

シナプス接着分子を介する学習障害 (LD) の分子神経基盤

守村直子

滋賀医科大学 生理学講座 統合臓器生理学部門

【研究の背景】

適切な高次脳機能を司る神経回路形成には、シナプス接着分子を含めたシナプス分子群の役割が重要と考えられており、その破綻が脳発達障害を呈すると示唆されている。シナプス分子と脳発達障害の遺伝的関連性を示す研究報告が増加しており、またシナプス分子群を対象とした遺伝子改変マウスの研究成果が加わって、近年では『シナプス異常と発達障害』の因果関係説が学術的にも社会的にも広く知られるようになってきた。その一方で、マウス-ヒト間の脳構造や神経回路形成、およびそれらが寄与する高次脳機能の進化的な差が障壁となり、ヒト発達障害発症メカニズムの詳細解明には未だ至っておらず、発達障害に対する創薬・治療法開発は依然難しい課題になっている。昨今の発生工学の進歩により、非ヒト霊長類実験動物カニクイザルにおいてもマウス同様の遺伝子操作技術が可能になった。自閉症原因遺伝子については MeCP2 遺伝子改変サル^{1, 2)}や SHANK3 サル³⁾が先行報告され、自閉症発症解明へ繋がる重要なトランスレーショナル・リサーチに位置付けられている⁴⁾。

自閉症などと同じ発達障害に属する学習障害(LD)は、読み・書き・計算または推論するなどの特定の習得と行動に困難を示す障害である。学校教育が始まる就学期に顕在化するケースが多く、また国ごとの教育事情が絡んだ全容把握が困難な脳発達障害とされている。このような社会的背景もあり、関連遺伝子の報告は少なく、また原因究明に直結した分子レベルの脳科学的研究が遅れている。今後、学習障害(LD)解明や治療法開発を推進する上で、原因遺伝子を標的とした病態モデルサルの作出およびその解析が大きな役割を担うものと期待される。

【目 的】

学習障害(LD)は、病因研究や治療介入に繋がる知見が極めて少ない発達障害である。興奮性シナプスの発達に関わるシナプス接着分子 LRFN2 は、学習障害(LD)家系から LRFN2 遺伝子座欠失が発見され⁵⁾、加えて遺伝子欠損マウスの解析から記憶・学習および社会行動異常と情報処理能力低下が示された⁶⁾。本研究は、カニクイザルにおける LRFN2 の分子メカニズムを検証することにより、LRFN2 を介する発達障害責任回路の特定やマウス-サル知見をヒトへ外挿できる道筋を究明し、創薬・新規治療法の開発を目指す。

【方 法】

- ① 発現誘導型LRFN2 Lentivirus発現ベクター各種(LRFN2ノックダウン・LRFN2正常とEGFPコントロール)を構築した後、Lentivirus粒子を作製・濃縮した。調整ウイルスの感染能や誘導発現有無について、COS7細胞およびカニクイザルES細胞を用いた免疫細胞染色、ウェスタンブロッティングおよびフローサイトメトリーで検証した。発現誘導型EGFP Lentivirusについては、顕微授精直後のカニクイザル受精卵へインジェクションし、感染が確認された胚盤胞を選定した後、母体へ移植した。
- ② 3T MR scannerを用いて、各成長段階の正常カニクイザル固定脳の核磁気共鳴画像(MRI)および拡散強調画像(DWI)の撮像を行った。DWIデータはコンピュータ解析を進め、拡散テンソル法によるトラクトグラフィーを描出した。

【結 果】

Lentivirus 感染細胞において想定通りの発現誘導活性を保持していること、カニクイザル受精卵に対しても十分な感染能を有していることわかった。また成長段階に対応したサル脳の MRI 撮像条件および DWI 撮像条件を確立することができた。

【考 察】

発現誘導型 Lentivirus ベクターは恒常的強制発現型と比べてゲノムへの導入遺伝子サイズが大きい。そのため、遺伝子導入効率低下や胚発生異常が危惧されたが、受精卵胚盤胞発生過程には異常が見られず、子宮移植が可能になった。今後は、胎児成長観察を行いつつ、LRFN2 ノックダウン遺伝子導入カニクイザルの作製を進める。また今回の研究期間に、マウスに比べ情報量の少ない正常カニクイザル成長発達段階の脳構造、神経軸索形態のデータを取得することができた。さらに情報を蓄積することによって、LRFN2 遺伝子改変サル脳の異常を抽出できる基盤データが完成されるものと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

カニクイザルは旧世界ザルに属し、ヒトに近い大脳新皮質を持つ。カニクイザルにおける LRFN2 を介する学習障害(LD)に関連した発達障害発症メカニズムの解明が進めば、分子標的薬の具体化やカニクイザルを用いた前臨床試験が可能になる。また、近年の MRI および fMRI の画像診断技術の進展により、ヒト発達障害患者の脳構造の差異や機能異常に関連する変化が見出されている。LRFN2 欠失によって観察されたカニクイザル脳情報はそのままヒト患者情報とすり合わせる事が可能になるものと思われる。

【参考・引用文献】

- 1) Liu Z. et al., Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2. *Nature* 530 (7588):98–102. (2016)
- 2) Chen Y. et al., Modeling Rett Syndrome Using TALEN-Edited MECP2 Mutant Cynomolgus Monkeys. *Cell* 169 (5):945–955. (2017)
- 3) Poo MM. et al., China Brain Project: Basic Neuroscience, Brain Diseases, and Brain-Inspired Computing. *Neuron* 92(3) :591–596. (2016)
- 4) Zhou Y. et al., Atypical behaviour and connectivity in SHANK3-mutant macaques. *Nature* 570(7761):326–331. (2019)
- 5) Thevenon J. et al., Heterozygous deletion of the LRFN2 gene is associated with working memory deficits. *Eur J Hum Genet.* 24(6) :911–8. (2016)
- 6) Morimura N. et al., Autism-like behaviours and enhanced memory formation and synaptic plasticity in Lrfn2/SALM1-deficient mice. *Nat. Commun.* 8:15800. (2017)