

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21650

研究課題名（和文）自閉症と聴覚障害の併発メカニズムの解明と治療への応用

研究課題名（英文）Elucidation of the combined mechanism of autism and hearing loss and its application to treatment

研究代表者

西山 正章（Nishiyama, Masaaki）

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：50423562

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：Chd8ヘテロ欠損マウスを用いて、聴性脳幹反応（ABR）やプレパルス抑制（PPI）等の聴覚検査を行ったところ、このマウスではPPIが増加しており、ABRにおいて潜時の延長を認めた。そこで、われわれは聴覚伝導路のオリゴデンドロサイトにおけるCHD8の機能に着目した。聴覚伝導路において、Chd8ヘテロ欠損マウスはミエリン形成の低下を示した。さらに、オリゴデンドロサイト特異的Chd8ヘテロ欠損マウスを作製し行動解析を行ったところ、全身Chd8ヘテロ欠損マウスで観察された行動異常の一部が再現されることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これらの結果から、CHD8変異 オリゴデンドロサイト機能異常 聴覚障害 コミュニケーション障害という因果関係が推測され、聴覚障害がコミュニケーション障害の原因であることが示唆された。すでにわれわれは、同責任病変に対して再ミエリン化促進剤や光遺伝学による治療の実験を進めており、自閉症の治療法への応用について検討している。これらの知見は当初の研究目的に達しており、順調に達成されつつあると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We performed auditory tests such as auditory brainstem response (ABR) and prepulse inhibition (PPI) using Chd8 heterozygous mice, and found that PPI was increased in these mice, and the latency was prolonged in ABR. Therefore, we focused on the function of CHD8 in oligodendrocytes of the auditory conduction path. In the auditory pathway, Chd8 heterozygous mice showed reduced myelination. Furthermore, we generated oligodendrocyte-specific Chd8 heterozygous mice and performed behavioral analysis, and found that some of the behavioral abnormalities observed in whole-body Chd8 heterozygous mice were reproduced.

研究分野：分子生物学

キーワード：自閉症 聴覚障害

1. 研究開始当初の背景

自閉症はコミュニケーション能力の質的障害および常同・反復的な興味・行動で特徴づけられる発達障害であり、全人口の約2%を占めると言われている。自閉症患者では、聴覚障害を含めた様々な感覚異常が認められるが、これらがコミュニケーション障害の原因か結果かは不明のままである。近年、自閉症患者で大規模なゲノム変異検索が行われた結果、クロマチンリモデリング因子 CHD8 が自閉症患者で最も変異率の高い遺伝子として報告された。

われわれは長年にわたって CHD8 の研究を行っており、これまでに CHD8 が発生期の器官形成に重要な役割を果たしていることを示してきた [Nishiyama et al., *Nature Cell Biol.* 11: 172-82 (2009)]。そこで CHD8 変異を再現したマウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症を特徴づける行動異常である社会的行動の異常や不安様行動の増加が観察された [Katayama et al., *Nature* 537: 675-9 (2016)]。その後の研究によって、このマウスは聴覚障害を来し、ミエリン形成の低下やランビエ構造の異常、神経伝導速度の低下等を示すことが判明した。

2. 研究の目的

自閉症はコミュニケーション能力の質的障害および常同・反復的な興味・行動で特徴づけられる非常に発症頻度の高い発達障害であり（全人口の約2%）、発症メカニズムの解明と治療法の開発が強く求められている。自閉症患者では、聴覚障害を含めた様々な感覚異常が認められるが、これらがコミュニケーション障害の原因か結果かについてはほとんどわかっていない。近年、クロマチンリモデリング因子 CHD8 が自閉症の最も有力な原因候補遺伝子として報告された。われわれは自閉症患者の CHD8 変異を再現したモデルマウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症様の行動異常を再現することに成功した [Katayama et al., *Nature* 537: 675-9 (2016)]。その後の研究によって、このマウスはミエリン形成の低下やランビエ構造の異常等を示し、聴覚障害をきたすことが判明した。そこで、本研究では種々の Chd8 変異マウスを用いて、自閉症における聴覚障害の原因となりうる責任病変を特定する。さらに、聴覚障害を治療することによってコミュニケーション障害が回復するかどうかを検証し、新しい疾患治療法の確立を目的とする。具体的には下記の項目を行う。

