

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14822

研究課題名(和文)動物モデルから自閉症の発症メカニズムに迫る

研究課題名(英文)Deciphering pathogenesis of autism spectrum disorder with mouse model

研究代表者

片山 雄太(Katayama, Yuta)

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：70725085

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):自閉症と自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder: ASD)の発症メカニズムの解明を目的として、特に責任細胞種の同定に焦点を当てた研究をおこなった。その結果、クロマチンリモデリング因子であるChd8がオリゴデンドロサイトの細胞分化に必要であることが明らかになった。さらにChd8遺伝子をオリゴデンドロサイトでヘテロ欠損させることで自閉症の症状の一部を再現するマウスを作製し、Chd8ヘテロ欠損によってオリゴデンドロサイトの細胞分化が障害されたことによる、ミエリン髄鞘の形成不全を伴う神経伝達速度の低下が自閉症の発症原因の1つであることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症は発症頻度が1%以上と高いうえに有効な治療法が確立されていないため、大きな医学的・社会的問題を生じている神経発達障害である。そこで発症原因の解明と治療法の開発が急務となっていることから、社会的にも研究成果に期待が大きい研究領域である。本研究ではオリゴデンドロサイトの異常が自閉症の発症原因の1つであることを報告したが、これまでにオリゴデンドロサイトが自閉症の発症に関わるという報告は少なく、自閉症の発症メカニズムの新たな可能性を提唱した意義は大きいと考えている。

研究成果の概要(英文): In order to clarify the onset mechanism of Autism Spectrum Disorder (ASD), we conducted a study focusing on the identification of the responsible cell type. The results revealed that Chd8 is required for cell differentiation of oligodendrocytes. Furthermore, we created model mice that reproduce some of the symptoms of autism by heterozygous mutation in Chd8 gene with oligodendrocytes. We found that a decrease in nerve conduction velocity accompanied by hypoplasia is one of the causes of autism.

研究分野：分子生物学

キーワード：自閉症 Chd8 モデルマウス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉症と自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder: ASD)は発症頻度が1%以上と高いうえに有効な治療法が確立されていないため、大きな医学的・社会的問題を生じている神経発達障害である。近年、申請者は自閉症患者で最も有力な原因遺伝子候補である **CHD8** の遺伝子変異を再現したマウスを作製し、このマウスがヒトの自閉症を再現することを報告した [Katayama et al., *Nature* 537: 675-679 (2016)]。この結果から胎生期の神経発達の障害が自閉症の発症に関わることが示唆されたが、そのメカニズムについてはほとんど不明であった。

2. 研究の目的

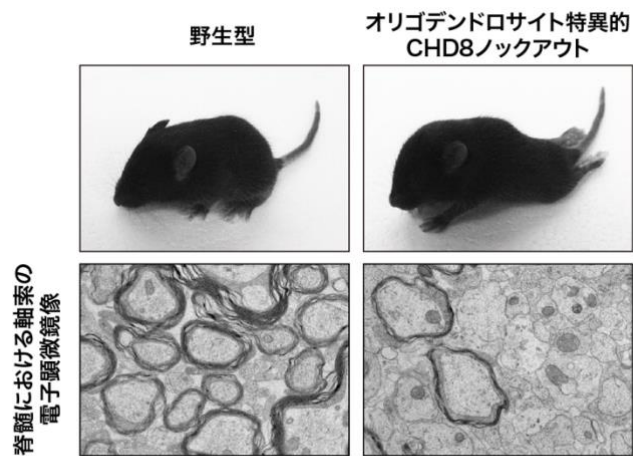
本研究では自閉症の発症メカニズムを理解するためには責任細胞種を明らかにすることが重要であると考え、各細胞種特異的な **CHD8** 変異マウスを作製することで、各神経細胞種の異常と自閉症様の行動異常との関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

各細胞種 (神経幹細胞、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア) で特異的に **Chd8** を欠損するマウスを作製し行動解析テストをおこなうことで、各細胞種の異常と自閉症との関連を調べた。さらに遺伝子発現解析をおこなうことで、自閉症の原因となる細胞状態の変化やシグナル経路の同定を試みた。

