

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	玉田 紘太
論文題目	染色体工学を用いて作製したヒト染色体 15q11-13 相同領域重複マウスの表現型解析		
(論文内容の要旨) 自閉症(Autism)は神経発達障害であり、その罹患率は近年 160 人に 1 人とも報告されている。自閉症の症状は社会的相互作用の欠如、意思伝達の障害、常同行動・固執性の顕在化という 3 つから定義されている。近年、自閉症は自閉症スペクトラム(Autism spectrum disorders; ASDs)という集団のうちの一つであるという見方が強まり、レット症候群(Rett syndrome)や脆弱 X 症候群(fragile X syndrome)もこの自閉症スペクトラムに分類されるようになってきた。これまでの報告により、いくつかの遺伝子改変マウスや薬剤投与によるモデルが自閉症モデルマウスとして報告されてきたが、その発症機序、分子メカニズムはほとんどわかっていない状態である。自閉症で見られる細胞遺伝学的な異常の一つに、ヒト染色体 15q11-13 領域の重複という異常がある。その割合は報告によるものの全自閉症の 1-4%と推定されている。また、本領域は刷り込み遺伝子(imprinting genes)が集積している領域でもあり、通常の両親由来の染色体から発現する遺伝子に加え、父性由来染色体からのみ発現する遺伝子、母性由来染色体からのみ発現する遺伝子が存在する。 本研究の前段階として、申請者が研究を行った研究室では、ヒト染色体 15q11-13 領域と機能的相同領域(orthologous region)であるマウス染色体 7C 領域を重複(Duplication)させたマウスの作製に成功していた。このマウスの行動解析の結果、父性由来染色体が重複した場合(patDp/+)において社会的行動異常、逆転学習への抵抗性を示すなど自閉症様の行動学的異常が認められた。しかし、行動学レベルの異常はマウスの系統特異的であることが多く、また、行動試験は再現性に問題が生じる事も多い。 本研究の目的は、1) 申請者が研究を行った研究室で以前に作成された 129S6 系統の自閉症モデルマウスを 129S6 系統から C57BL/6 系統へ戻し交配を行い、父性由来重複マウスの自閉症様行動学的異常が C57BL/6 系統でも再現できるかを調べることで、新たな自閉症モデルマウスとして適したものであるかを確認すること、2) 129S6 系統で見られなかった行動学的異常の有無を検証すること、3) 父性由来重複マウスにおける行動学的異常がどの分子、どの脳領域での異常を反映したものかを調べることの 3 つである。結果、3 チャンバー社会的相互作用試験、バーンズ迷路・モリス水迷路を用いた逆転学習試験により、父性由来重複マウスで社会的相互作用の低下、固執性の上昇が 129S6 の場合と同様にそれぞれの行動試験により認められた。また、オープンフィールド試験、ガラス玉覆い隠し行動試験(marble burying behavior test)、novelty suppressed feeding 試験の結果から、新奇環境下での活動量の顕著な低下とホームケージ中の自発的活動量の低下といった、129S6 系統では見られなかった異常を見出した。さらに、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた脳内モノアミン測定を行った結果、成体・発達段階を通して、脳内全体にわたるセロトニン(5-HT: 5-hydroxytryptamine)の減少が父性由来重複マウスでのみ認められた。本研究により明らかとなった父性由来重複マウスの行動学的異常および神経化学的異常はセロトニントランスポーター変異体マウスと類似している。このセロトニントランスポーター変異体マウスもまた自閉症様の行動学的異常を示すことから、父性由来重複マウスで認められた行動学的異常はセロトニンシグナルの破綻により誘導されるものであるという可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、自閉症のモデルマウスとして、申請者が属する研究室で樹立したヒト染色体 15q11-13 領域と機能的相同領域(orthologous region)であるマウス染色体 7C 領域を重複(Duplication)させたマウスを当初の 129S6 系統から C57BL/6 系統へ戻し交配を行い、純系である C57BL/6 のバックグラウンドでの解析により、以下の諸点を明らかにしたものである。

1) 社会的相互作用を調べる 3 チャンバー社会的相互作用試験で、正常マウスは別のマウスを入れたチャンバーにより長く留まるが、父方から重複遺伝子を持つ patDp/+マウスは、別のマウスを入れたチャンバーと空のチャンバーとに区別無く留まった。この表現型は、当初の 129S6 系統でも観察されている社会的行動異常を示す表現型であるが、C57BL/6 系統の patDp/+マウスにおいても同じ表現型が再現された。

2) 逆転学習能を調べるバーンズ迷路・モリス水迷路試験では、C57BL/6 系統の patDp/+マウスにおいても、129S6 系統の場合と同様、先に学習した場所への固執性の上昇が確認された。

3) 129S6 系統の patDp/+マウスでは観察されなかった表現型として、新奇環境下での活動量の顕著な低下とホームケージ中の自発的活動量の低下といった新たな表現型が、C57BL/6 系統の patDp/+マウスにおいて見いだされた。

4) 脳内のセロトニン(5-HT)、ドーパミン(DA)、ノルエピネフリンとそれぞれの代謝産物を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で定量した結果、成体 C57BL/6 系統 patDp/+マウスの中脳と嗅球で 5-HT とその代謝産物である 5-HIAA(5-hydroxyindole acetic acid)の減少をみとめた。また、生後 1-3 週の幼齢時には、脳全体での 5-HT 量の低下と橋における DA とその代謝産物である DOPAC(3,4-dihydroxyphenylacetic acid)、HVA(homovanillic acid)の顕著な増加を認めた。

本研究により、ヒト染色体 15q11-13 領域のうちでも父性由来でのみ発現が認められる遺伝子が重複することが自閉症の中でも社会的相互作用の低下と固執性という表現型に深く関わっていることが本モデルマウスでも示唆された。一方、この C57BL/6 系統の patDp/+マウスと非常に似通った表現型が、5-HT トランスポーターの変異マウスでも報告されていたが、このマウスの発達期と成体において脳内 5-HT 量の減少が認められることから、自閉症における脳内の 5-HT 量の異常の関与の可能性が改めて確認された。

以上、本論文は、新たな純系マウスでの自閉症モデルの樹立に成功し、その分子メカニズムの一端を解明したものであり、今後、自閉症発症の原因遺伝子の解明および自閉症発症における 5-HT に代表されるモノアミン系の異常の関与を解明するために極めて重要な知見と材料を提供したものであるとして、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成 22 年 12 月 6 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日