

機関番号： 82401

研究種目： 若手研究(B)

研究期間： 2009～2010

課題番号： 21791019

研究課題名(和文)

ダウン症候群精神遅滞の発症におけるOLIGの役割の検証

研究課題名(英文)

The role of Olig genes in mental retardation of Down syndrome

研究代表者

高木 栄一 (TAKAKI EIICHI)

独立行政法人理化学研究所・神経遺伝研究チーム・研究員

研究者番号： 50525590

研究成果の概要(和文)：ダウン症候群は、精神遅滞や特有な顔貌を主な特徴とする疾患で、ヒト 21 番染色体の全てまたは一部が 3 倍体となることで発症する。本研究課題では、オリゴデンドロサイト形成に関わる Olig 遺伝子に着目し、ダウン症候群モデルを用いトリソミー領域内の olig 遺伝子のみを 3 倍体から 2 倍体に戻すことにより、精神遅滞様症状が改善されるかどうかを検討した。その結果、Olig 遺伝子が精神発達遅滞の原因遺伝子の一つである可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Down's syndrome (DS), which is characterized by mental retardation and typical facies, is caused by whole or partial trisomy of HSA21. However, the pathological mechanism of DS is unclear. We focused Olig genes as candidates of the causal genes of DS. Our observation suggests that Olig genes are one of the causal genes of multiple phenotypes in DS, such as mental retardation and abnormal oligodendrogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：ダウン症候群、精神発達遅滞

1. 研究開始当初の背景

(1) ダウン症候群は、精神遅滞や特有な顔貌を主な特徴とする疾患で、ヒト 21 番染色体の全てまたは一部が 3 倍体となることで発症する。ダウン症候群は最も頻度の高い精神

遅滞の原因とされており、ほぼ全ての患者が精神遅滞を呈する。しかしながら、ダウン症候群精神遅滞の発症機序は殆ど分かっていない。

(2) ヒト 21 番染色体は、その大部分がマウス 16 番染色体上の一部領域と相同である。この相同

領域内の *sod1*(機能は失われている)から *znf295* までの約 97 個の遺伝子を含む領域がトリソミーである **Ts1Cje** マウスと *mrpl39* から *znf295* までの約 136 個の遺伝子を含む領域がトリソミーである **Ts65Dn** マウスは、ダウン症候群マウスモデルとして広く利用されている。**Ts1Cje** のトリソミー領域は、**Ts65Dn** のトリソミー領域の一部であるが、両マウスモデルは共にダウン症患者でも見られる学習機能障害や頭部骨格異常を示すことから、ダウン症精神遅滞の主要原因遺伝子は **Ts1Cje** トリソミー領域に存在する可能性が高いと考えられている。

(3) 本研究課題で注目した *olig* 遺伝子は、2 種類のコホモログ *olig1* 及び *olig2* が存在し、両遺伝子は **Ts1Cje** トリソミー領域上にタンデムにコードされている。中枢神経系では主にオリゴデンドロサイト及びその前駆細胞において発現している。哺乳類の胎生期では *olig* 遺伝子の機能は中枢神経系の発生初期段階においてオリゴデンドロサイト形成の調節に重要な役割をもつ。

2. 研究の目的

本研究課題の主たる目的は *olig* 遺伝子がダウン症候群の原因遺伝子となるかどうかを明らかにすることにある。そこで以下のことについて検討する。

(1) ダウン症候群マウスモデルである **Ts1Cje** マウス及び **Ts65Dn** と同じトリソミー領域をもつ **Ts2Cje** マウスを用い、トリソミー領域内の *olig* 遺伝子のみを 3 倍体から 2 倍体に戻すことにより、ダウン症候群の主要な症状である精神発達遅滞様症状が改善されるかどうかを検討する。

(2) ダウン症候群マウスモデルでみられる脳室拡大、或は中枢神経系における神経発生異常の表現型が **Ts1Cje** マウスにおいて *olig* 遺伝子のみを 2 倍体に戻すことにより改善されるかどうかを検討する。