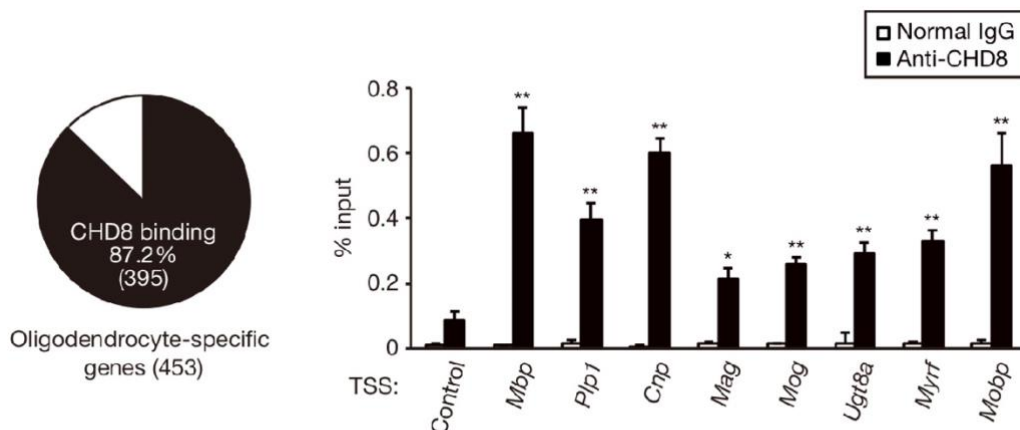
4. 研究成果

当初の予定通り各細胞種 (神経幹細胞、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア) で特異的に **Chd8** を欠損するマウスを作製した。この中でも事前におこなった予備的検討による遺伝子発現差解析から自閉症との関連が強いことが示唆されたオリゴデンドロサイト特異的な **Chd8** 変異マウスについて解析を進めたところ、オリゴデンドロサイト特異的に **Chd8** を完全に欠損したマウスはミエリン形成が顕著に障害され、生後2~3週で死亡することを発見した。【図1】



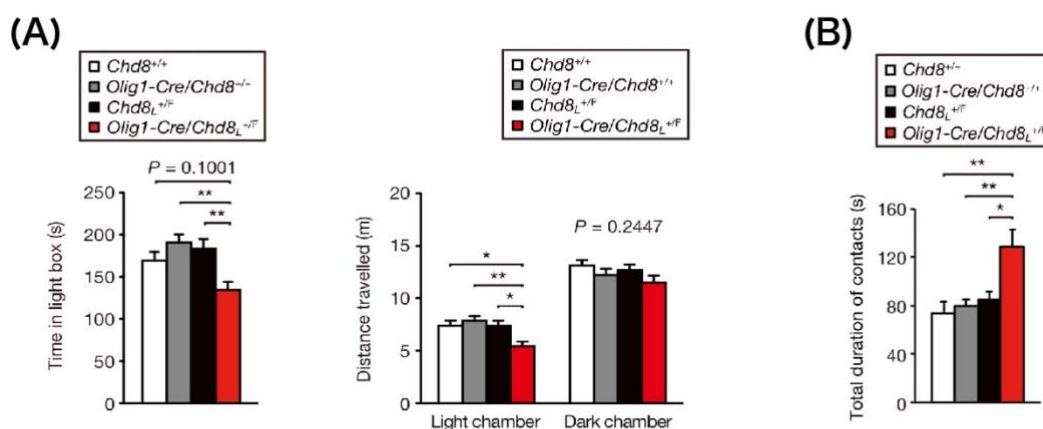
【図1】 CHD8欠損マウスはミエリン形成が障害される

オリゴデンドロサイト特異的 **Chd8** 欠損マウスの脳内では成熟オリゴデンドロサイトが減少していたことから、**Chd8** はオリゴデンドロサイトの細胞分化に重要な役割を担うことが示唆された。そこで *in vitro* 細胞分化誘導系を用いて、オリゴデンドロサイトの細胞分化における **Chd8** の関与を調べたところ、**Chd8** を欠損した細胞はオリゴデンドロサイトへの分化が強く障害されることが明らかになった。さらに **Chd8** はオリゴデンドロサイトマーカー遺伝子群のプロモーター領域に結合しており【図2】、**Chd8** 欠損細胞ではこれらの遺伝子の発現量が減少していたことから、**Chd8** はオリゴデンドロサイトの分化誘導におけるオリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現上昇に関わっていることが示唆された。