(1) 全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いた自閉症における聴覚障害の責任病変の特定

全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いて様々な時期に聴覚検査を行う。聴覚伝導路における免疫組織化学染色や電子顕微鏡解析等の病理学的解析を行い、聴覚障害の発症の原因となりうる責任病変を特定する。

(2) コンディショナルノックアウトマウスによる聴覚障害の発症メカニズムの解明

時期、脳領域または細胞種特異的に Chd8 を欠損するマウスを作製する。これらのうち、特にオリゴデンドロサイトにおける Chd8 のヘテロ欠損が聴覚障害の原因となりうるかどうかを検証する。

(3) CHD8 の発現誘導による自閉症治療への応用

発現誘導型 Chd8 トランスジェニックマウスを用いて、責任病変に CHD8 を発現誘導し、聴覚障害および自閉症様の行動異常が改善されるかどうかを検討する。さらに、再ミエリン化促進剤や光遺伝学による治療実験も行う。

3. 研究の方法

まず全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いて様々な時期に聴覚検査や病理学的解析を行い、自閉症における聴覚障害の発症に関与する責任病変を特定する。次にコンディショナルノックアウトマウスを用いて聴覚検査や病理学的解析を行い、聴覚障害の発症メカニズムを解明する。また全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスと発現誘導型トランスジェニックマウスを掛け合わせ、責任病

変において CHD8 を発現誘導することで、聴覚障害や自閉症様症状が改善するかどうかを検討する。さらに、再ミエリン化促進剤や光遺伝学による治療実験も行う。「成体期における聴覚障害の治療で自閉症が回復するかどうか」について結論を得ることが本研究のゴールである。

(1) 全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスにおける聴覚検査と病理学的解析

全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いて、聴性脳幹反応 (ABR) やプレパルス抑制 (PPI) 等の聴覚検査を行い、聴覚障害の原因となりうる責任病変を特定する。責任病変における免疫組織化学的染色や電子顕微鏡解析等の病理学的解析を行い、種々の神経細胞の細胞数や形態の変化について調べる。

(2) Chd8 コンディショナルノックアウトマウスを用いた解析

現在までに時空間特異的に Chd8 を欠損した変異マウス系統を多数構築している。これらのマウスの聴覚検査および行動解析を行うことで、自閉症における聴覚障害の責任病変を明らかにする。

(3) 発現誘導型 Chd8 トランスジェニックマウスを用いた自閉症の治療実験

全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスにおいて、上述した(1)(2)の解析によって明らかになった責任病変に CHD8 を発現誘導し、聴覚障害および自閉症様の行動異常が改善されるかどうかを検討する。さらに、同責任病変に対して再ミエリン化促進剤や光遺伝学による治療実験も行う。

4. 研究成果

近年、大規模な自閉症の原因遺伝子探索が行われ、クロマチンリモデリング因子 CHD8 が最も有力な原因遺伝子として同定された。われわれはヒト自閉症患者で報告された CHD8 変異を再現した Chd8 ヘテロ欠損マウスの行動解析を行ったところ、自閉症を特徴づける行動異常である社会的行動の異常や不安様行動の増加が観察された。しかしながら、自閉症の行動異常の原因となる責任細胞種は明らかになっていない。

Chd8 ヘテロ欠損マウスの遺伝子発現解析では、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現が最も顕著に低下していたことから、われわれはオリゴデンドロサイトにおける CHD8 の機能に着目した。そこで、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスを作製して行動解析を行ったところ、このマウスは自閉症様の行動異常を示すことが判明した [Kawamura et al., *Hum. Mol. Genet.* 29: 1274-91 (2020)]。その後の研究によって、このマウスはミエリン形成の低下やランビエ構造の異常等を示し、聴覚障害をきたすことが判明した。

Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いて、聴性脳幹反応 (ABR) やプレパルス抑制 (PPI) 等の聴覚検査を行ったところ、このマウスでは PPI が増加しており、ABR において潜時の延長を認めた。そこで、われわれは聴覚伝導路のオリゴデンドロサイトにおける CHD8 の機能に着目した。聴覚伝導路において、Chd8 ヘテロ欠損マウスはミエリン形成の低下を示した。さらに、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスを作製し行動解析を行ったところ、全身 Chd8 ヘテロ欠損マウスで観察された行動異常の一部が再現されることが判明した。次にわれわれは、Chd8 遺伝子の途中で Cre 依存的に離脱可能なストップ配列を挿入した Chd8 変異マウスを作製した。このマウスは通常はストップ配列があるために Chd8 がヘテロ欠損した状態になっており、Cre 依存的にストップ配列を除去することで CHD8 の発現が回復することを確認した。われわれはこのマウスを用いてオリゴデンドロサイト特異的に CHD8 の発現を回復させたマウスを作製して行動解析を行った。これらのマウスでは全身 Chd8 変異マウスで観察された行動異常の一部が改善されることが明らかになった。

これらの結果から、CHD8 変異→オリゴデンドロサイト機能異常→聴覚障害→コミュニケーション障害という因果関係が推測され、聴覚障害がコミュニケーション障害の原因であることが示唆された。すでにわれわれは、同責任病変に対して再ミエリン化促進剤や光遺伝学による治療の実験を進めており、自閉症の治療法への応用について検討している。これらの知見は当初の研究目的に適っており、順調に達成されつつあると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nita Akihiro, Muto Yoshiharu, Katayama Yuta, Matsumoto Akinobu, *Nishiyama Masaaki, *Nakayama Keiichi I. (*Corresponding authors)	4. 巻 34
2. 論文標題 The autism-related protein CHD8 contributes to the stemness and differentiation of mouse hematopoietic stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108688 ~ 108688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108688	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 Kawamura Atsuki, Katayama Yuta, Kakegawa Wataru, Ino Daisuke, Nishiyama Masaaki, Yuzaki Michisuke, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 35
2. 論文標題 The autism-associated protein CHD8 is required for cerebellar development and motor function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108932 ~ 108932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108932	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 Cherepanov Stanislav M., Gerasimenko Maria, Yuhi Teruko, Furuhashi Kazumi, Tsuji Chiharu, Yokoyama Shigeru, Nakayama Keiichi I., Nishiyama Masaaki, Higashida Haruhiro	4. 巻 22
2. 論文標題 Oxytocin ameliorates impaired social behavior in a Chd8 haploinsufficiency mouse model of autism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Neuroscience	6. 最初と最後の頁 32 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12868-021-00631-6	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 Kawamura Atsuki, Katayama Yuta, *Nishiyama Masaaki, Shoji Hirotaka, Tokuoka Kota, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko, Isa Tadashi, Miyakawa Tsuyoshi, Hayashi-Takagi Akiko, *Nakayama Keiichi I (*Corresponding authors)	4. 巻 29
2. 論文標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation gives rise to behavioral deficits in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1274 ~ 1291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddaa036	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 Kawamura Atsuki, Abe Yoshifumi, Seki Fumiko, Katayama Yuta, Nishiyama Masaaki, Takata Norio, Tanaka Kenji F., Okano Hideyuki, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 13
2. 論文標題 Chd8 mutation in oligodendrocytes alters microstructure and functional connectivity in the mouse brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 160 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00699-x	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 Yamauchi Yuhei, Nita Akihiro, Nishiyama Masaaki, Muto Yoshiharu, Shimizu Hideyuki, Nakatsumi Hirokazu, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 25
2. 論文標題 Skp2 contributes to cell cycle progression in trophoblast stem cells and to placental development	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 427 ~ 438
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.12769	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5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Masaaki Nishiyama
2. 発表標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation gives rise to behavioral deficits in mice
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西山 正章
2. 発表標題 自閉症の発症メカニズムの解明と創薬開発への応用：自閉症は大人になっても治せるか？
3. 学会等名 第18回日本予防医学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西山 正章
2. 発表標題 自閉症の発症メカニズムの解明と創薬開発への応用
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川村 敦生、片山 雄太、中山 敬一、西山 正章
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子Chd8の変異による自閉症発症に關与する神経細胞種の同定
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 塚本 康寛、川村 敦生、魏 威凜、Ayhan Yurtsever、白石 大智、中山 敬一、古寺 哲幸、福間 剛士、西山 正章
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子の動態觀察による自閉症の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

金沢大学医薬保健研究域医学系 組織細胞学
<http://ana1.w3.kanazawa-u.ac.jp/>

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
---------	---------