

令和 4 年 2 月 16 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10250

研究課題名(和文) 自閉症モデルマウスを用いた生物学的病因の究明

研究課題名(英文) The analysis of biological defects of Autism by using autism mouse model.

研究代表者

中谷 仁 (Jin, Nakatani)

立命館大学・生命科学部・講師

研究者番号：00342717

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：自閉症スペクトラム(ASD)は、社会性、コミュニケーションの問題や情動行動などで定義される広汎性発達障害の一つである。その病因は諸説あるが不明である。そこで本研究ではその生物学的病因の解明を目指し、ヒトASD患者で頻繁に見られる染色体異常と同じ異常を遺伝学的に持ったASDモデルマウスを開発し、その持つ生物学的異常を調べた。そうすると、このASDモデルマウスは循環器系に重大な異常を持ち、生後間もなくそれが原因で9割以上の子供が死ぬ事が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりASDモデルマウスは発生学的に重篤な致死性を示し、9割以上の子供が途中で死んだ。この様に高い致死性を示すASDモデル動物はあまり報告がなく、ASDの生物学的異常を考える上で貴重なモデルであると言えることが可能である。また少数の生き延びたモデルであっても、注意欠陥、多動性障害(ADHD)様の行動を示した。ASDモデルで多動を示す様なモデルはあまりなく、ヒトADHDの病態を考える上で重要である、と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Autism Spectrum Disorder (ASD) is a pervasive developmental disorder defined by social and communication problems and emotional behavior. The etiology of the disease is unknown, even though there are various theories. In order to elucidate the biological pathogenesis of ASD, we developed a mouse model of ASD with the same genetic abnormalities as those frequently seen in human ASD patients, and examined the biological abnormalities. It turns out that this ASD mouse model has a serious developmental problems that causes more than 90 percent of its offspring to die shortly after birth. The few individuals that survived were able to reach adulthood despite their low growth, but at the same time they showed ADHD-like behaviors.

研究分野：神経生物学

キーワード：自閉症 疾患モデルマウス

1. 研究開始当初の背景

(a) 自閉症スペクトラムとは

自閉症は、社会性、コミュニケーションの障害、そして繰り返し行動を主徴候とする広汎性発達障害の一つである。通常、生後3歳までに診断が付くが、薬剤などの有効な治療法は無く、生涯治癒される事は無い。病因については全く不明である。従って臨床診断も心理学的記述に頼っており、その基準は国家間や医師によって必ずしも一致しない。もし、自閉症の生物学的異常が明らかになれば、それに基づいた科学的診断が可能となり、複雑な自閉症スペクトラム内での的確な早期診断、適切な教育方法の選択、そして問題行動の軽減など、恩恵は非常に大きい。

(b) 従来の自閉症の生物学的研究

疾患の生物学的異常を明らかにする為に、モデル動物の作成は有効である。自閉症に関して、既に多くのモデル動物(ラット、マウス)の作成が試みられている。しかしそれらの殆どは催奇性薬剤の大量投与や、外科的な脳の部分破壊、シナプスに発現する遺伝子欠損など、自然には起り難く、自閉症モデルとしての根拠に乏しいモデルが大半である。その点、可能な限りヒト自閉症の病理に基づいたモデル動物の作成が望まれていた。

(c) 染色体重複自閉症モデルマウス(Dp)

一方、双生児研究により、一卵性双生児間での自閉症の一致率が極めて高い事が知られている(約70%)。これは自閉症の遺伝学的素因が強いという事を示す。実際、自閉症患者で多くの染色体異常が報告されており、中でも染色体第15番長腕の15q11-13領域に存在する6Mbpの重複は、最も出現頻度の高い染色体異常として知られている。我々は、この遺伝学的事実に着目し、自閉症の生物学的病因の探求を目的として、ヒト染色体15番重複領域(図左、HSA15)に対応する、マウス染色体7番(図1、MMU7)に人工的に重複を持った自閉症モデルマウスの作成(Dp)に成功した(Nakatani et.al., *Cell*, 2009)。これはヒト自閉症の病理に完全に基づいた唯一のモデル動物である。このマウスは社会性行動の低下、繰り返し行動、啼鳴反応の異常など、ヒト自閉症の定義に一致した行動異常があり、自閉症モデルマウスとしての妥当性を示した。

(d) Dp マウスの問題点と、新規に開発する自閉症モデルマウス(Dp/Dp)

Dp は、行動学的には自閉症モデルとしての必要条件を満たしたが、脳の構造異常など、目的としていた自閉症の明瞭な生物学的異常は見出せなかった。この失敗の理由の一つは、Dp はヘテロ接合体(3コピー:父性または母性アレルに2コピー)で、脳の微妙な行動変化を与えるには十分であったが、脳の構造異常など、明瞭な生物学的異常をもたらすには不十分であったからだと考えている。

