

3q29 欠失精神障害モデルマウスの表現型解析から発症に至る分子メカニズムの解明

森 大輔

名古屋大学 脳とこころの研究センター

【研究の背景】

精神障害の発症要因は、遺伝要因と環境要因の双方が関係していることが疫学的なデータから明らかになっているが、特に自閉スペクトラム症、統合失調症 (SCZ)、双極性障害においては遺伝要因が発症に強く関与するとされている。申請者を含めた国内外の多くの研究者は、精神障害の発症メカニズムを明らかにするため、稀な一塩基変異 (SNV) やゲノムコピー数変異 (CNV) を網羅的に探索した結果、発症に大きく寄与する rare variant を多数同定し、発症関連ゲノム変異を特定しつつある。中でも大規模な CNV である 3q29 欠失と 22q11.2 欠失はともに SCZ 発症のオッズ比が 50 以上と極めて高く、他の神経発達症や循環器障害、免疫系の障害も伴う。3q29 欠失領域は *DLG1* 遺伝子や *PAK2* 遺伝子など約 25 個の遺伝子を含むが、本欠失がどのような分子メカニズムで多様な精神障害や身体疾患を引き起こすかは不明である。研究代表者森は 3q29 欠失モデルマウスを作製した。

【目 的】

頻度は稀だが統合失調症 (SCZ) 等の精神障害発症に強く寄与するゲノム変異 (rare variant) の一つである染色体 3q29 領域欠失に着目する。同欠失のモデルマウスを用いて行動学的・組織病理学的・電気生理学的・細胞生物学的な表現型解析および機能解析を実施し、ゲノム変異から発症に至る分子メカニズムを解明することで、既に樹立した 3q29 欠失患者由来 iPS 細胞の表現型と比較し、分子病態に基づく SCZ の新規診断法・治療薬の創出に繋げる。

【方 法】

【1】3q29 欠失モデルマウスの行動表現型解析: 3q29 欠失と SCZ 発症の関連性の検証

Social interaction test: 社会性行動試験、Open field test: 不安様行動試験、Y-maze test: 短期記憶学習試験、Locomotor activity test: 自発運動量試験などに重点を置き、SCZ 発症のモデルマウスとなるかどうかを明らかにする。

【2】3q29 欠失モデルマウスの組織病理学的解析

発達期および成体期での脳を中心に病理学的解析を実施する。病理染色 (HE 染色など) に加え、神経細胞マーカー抗体を利用した免疫染色によって、3q29 欠失マウスで現れる可能性があるマクロな脳の構造異常の有無を明らかにする。

【3】3q29 欠失モデルマウス由来初代培養神経細胞の形態解析

胎児脳から大脳皮質神経細胞、初代海馬神経細胞を単離し、神経突起形成を導入済みのタイムラプス顕微鏡で観察、定量解析する。さらに、長期培養による軸索、樹状突起、シナプスの各形態についても共焦点顕微鏡で観察し、野生型と比較することにより、よりミクロな脳の表現型の有無を明らかにする。

【結 果】

【1】3q29 欠失モデルマウスの行動表現型解析: 3q29 欠失と SCZ 発症の関連性の検証

統合失調症様行動解析のバッテリーテストを生後 8 週齢から 13 週齢の期間内で実施した。オスマウスを用いて、野生型

と 3q29 ヘテロ欠失マウスをそれぞれ 10 匹ずつ準備した。Locomotor activity test: 自発運動量試験において、日周性の活動リズムにおいて 3q29 欠失マウスの方が照明の ON-OFF の切り替え時に過敏に反応する傾向が見られた。

【2】3q29 欠失モデルマウスの組織病理学的解析

発達期および成体期での脳を中心に病理学的解析を実施した。HE 染色などにおいては特に目立った構造的な異常は見られなかった。神経細胞マーカー抗体を利用した免疫染色においても興奮性の神経細胞、グリア細胞に目立った相違点は認められなかったが、TUNEL アッセイにおいては 3q29 ヘテロ欠失マウスにおいて有意にアポトーシスシグナルの亢進が認められた。

【3】3q29 欠失モデルマウス由来初代培養神経細胞の形態解析

胎児脳から大脳皮質神経細胞、初代海馬神経細胞を単離し、神経突起形成を導入済みのタイムラプス顕微鏡で観察、定量解析したが、表現型に違いはなかった。さらに、長期培養による軸索、樹状突起、シナプスの各形態についても共焦点顕微鏡で観察し、野生型と比較したが目立った差は得られなかった。現在、電気生理学的な機能について調査中である。

【考 察】

ゲノム及び臨床情報の解析から精神疾患との強い関連性が示されている 3q29 ゲノム領域に着目し、3q29 欠失モデルマウスを作製した。これまで当該欠失マウスではやや体重の低下が認められ、明-暗期の活動量試験から睡眠障害を示唆する表現型を認めることができた。精神疾患モデルとして確立することができたと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

将来はその基盤的なデータをもとにより臨床に近い研究として、3q29 欠失患者由来 iPS 細胞の表現型との相互比較、モデルマウスの睡眠障害すなわち概日リズムに関する表現型解析に深化する方針を立てている。

【参考・引用文献】

M. Baba, K. Yokoyama, K. Seiriki, Y. Naka, K. Matsumura, M. Kondo, K. Yamamoto, M. Hayashida, A. Kasai, Y. Ago, K. Nagayasu, A. Hayata-Takano, A. Takahashi, S. Yamaguchi, **D. Mori**, N. Ozaki, T. Yamamoto, K. Takuma, R. Hashimoto, H. Hashimoto, and T. Nakazawa. Psychiatric-disorder-related behavioral phenotypes and cortical hyperactivity in a mouse model of 3q29 deletion syndrome. *Neuropsychopharmacology*, 2019