(3) 精神遅滞様症状と神経発生異常の因果関係について検討する。

3. 研究の方法

(1) 3 か月齢のダウン症候群マウスモデル (**Ts1Cje** 及び **Ts2Cje**) を準備する (図 1)。また、**Ts1Cje** マウスと *olig* 遺伝子欠損マウスを交配させて、*olig* 遺伝子のみを 3 倍体から 2 倍体に戻したダウン症候群マウスモデル **Ts1Cje-olig(+/-)** を準備する。

(2) ダウン症候群モデルマウスの脳において、*olig* 遺伝子の影響を受けていると予想されるオリゴデンドロサイト形成を評価する。そのために、成熟オリゴデンドロサイトの特異的マーカーである CNPase の免疫組織染色を行い、CNPase 陽性オリゴデンドロサイトの数を定量する。また、*olig* 遺伝子のみ 2 倍体に戻した **Ts1Cje** マウスにおいてオリゴデンドロサイト形成に変化があるかどうかを検討する。

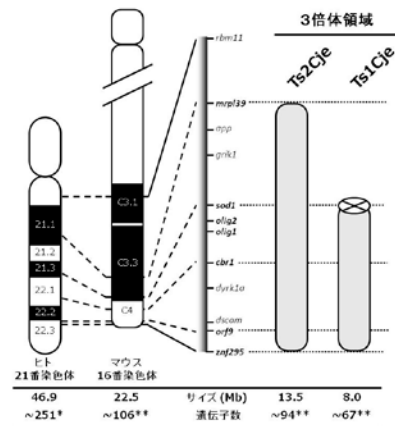


図1 ダウン症候群マウスモデルにおける染色体の3倍体領域

(3) ダウン症候群マウスモデルにおける先進発達遅滞様症状について検討するために、マウスの自発的選択行動の習性を利用した行動試験の一つ、Y 迷路試験による行動解析を行う。また、*olig* 遺伝子のみ 2 倍体に戻した **Ts1Cje** マウスにおいて精神遅滞様症状が改善されるかどうかを判断する。

4. 研究成果

(1) **Ts1Cje** マウスにおけるオリゴデンドロサイト形成の検討

オリゴデンドロサイト形成について検討するために、3 か月齢のダウン症候群モデルマウス脳組織を用いて CNPase の免疫組織染色を行い、脳の線条体及び大脳皮質、海馬における CNPase 陽性オリゴデンドロサイトの数を定量した。興味深いことに、**Ts1Cje** マウスの線条体、海馬、大脳皮質において CNPase 陽性細胞の減少が検出された (図 2)。

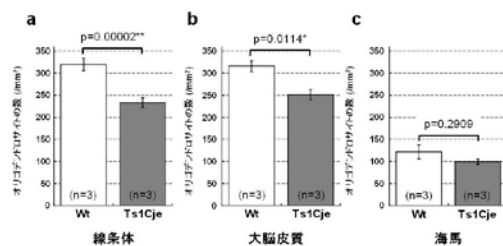


図2 **Ts1Cje** マウス脳におけるオリゴデンドロサイト数の減少

野生型マウスに比べ、Ts1Cje マウス線条体では、CNPase 陽性の成熟オリゴデンドロサイトの数が約 27%減少していた。また、Ts1Cje マウスの大脳皮質と海馬でも成熟オリゴデンドロサイトの数がそれぞれ、約 22%と 10%程度減少していた。これらの結果から、Ts1Cje マウスにおいて、オリゴデンドロサイトの成熟が障害されている可能性が示唆された。

(2) Ts2Cje マウスにおけるオリゴデンドロサイト形成の検討

次に、Ts1Cje とは異なる系統のダウン症候群モデルマウスである Ts2Cje マウスの脳におけるオリゴデンドロサイト形成を検討した。Ts2Cje マウスの線条体、海馬、大脳皮質においても、CNPase 陽性細胞の減少が検出された (図 3)。野生型マウスに比べ、Ts2Cje マウス線条体では、CNPase 陽性の成熟オリゴデンドロサイトの数が約 22%減少していた。また、Ts2Cje マウスの大脳皮質でも成熟オリゴデンドロサイトの数が約 22%減少していた。これらの結果から、ダウン症候群モデルマウスでは、オリゴデンドロサイトの成熟が障害されている可能性が示唆された。

