポスター発表	0	0	0
合計	2	0	2

原著論文数(※proceedingsを含む)			
	国内	国際	総数
件数	0	0	0
(うち、査読有)	0	0	0

その他著作物数(総説、書籍など)			
	国内	国際	総数
総説	0	0	0
書籍	0	0	0
その他	0	0	0
合計	0	0	0

受賞件数		
国内	国際	総数
0	0	0

プレスリリース件数
0

報道件数
1

ワークショップ等、アウトリーチ件数
0