【図2】 CHD8はオリゴデンドロサイト関連遺伝子の転写開始点に結合する

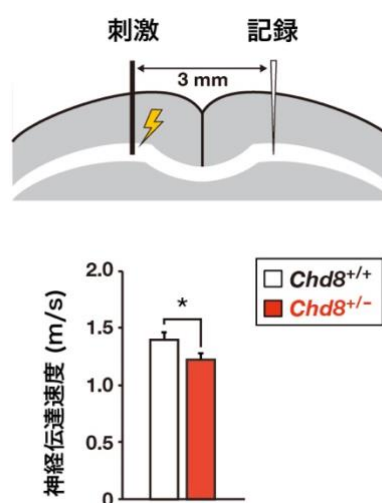
ヒト自閉症患者から報告された Chd8 遺伝子の変異は全てヘテロ変異であることから、Chd8 のヘテロ欠損が自閉症の発症原因であると予想し、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスを用いて行動解析実験による検証を試みた。まず、マウスの不安様行動を評価する Light-dark transition test をおこなった。このテストは暗い部屋 (dark room) と明るい部屋 (light room) を自由に行き来できる部屋にマウスを入れて行動を観察する行動解析実験だが、夜行性動物であるマウスは dark room を好み、light room には探索行動として侵入はするものの不安を感じる場所として忌避行動をとる。特に不安を強く感じやすいマウスは light room での滞在時間や移動距離が減少することが知られている。テストの結果、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスは Light room での滞在時間が短く、移動距離も野生型に比較して減少していたことから、不安が強い傾向があることが明らかになった【図 3(A)】。次に社会性行動を調べる social interaction test をおこなった。このテストでは初対面の 2 匹のマウスを箱に入れて行動を観察する。通常マウスは初対面のマウスに対して興味を持ち、匂い嗅ぎ行動や追いかけて行動と呼ばれるコミュニケーション行動を見せることが知られている。オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスをテストした結果、このマウスは初対面のマウスに対して近くにいる時間 (接触時間) が増加するものの、正常マウスが見せるコミュニケーション行動が減少する傾向が観察された【図 3(B)】。この結果は Chd8 のヘテロ欠損によってマウスの社会性行動に変化が生じたことを示唆する。これらの不安様行動と社会性行動の異常は自閉症患者においてよく観察される症状であることから、オリゴデンドロサイトにおける Chd8 遺伝子のヘテロ欠損が自閉症の原因の 1 つであると考えられた。



【図 3】 オリゴデンドロサイト特異的 CHD8 ヘテロ欠損マウスは自閉症様の行動異常を示す

(A) Light-dark transition test をおこなうと、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスは Light room での滞在時間と移動距離が減少した。この結果は不安が強いことを示す。
 (B) Social interaction test をおこなうと、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスは初対面のマウスに対する接触時間が増加した。この結果は社会性行動に影響があることを示唆する。

次にオリゴデンドロサイトの異常による自閉症の発症メカニズムの解明を試みた。オリゴデンドロサイトは神経伝達に重要な役割を果たすミエリン形成をおこなうことが主な機能であると考えられており、オリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ホモ欠損マウスはミエリンが消失することから、ミエリンの形成不全による神経伝達の障害が自閉症の原因であると推測された。そこでマウス脳梁領域の神経伝達速度を測定したところ、予想通り Chd8 ヘテロ欠損マウスは野生型マウスと比較して神経伝達速度が低下していることが明らかになった。神経伝達速度の異常は脳内神経ネットワークの混乱を引き起こすことが予想されるが、ヒト自閉症患者を対象とした研究において自閉症患者は脳領域間の協調的な活動パターンに変化が見られることが報告されていることから、Chd8 変異マウスにおいても神経ネットワークが障害されたことが自閉症の発症原因であると推測される。この仮説については fMRI 法を用いて神経活性化パターンをモニタリングすることで自閉症様の行動異常との関連を解析中である。



【図 4】 神経伝達速度が低下

これらの結果から、Chd8 遺伝子変異による自閉症の発症原因はオリゴデンドロサイトの細胞分化障害を発端とする神経伝達速度の低下であることが示唆された。これまでオリゴデンドロサイトが自閉症の発症に関わることを主張した報告は少なく、自閉症の発症原因に新たな可能性を提起した意味で意義のある成果であると考えている。