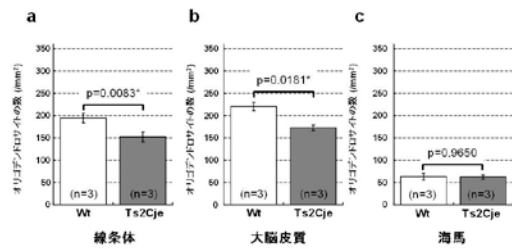


図3 Ts2Cjeマウス脳におけるオリゴデンドロサイト数の減少

(3) Ts1Cje マウスにおける Olig 遺伝子のみを 2 倍体に戻すことによるオリゴデンドロサイト形成への影響の検討

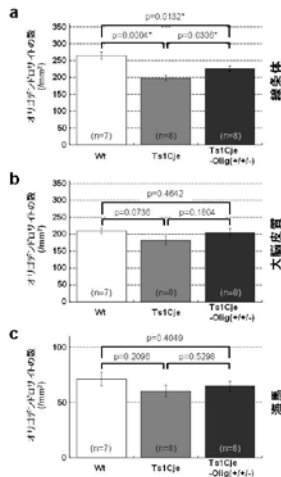


図4 Olig遺伝子の正常化によるオリゴデンドロサイト数の改善

ダウン症候群モデルのトリソミー領域にコードされている Olig 遺伝子はオリゴデンドロサイトの形成に重要な役割を持つことが知られている。そこで、Olig 遺伝子のみを 3 倍体から 2 倍体に戻したダウン症候群マウスモデル Ts1Cje-Olig(+/+/-)の脳におけるオリゴデンドロサイト形成を検討した。線条体、大脳皮質および海馬において、Olig 遺伝子を 2 倍体に戻すことにより、CNPase 陽性オリゴデンドロサイトの数が部分的に改善された (図 4)。したがって、Olig 遺伝子が 3 倍体になることで、オリゴデンドロサイト形成に異常が生じたことが示唆された。

(4) Ts1Cje マウスにおける Olig 遺伝子のみを 2 倍体に戻すことによる精神発達遅滞様の表現型への影響の検討

Olig 遺伝子を 2 倍体に戻すことにより、精神発達遅滞様の表現型が改善されるかどうかを調べるために、記憶学習能を評価する行動試験、Y 迷路試験を行った。Ts1Cje マウスでは自発的選択行動に異常が生じていたが、Olig 遺伝子を 2 倍体に戻した Ts1Cje マウスでは、その行動異常に若干の改善傾向が認められた (図 5)。以上の成果から、Olig 遺伝子がダウン症候群における精神発達遅滞の原因遺伝子の一つであることが示唆された。

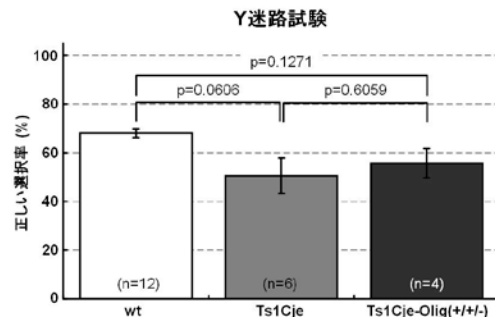


図5 Olig遺伝子の正常化による記憶学習行動の改善

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Ishihara, K., Amano, K., Takaki, E., Shimohata, A., Sago, H., Epstein, C. J., Yamakawa, K. (2010) Enlarged brain ventricles and impaired neurogenesis in the Ts1Cje and Ts2Cje mouse models of Down syndrome. Cereb. Cortex. 20:1131-1143 査読有り

2. Ishihara, K., Amano, K., Takaki, E., Ebrahim,

A. S., Shimohata, A., Shibasaki, N., Inoue, I., Takaki, M., Ueda, Y., Sago, H., Epstein, C. J., Yamakawa, K. (2009) Increased lipid peroxidation in Down's syndrome mouse models. J. Neurochem. 110:1965-1976 査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高木 栄一 (TAKAKI EIICHI)

独立行政法人理化学研究所・神経遺伝研究チーム・研究員

50525590

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者