そこで本研究では、ホモ接合体 Dp/Dp (4 コピー:父性、母性アレル両方 2 コピー)を新たに作成し、診断バイオマーカーとなり得る明瞭な生物学的異常を明らかにする。コピー数の増加で、脳の生物学的異常がより顕著になり、観察可能になるのではないかと期待出来る。この様に、 Dp/Dp は通常はヒトでは起こり得ない核型であり、ヒト自閉症を“越えた”モデル動物である。

2.研究の目的

ASD モデルマウス(Dp/Dp)の生物学的特徴を明らかにする

Dp/Dp の行動学実験を含めた様々な生物学的試験を行う事で、その生物学的な特徴を明らかにする。

3.研究の方法

(a) 形態学研究

Dp/Dp の明瞭な形態学的異常を Dp や WT(野生型)と比較検討する。ASD は成長の過程の発達障害であることに留意し、ここでは体重などを発生ステージに留意しながら調べる。3~10 週齢に於ける経時的な成長過程を調べた。

(b) 行動学研究

ヒト自閉症の定義は行動学的に記述される。そこで、自閉症に関連した社会性試験、活動量や不安度を計測するオープンフィールド試験、精神疾患で減弱が起こる事が知られているプレパルスインヒビション試験(PPI)などを Dp/Dp で行った。

4.研究成果

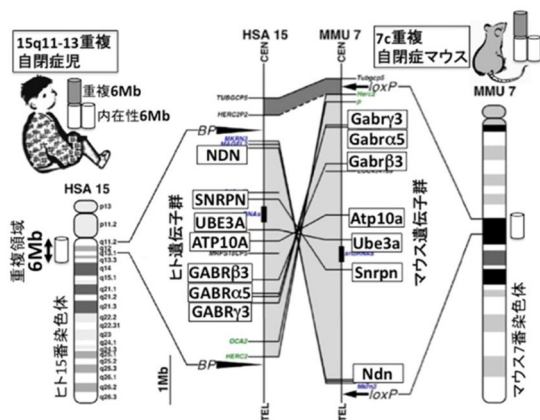
(a) 形態学研究

3 週齢で生存率を見たところ、メンデルの法則から期待出来る子供の数の 3%しか生存しておらず、残りの大半が 3 週齢に達する前に死んでいる事が明らかとなった。そこでどの発生段階で死んでいるのかを特定する為、様々な発生ステージに於いて発育状況を調べたところ、母親の子宮内にいる時は特に大きな異常は見出せなかったが、出生直後に循環器系の異常で死んでいる事が明らかとなった。大人まで生き残った 3%の個体に関して 3 週齢から 10 週齢まで体重の変化を調べると、WT と Dp は殆ど大きな違いは観察されなかったが、 Dp/Dp は顕著な体重減少が観察された(図 2)。しかしながらそれらの観察をさらに続け、1 歳以上では Dp 、 Dp/Dp は逆に肥満を示した。

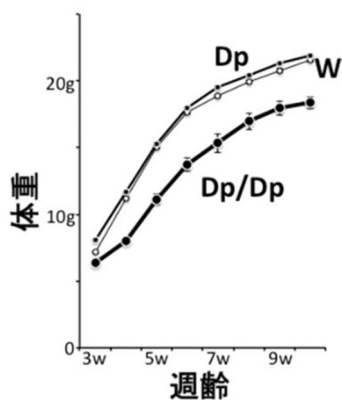
以上の事より Dp/Dp は極めて高い致死率を示した。しかしながら少数の個体は大人まで成長出来るが、若年時の低体重、老年期の肥満を示し、発生、発達に於いて重篤な問題を抱えている事が明らかとなった。

(b) 行動学研究

ヒト自閉症の定義は行動学的に記述される。そこで、自閉症に関連した社会性試験、活動量や不安度を計測するオープンフィールド試験、精神疾患で減弱が起こる事が知られているプレパルスインヒビション試験(PPI)などを Dp/Dp で行う。一般に統合失調症などの精神疾患に罹患している場合は PPI の低下が見られるが、実際に Dp/Dp では PPI 低下が見られた。また、このデータは完全にコピー数に逆相関しており、コピー数によってより重篤な精神疾患状態に至るという事が示唆された。