一方で、全ての細胞で Chd8 遺伝子をヘテロ欠損したマウスにおいてはオリゴデンドロサイト特異的 Chd8 ヘテロ欠損マウスで見られた行動異常に加えて固執傾向や注意力障害が疑われる表現型が見られることから、本研究で明らかにした自閉症の発症メカニズムは自閉症の全容を説明するには不十分であると考えている。つまりオリゴデンドロサイトの異常は自閉症の病態を説明する 1 つの要因であり、自閉症の発症にはオリゴデンドロサイトだけでなく複数の細胞種が関与する複雑なメカニズムが存在すると推測される。今後は今回の研究をさらに発展させ、他の細胞種と自閉症の関わりや複数の細胞種の混交要因を解析することで自閉症の病態の全容解明を目指したいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Kawamura Atsuki, Katayama Yuta, Nishiyama Masaaki, Shoji Hirotaka, Tokuoka Kota, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko, Isa Tadashi, Miyakawa Tsuyoshi, Hayashi-Takagi Akiko, Nakayama Keiichi I	4. 巻 -
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 -
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 Hui Kelvin, Katayama Yuta, Nakayama Keiichi I., Nomura Jun, Sakurai Takeshi	4. 巻 in press
2. 論文標題 Characterizing vulnerable brain areas and circuits in mouse models of autism: Towards understanding pathogenesis and new therapeutic approaches	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience & Biobehavioral Reviews	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neubiorev.2018.08.001	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12件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 片山 雄太
2. 発表標題 CHD8変異マウスにおけるASD発症メカニズム
3. 学会等名 第49回日本神経精神薬理学会(JSNP2019)（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片山 雄太, 川村 敦生, 中山 敬一
2. 発表標題 CHD8変異マウスを用いた自閉症発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 敦生、片山 雄太、西山 正章、昌子 浩孝、阿部 欣史、関 布美子、高田 則雄、田中 謙二、徳岡 広太、植田 禎史、宮田 麻理子、伊佐 正、岡野 栄之、宮川 剛、林 朗子、中山 敬一
2. 発表標題 Oligodendrocyte dysfunction by Chd8 mutation shapes core autistic phenotypes in mice
3. 学会等名 新学術領域 (マルチスケール精神病態の構成的理解)、第2回領域会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 敦生、片山 雄太、西山 正章、昌子 浩孝、阿部 欣史、関 布美子、高田 則雄、田中 謙二、徳岡 広太、植田 禎史、宮田 麻理子、伊佐 正、岡野 栄之、宮川 剛、林 朗子、中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の変異によるオリゴデンドロサイト機能異常と自閉症発症への関与
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 仁田 暁大、武藤 義治、片山 雄太、松本 有樹修、西山 正章、中山 敬一
2. 発表標題 自閉症関連遺伝子CHD8は造血幹細胞の分化に寄与する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石 大智、片山 雄太、西山 正章、真柳 浩太、神田 大輔、浦 聖恵、鯨井 智也、胡桃坂 仁志、中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の遺伝子変異によるASD発症の分子基盤の解明
3. 学会等名 新学術領域 (マルチスケール脳) 第二回領域会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石 大智, 片山 雄太, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の機能異常によるASD発症の分子基盤の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片山雄太, 西山正章, 昌子浩孝, 大川恭行, 川村敦生, 佐藤哲也, 須山幹太, 内匠透, 宮川剛, 中山敬一
2. 発表標題 クロマチン構造異常によるASD発症の分子基盤
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川村敦生, 片山雄太, 西山正章, 昌子浩孝, 徳岡広太, 植田禎史, 宮田麻理子, 伊佐正, 宮川剛, 中山敬一
2. 発表標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation shapes the core autistic phenotypes in mice
3. 学会等名 28th Hot Spring Harbor Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川村敦生, 片山雄太, 西山正章, 昌子浩孝, 徳岡広太, 植田禎史, 宮田麻理子, 伊佐正, 宮川剛, 中山敬一
2. 発表標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation shapes the core autistic phenotypes in mice
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市原知哉, 武藤義治, 諸石寿朗, 西山正章, 片山雄太, 中山敬一
2. 発表標題 ユビキチンリガーゼFBXL5による鉄代謝制御とその上流制御因子の探索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 白石大智, 片山雄太, 喜多泰之, 西山正章, 中山敬一
2. 発表標題 CHD8機能異常による自閉症スペクトラム障害の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018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