

# 論文内容要旨

## Behavioral and neuroanatomical analyses in a genetic mouse model of 2q13 duplication

(ヒト染色体 2q13 領域重複モデルマウスの行動および脳形態解析)

Genes Cells. 2017 May;22(5):436-451.

主指導教員：内匠 透 教授

(理化学研究所脳科学総合研究センター)

副指導教員：橋本 浩一 教授

(医歯薬保健学研究科 神経生理学)

副指導教員：今泉 和則 教授

(医歯薬保健学研究科 分子細胞情報学)

岸本 恵子

近年、シーケンス技術の進歩に伴い、ヒトゲノムに様々なバリエーションが存在する事が明らかとなっている。このうち、コピー数多型(Copy number variants: CNVs)は、1 kb 以上にわたる特定染色体領域が欠失もしくは重複する(コピー数変化を伴う)多型と定義され、自閉症を含む発達障害との相関が示唆されている 1)。

本研究が対象とするヒト染色体 2q13 領域の重複もしくは欠損は、遺伝性腎疾患である若年性ネフロロウや発達障害であるジュベート症候群の一部で認められる。また、本領域中に存在する NPHP1 遺伝子と MALL 遺伝子の一部を含む領域はブレイクポイントに挟まれている事から、特に NPHP1 遺伝子の欠損、重複がこれら遺伝性疾患の表現型に寄与する可能性が示唆されている。

NPHP1 遺伝子は、732 アミノ酸、83kDa の Nephrocystin タンパク質をコードしている。Nephrocystin は coiled-coil 構造、Src homology 3 ドメインや nephrocystin homology ドメインを持ち、様々なタンパク質 (NPHP2, NPHP4, NPHP8, AHI1 など) と複合体を形成し、細胞内の一次繊毛の基底小体や細胞接着部に存在している。NPHP1 を含む 2q13 領域の重複は、自閉症、注意欠陥・多動性障害や言語遅延など精神神経疾患様症状を併発する事が知られているが、本領域の重複と神経精神疾患との因果関係は不明である 2)。このため本研究では、2q13 領域の染色体異常(重複)と精神疾患、特に自閉症との関係を明らかにするため、NPHP1 遺伝子全長と MALL 遺伝子の一部を含む全長 158.9kb のバクテリア人工染色体(bacterial artificial chromosome: BAC)を用いて、2q13 領域重複マウス(2q13dup)を作製した 3)。複数の遺伝子群を搭載可能な BAC ベクターは、遺伝子のエキソンだけではなく、プロモーター、イントロン領域も含んでいるため、内在性遺伝子群の発現を忠実に再現できる。このため、長大かつ複数遺伝子を含む 2q13 重複モデルマウス作製に本システムを適用した。

BAC トランスジェニックマウスの作製には、環状 BAC ベクターを制限酵素 *PI-SceI* によって線状化した後、C57BL/6 由来マウスの受精卵前核にインジェクションし、複数のトランスジェニックマウスラインを得た。得られたトランスジェニックマウスを使って定量的 PCR 法に基づくコピー数解析を行った結果、BAC 由来の染色体領域が 1 コピー挿入されているマウス(2q13dup)を 2 ライン得た。そのうち 1 ラインを維持し、その後の解析に用いた。さらに BAC 由来の *Nphp1* 遺伝子の発現を調べる為、全脳を用いて定量的 PCR およびウエスタンブロッティングによる発現解析を行った結果、mRNA、タンパク質共に 2q13dup マウスでコピー数依存的な発現量の上昇を認めた。

次に、本モデルマウスを用い、網羅的行動スクリーニングを実施した。行動試験解析の結果、当初予想された自閉症様行動(3チャンバー社会性相互作用試験による社会性行動の低下、逆転学習による常同行動、そして超音波発生によるコミュニケーション低下)は認められなかったが、(前頭前皮質-海馬機能依存的)空間作業記憶を解析する Y 字型迷路試験では 2q13dup マウスで自発的交替行動の有意な低下が認められた。一方、新奇環境における行動量(オープンフィールド試験)、不安様行動(明暗箱選択試験、高架式十字迷路試験)、うつ様行動(尾懸垂試験)、感覚情報選別機能・驚愕反応(プレパルスインヒビション試験)、海馬依存的空間記憶(バーン

ズ迷路), 文脈記憶 (恐怖条件付け試験), そして小脳依存的運動学習記憶 (ロタロッド試験) では異常が認められなかった。

さらに, 2q13 領域の重複が脳構造に影響を及ぼすかを解析する為, 7 テスラ超高磁場核磁気共鳴画像 (Magnetic Resonance Imaging: MRI) による脳構造解析を行った。その結果, 2q13dup マウスは脳全体の容積に顕著な変化は認められなかったものの, 小脳の一部を構成する paraflocculus (傍片葉) が野生型マウスと比べ減少傾向にあることがわかった。

今回, 2q13 染色体領域の重複が神経精神機能に及ぼす影響をマクロレベル (行動および脳構造) で解析を行った。この結果, 2q13 dup マウスは行動レベルでは空間作業記憶の低下, 脳構造では傍片葉の縮小が認められた一方, 自閉症様行動は認められなかった。本結果より, 遺伝的要因である 2q13 領域の重複自体は自閉症の主症状に主要な影響を及ぼさない事から, 本領域を重複する自閉症患者の発症理由には何らかの他 (複合) 因子の存在が想定された。

一方, 本研究で明らかとなった 2q13 重複に起因する表現型の分子メカニズム解明は今後の課題である。特に傍片葉の縮小は, 認識機能の低下を含め, 他の精神疾患関連 CNV モデルマウス (22q11.2 欠損) でも認められており 4), 認識機能の低下と傍片葉の縮小に関連があるのか興味深い。今回マクロレベルでは明らかにされなかった疾患様表現型, 特に空間作業記憶の低下と傍片葉の萎縮に至る詳細な分子メカニズムについて, 本モデルマウスを用いて解明されることが期待される。

- 1) Sebat J et al., Cell.,2012
- 2) Yasuda et al., Ann Gen Psychiatry. 2014
- 3) Kishimoto et al., Genes Cells, 2017.
- 4) Stark KL et al., Nat. Genet., 2008.