

研究テーマ

染色体工学的手法を用いて作成した自閉症モデルマウスの病態解析

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

精神機能というこれまで生物学的解析から一番遠かったこの研究領域の最大の問題点は、的確な定量的アッセイ系が欠如している事である。従って、単一の候補遺伝子のノックアウトマウス等遺伝子改変動物による解析では、それらが真にヒト精神疾患のモデルマウスであるという証明ができない状況である。一方、ある現象を分子に置き換える際に、もっとも威力を発揮するのは前向き遺伝学であるが、認知・精神機能の前向き遺伝学といえば、ヒト精神疾患の遺伝学になる。しかし、これにも大きな問題点がある。すなわち、精神疾患の診断は DSM-IV による診断基準があるものの、血液検査や画像診断のようないわゆる機械化できる客観的診断方法が存在しない。

これらの状況下において、現在とりうる戦略の一つとして、我々はヒト生物学的異常に立脚した戦略を考案した。すなわち、ゲノム工学的手法を用いた染色体変異マウスによるヒト精神行動異常疾患モデルマウスを作製し、研究の出発点とするものである。具体的には、認知障害、精神行動異常の中でも、ポピュラー（社会的影響も大きい）で、かつ遺伝学的素因が高いと考えられている自閉症に注目した。自閉症は、既知の遺伝病（Rett 症候群、脆弱 X 症候群、結節性硬化症）の症状として現れる場合と、一般の自閉症にわけることができる。一般の自閉症の遺伝的異常として、連鎖解析や候補遺伝子、さらには染色体異常が報告されており、最近の BAC マイクロアレイを用いた研究においても自閉症における染色体異常の強い関与が示唆されている。これまでの自閉症の細胞遺伝的異常の報告の中で、ヒト染色体 15q11-13 領域の重複症例はもっとも頻度が高く、全自閉症患者の数パーセントを占めている。本モデルマウスは、このヒト染色体 15q11-13 重複をマウス相当染色体領域に人工的に構築したものである。

ヒト染色体 15q11-13 重複はゲノム刷込み領域としても知られている領域である。また、本領域はマウス染色体 7 番によく保存されている。このことを利用して、標的領域の両端それぞれに対する loxP 配列を含む 2 つのターゲティングベクターを用意し、マウス ES 細胞において、2 度の相同組替を行うことにより、シス及びトランスに loxP が位置するダブルターゲティング ES 細胞を得た。この ES 細胞に Cre レコンビナーゼを作用させることにより、loxP がトランスに位置するものから、相当領域が重複する ES 細胞を得た。これをマウス胚盤胞に注入することにより、重複マウスを得た。

本 patDp/+ マウス（重複が父親アレルから由来するもの）の行動解析において、社会的相互作用の異常、超音波啼鳴数の発達異常、固執的常同様運動、不安等、自閉症様行動がみられた。本 patDp/+ マウスは、自閉症様行動を示すといった表現型妥当性を示すのみならず、自閉症の原因となる染色体異常をヒトと同じ型で有する構成的妥当性をもみたま自閉症ヒト型モデルマウスといえる。

2. 方法

patDp/+ マウスにみられる社会性行動異常の原因を明らかにするために、父性発現遺伝子群の一つである non-coding RNA に注目した。本領域に含まれる non-coding RNA のうち snoRNA である

MBII52のヒトオルソログHBII52はセロトニン2c受容体(5HT2cR)の転写後修飾に関与することが報告された。patDp/+マウス脳におけるMBII52のRNA量をノザンプロット法により測定する。また、5HT2cRのRNA editingをpyrosequencing法で検討する。さらに、初代培養神経を用いてセロトニン系薬剤を投与した際の細胞内Ca濃度をFura-2で測定した。

3. 結果 研究成果

patDp/+において、MBII52 RNAの発現量は、増大しており、また、editing部位として知られている第2細胞内領域の5ヶ所のうち、A, B, Eの3ヶ所について、野生型やmatDp/+に比べて有意にediting率が増大していた。これらの部位のeditingによるアミノ酸置換はGタンパク質とのカップリング効率を変動させる可能性があるため、さらに、初代培養神経細胞を用いて、Fura-2による細胞内Ca濃度([Ca²⁺]_i)の変動を調べたところ、patDp/+において5-HT2cR特異的アゴニスト(WAY161503)による[Ca²⁺]_iの上昇がみられ、patDp/+ニューロンにおけるセロトニンシグナルの異常が確認された。また、matDp/+では、野生型との統計的な差が見られなかった。

さらに、脳内各部位のセロトニン量をHPLCで測定したところ、patDp/+マウスの小脳においてセロトニン量が減少していた。

4. 考察 まとめ

自閉症の症状とセロトニンの関係は従来から示唆されている。patDp/+マウス脳では、セロトニン量及びセロトニンシグナルの異常がみられたことから、セロトニン量及びセロトニンシグナルの異常がpatDp/+マウスの異常行動の原因の一つの可能性であることを示唆している。

一つの可能性として、セロトニン関連の薬剤は新規治療薬の標的として有効である。勿論、異常行動のすべてがセロトニンで説明されるかどうかは未だ不明であるが、電気生理学的解析を含めた今後の解析により、セロトニンと社会性行動の関係を、とりわけ発達段階を追って検討していく上で、本モデルマウスは有効であり、さらなる研究が期待される。

5. 発表論文、参考文献

Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F, Ise S, Ohta H, Inoue K, Tomonaga S, Watanabe Y, Chung YJ, Banerjee R, Iwamoto K, Kato T, Okazawa M, Yamauchi K, Tanda K, Takao K, Miyakawa T, Bradley A and Takumi T. Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell* 137:1235-1246, 2009. Cover Photo.

* 図表は可能な限りカラー印刷しますが、出来ない場合もございますので、ご了承下さい。