(図 1) ヒト染色体 15q11-13 とマウス染色体 7c の比較



(図 2) ASD モデルマウスの体重比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakai N, Nagano M, Saitow F, Watanabe Y, Kawamura Y, Kawamoto A, Tamada K, Mizuma H, Onoe H, Watanabe Y, Monai H, Hirase H, Nakatani J, Inagaki H, Kawada T, Miyazaki T, Watanabe M, Sato Y, Okabe S, Kitamura K, Kano M, Hashimoto K, Suzuki H, Takumi T	4. 巻 3
2. 論文標題 Serotonin rebalances cortical tuning and behavior linked to autism symptoms in 15q11-13 CNV mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Advance	6. 最初と最後の頁 e1603001-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.1603001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Belinson H, Nakatani J, Babineau BA, Birnbaum RY, Ellegood J, Bershteyn M, McEvelly RJ, Long JM, Willert K, Klein OD, Ahituv N, Lerch JP, Rosenfeld MG, Wynshaw-Boris A.	4. 巻 21
2. 論文標題 Prenatal -catenin/Brn2/Tbr2 transcriptional cascade regulates adult social and stereotypic behaviors.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Mol Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 1417-1433
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/mp.2015.207	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tanaka Hidekazu, Sawano Toshinori, Konishi Naoko, Harada Risako, Takeuchi Chiaki, Shin Yuki, Sugiura Hiroko, Nakatani Jin, Fujimoto Takahiro, Yamagata Kanato	4. 巻 721
2. 論文標題 Serotonin induces Arcadlin in hippocampal neurons	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 134783 ~ 134783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2020.134783	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ozawa Kei, Mori Daichi, Hatanaka Ayumu, Sawano Toshinori, Nakatani Jin, Ikeya Yukinobu, Nishizawa Mikio, Tanaka Hidekazu	4. 巻 142
2. 論文標題 Comparison of the anti-colitis activities of Qing Dai/Indigo Naturalis constituents in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 148 ~ 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.01.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中谷仁、豊田太、郷康広、堀家慎一、小山なつ、等誠司、内匠透、田中秀和
2. 発表標題 染色体15q11-13に部分重複を持った自閉症モデルマウスは重篤な発生異常を伴う
3. 学会等名 日本神経化学会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakatani Jin, Toyoda Futoshi, Go Yasuhiro, Horike Shin-ichi, Koyama Natsu, Hitoshi Seiji, Takumi Toru, Kato Tomoko, Tooyama Ikuo, Shiino Akihiko, Morikawa Shigehiro, Inubushi Toshiro, Tanaka Hidekazu
2. 発表標題 Model mice with chromosome 15q11-13 duplication show severe developmental abnormalities.
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中谷仁、豊田太、郷康広、堀家慎一、小山なつ、等誠司、内匠透、田中秀和
2. 発表標題 染色体15q11-13重複発達障害モデルマウスは心拍変動と若年期の低体重、高年期の肥満を示す
3. 学会等名 日本DOHaD研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jin Nakatani, Natsu Koyama, Seiji Hitoshi, Toru Takumi, Tomoko Kato, Ikuo Tooyama, Akihiko Shiino, Shigehiro Morikawa, Toshiro Inubushi
2. 発表標題 Model mice with 15q11-13 duplication show severe developmental abnormalities.
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中谷仁、小山なつ、等誠司、堀家慎一、内匠透、田中秀和
2. 発表標題 染色体15q11-13重複発達障害モデルマウスは若年期の低体重、高年期の肥満を示す
3. 学会等名 日本DOHaD学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakatani Jin, Koyama Natsu, Hitoshi Seiji, Takumi Toru, Kato Tomoko, Tooyama Ikuo, Shiino Akihiko, Morikawa Shigehiro, Inubushi Toshiro
2. 発表標題 Autism model mice that have 15q11-13 chromosomal duplication shows severe developmental abnormalities.
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Nakatani Jin, Toyoda Futoshi, Go Yasuhiro, Horike Shin-ichi, Koyama Natsu, Hitoshi Seiji, Takumi Toru, Kato Tomoko, Tooyama Ikuo, Shiino Akihiko, Morikawa Shigehiro, Inubushi Toshiro, Tanaka Hidekazu
2. 発表標題 Model mice with chromosome 15q11-13 duplication show severe electrophysiological abnormalities.
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakatani Jin, Toyoda Futoshi, Go Yasuhiro, Horike Shin-ichi, Koyama Natsu, Hitoshi Seiji, Takumi Toru, Kato Tomoko, Tooyama Ikuo, Shiino Akihiko, Morikawa Shigehiro, Inubushi Toshiro, Tanaka Hidekazu
2. 発表標題 Model mice with chromosome 15q11-13 duplication show severe electrophysiological abnormalities.
3. 学会等名 日本脳科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------