

自閉症ヒト型モデルマウスの異常シグナル伝達系の解析

広島大学大学院 歯薬学総合研究科
統合バイオ研究室
内匠 透

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

精神疾患の原因は多因子と考えられ、動物モデルとして単一遺伝子のノックアウトマウス解析からだけでは限界がある。我々は、染色体工学的手法を用いて、臨床例に基づくヒト染色体 15q11-13 重複モデルマウスを開発した。

染色体 15q11-13 重複は、自閉症の細胞遺伝的異常としてもっとも頻度が高いもので、本マウスは自閉症様行動を示した。本マウスは自閉症様表現型のみならずヒトと同じ生物学的 (染色体) 異常を有する構成的妥当性をも充たす自閉症ヒト型モデルマウスといえ、分子の研究から出てきたノックアウトマウスとは一線を画すユニークなモデルである。さらに、インプリンティングをうける重複領域内の snoRNA の解析から、重複マウスでのセロトニンシグナルの異常を見いだした。

本研究は、本マウスの異常シグナル伝達系を明らかにするために、生化学的な解析を中心にした分子病態解明を行い、未だ客観的診断法及び有効な治療法がない発達障害をはじめとする精神疾患の基盤的研究を目的とする。

我々は、Cre-loxP 系に基づくゲノム工学的手法を用いて、ヒト染色体異常型マウスを作製し、本マウスが自閉症様行動 (社会性相互作用の障害、超音波啼鳴の発達異常、固執的常同様行動、不安等) を示すことを明らかにした¹。本マウスは、ヒト症状に似た表現的妥当性だけでなく、ヒト生物学的 (染色体) 異常と同じ異常を有する構成的妥当性をも充たす自閉症ヒト型モデルマウスといえる。また、重複領域内の sno (small nucleolar) RNA の解析から、父親由来重複マウス (patDp/+) において、セロトニン受容体 2c (5-HT_{2c}R) を介するセロトニンシグナルの異常が確認され、本 patDp/+マウスにみられる異常行動の一つの原因と示唆された。また HPLC を用いた脳内モノアミンの解析により、発達期から成体に至るまでの期間、patDp/+マウスにおける脳内セロトニン濃度の低下が見られた²。

リン酸化シグナルは、脳発生・発達で必要な役割を担っており、自閉症患者、あるいは自閉症モデルマウスにおいて AKT, RAS などのリン酸化レベルに相違があると報告されている。しかし、これらのリン酸化シグナルと自閉症発症との関連は明らかにされていない。そこで patDp マウスを用いて、各脳領域における網羅的なリン酸化シグナルの解析を行い、自閉症に特異的なシグナルを明らかにすることを試みた。

2. 方法

1) リン酸化シグナルの網羅的解析

Path Scan ELISA (Cell Signaling Tech. Inc., #7239, #7274, #7276) を用いて、patDp マウスと WT マウスの脳組織のリン酸化シグナル分子の発現量を解析した。マウス脳組織を、大脳皮質、中脳、小脳、視床、視床下部、海馬、橋、嗅球の 8 領域に分け、抽出後は Path Scan ELISA のプロトコールに従った。

2) リン酸化シグナル活性化の解析

網羅的解析で、patDpマウスとWTマウスの発現量に相違がみられた分子を、ウェスタンブロット法で定量した。

3. 結果 研究成果

1) リン酸化シグナルの網羅的解析

patDp マウスでは①海馬における phospho-S6 ribosomal protein の減少、②嗅球における phospho-p42/44 MAPK の減少、また、③中脳における phospho-SAPK/JNK の上昇が認められた。

2) リン酸化シグナル活性化の解析

ウェスタンブロットによる確認実験では、S6 ribosomal protein と p42/44 MAPK は、リン酸化、非リン酸化の割合が patDp マウスと WT マウスで差が認められなかった。また、SAPK/JNK は視床下部で、patDp マウスのリン酸化割合が 1.21 倍上昇し、海馬で SAPK/JNK p45 のリン酸化割合が 1.38 倍上昇していた。このリン酸化上昇の結果は、matDp マウスでも pat ほどではないが、上昇傾向にあった。網羅的解析で、phospho-SAPK/JNK 量が上昇していた中脳は、リン酸化の割合では、WT マウスと差がみられなかった。

4. 考察 まとめ

patDp マウスの海馬・視床下部における SAPK/JNK の上昇は、matDp マウスでもその傾向が認められたことから、父性由来染色体発現遺伝子、かつ母性由来からも少量発現する遺伝子が可能性として考えられる。このことと海馬、視床下部での発現を考慮すると *Necdin* が SAPK/JNK シグナルを作動している標的遺伝子として挙げられる。今後、in vitro の系で *Necdin* がこれらのシグナルに関与するかを検討する必要があると考えられる。

5. 発表論文、参考文献

1. Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F, Ise S, Ohta H, Inouse K, Tomonaga S, Watanabe Y, Chung YJ, Banerjee R, Iwamoto K, Kato T, Okaawa 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.
2. Tamada K, Tomonaga S, Hatanaka F, Nakai N, Takao K, Miyakawa T, Nakatani J and Takumi Y: Decreased exploratory activity in a mouse model of 15q duplication syndrome; implications for disturbance of serotonin signaling. *PLoS ONE* 5: e15126, 2010.