

統合失調症と関連するヒトの染色体微細欠失を再現した新しいモデルマウスを作製

1. 発表者：

齋藤 遼（東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 動物資源学部門／
同大学院理学系研究科 生物科学専攻 博士課程3年）
饗場 篤（東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 動物資源学部門 教授）
久島 周（名古屋大学医学部附属病院 ゲノム医療センター 病院講師）
森 大輔（名古屋大学 脳とこころの研究センター 特任准教授）
尾崎 紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学・親と子どもの心療学分野 教授）
永井 拓（名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学准教授）
山田 清文（名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学教授）

2. 発表のポイント：

- ◆統合失調症をはじめとするさまざまな精神疾患の発症に関連する 22q11.2 欠失症候群において最も多くの患者で見られる 3.0-Mb (メガベース) 欠失を再現した遺伝子改変マウスを作製しました。
- ◆3.0-Mb 欠失を再現したマウスでは、プレパルス抑制の低下や視覚誘発電位の異常など統合失調症と関連する表現型(遺伝子型に応じて個体が示す行動などの特性)が観察されました。
- ◆この遺伝子改変マウスは、統合失調症など 22q11.2 欠失症候群と関連する精神疾患の発症メカニズムを解明するための有用なモデルとなることが期待されます。

3. 発表概要：

統合失調症は、思春期から青年期にかけて発症し、陽性症状（妄想・幻覚など）、陰性症状（感情の平板化・活動意欲の低下など）を主要な症状とする精神疾患です。このほか、知能・記憶力・注意力・実行機能などの認知機能の障害も認められ、社会的機能の低下から日常生活に支障をきたします。統合失調症はおよそ 100 人に 1 人が罹患する頻度の高い精神疾患ですが、その原因や発症に関わるメカニズムは未だ明らかになっておらず、それに基づく治療法・診断法は確立されていません。そのため、発症メカニズムの解明や治療法開発の研究に適用できる有用な動物モデルの創出が求められています。

今回、東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター動物資源学部門の饗場篤教授、齋藤遼大学院生、名古屋大学大学院医学系研究科精神医学・親と子どもの心療学分野の尾崎紀夫教授、同大学院医学系研究科医療薬学の山田清文教授、永井拓准教授、同大医学部附属病院ゲノム医療センターの久島周病院講師、同大脳とこころの研究センターの森大輔 特任准教授らの共同研究グループは、高い統合失調症の発症リスクを伴う 22q11.2 欠失症候群（注 1）に着目し、ゲノム編集技術を用いて、この症候群の原因である染色体の微細欠失 [3.0-Mb (メガベース) の 22q11.2 欠失] をマウスで再現することに成功しました。この遺伝子改変マウスを解析したところ、プレパルス抑制（注 2）の低下や視覚誘発電位（注 3）の異常という統合失調症と関連する表現型が観察されました。

本研究により、22q11.2 欠失というヒトの染色体微細欠失を再現した、新しい統合失調症モデルマウスが作製されました。このモデルマウスは、統合失調症の発症メカニズムの理解や治療法の開発に貢献することが期待されます。

本研究は、日本医療研究開発機構「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」の一環として行われました。

4. 発表内容：

統合失調症は、思春期から青年期にかけて発症し、陽性症状（妄想・幻覚など）、陰性症状（感情の平板化・活動意欲の低下など）を主要な症状とする精神疾患です。このほか、知能・記憶力・注意力・実行機能などの認知機能の障害も認められ、社会的機能の低下から日常生活に支障をきたします。病因・病態は未だ不明な点が多く、それらに基づく治療法や診断法の開発は進んでいません。家系内に本疾患が集積していること、遺伝率が約 80%と高いことから、発症に関わる遺伝的素因を見つけることが本疾患の病因・病態の解明に重要であると考えられています。近年では、ゲノム解析技術の進展もあり、発症に強く関連するゲノムの変異が多数報告されています。

22q11.2 欠失症候群は、患者が統合失調症、知的障害などの精神疾患を高頻度で発症することから、多様な精神疾患の発症に関わるゲノム変異として注目されています。特に、統合失調症の発症リスクは、これまで知られている単一の遺伝的リスク因子の中で最も高く（オッズ比: 16.3-44.2）、統合失調症の発症メカニズムを解明する上で重要なリスク因子であると考えられています。22q11.2 欠失症候群では、約 90%の患者で特定の染色体 [3.0-Mb（メガベース=100 万塩基対）] の微細欠失が認められます。この領域には、タンパク質をコードする遺伝子が 46 個存在しており、これらの遺伝子群は同様の一群（シンテニー）を保ったままマウスの 16 番目の染色体の長腕の A13 という部分に保存されています。そのため、22q11.2 欠失症候群で見られる欠失をマウスで再現することが可能であり、いくつかのモデルマウスが異なる研究グループにより作製されてきました。しかし、これまでに作製されたモデルマウスは 3.0-Mb 領域の部分的な欠失を再現したものにすぎず、患者の遺伝的素因を十分に再現しているとは言えませんでした。

そこで饗場教授らの研究グループは、22q11.2 欠失症候群における 3.0-Mb 領域の欠失をマウスで再現するため、CRISPR/Cas9 システム（注 4）によるゲノム編集を行いました。その結果、標的とするゲノム領域が欠失したマウスの作製・系統化に成功しました。この遺伝子改変マウスは、高い死亡率を示し、出生した個体の 70.6%が生後 3 週間以内に死亡しました。そこで、死亡率を引き上げる原因を調べるため、胎生 18.5 日胚を用いて組織学的解析を行ったところ、大動脈弓離断（13.3%）、右鎖骨下動脈起始異常（6.7%）、胸腺低形成（46.7%）という 22q11.2 欠失症候群の患者で見られる表現型が観察されました。

次に、3.0-Mb 欠失を再現したマウスの行動解析を行いました。その結果、オープンフィールド試験と Y 字型迷路試験において活動量・探索行動の低下を示しました。これらの結果は、統合失調症における陰性症状を反映していると考えられました。また、社会的相互作用試験における新奇のマウスとの接触時間の減少、恐怖条件付け記憶学習試験における記憶力の低下が観察されました。さらに、3.0-Mb 欠失を再現したマウスは、プレパルス抑制の低下・視覚誘発電位の振幅低下という統合失調症様の表現型を示しました。

次に、さまざまな精神疾患において重要な臨床症状である睡眠障害との関連を調べるため、概日リズムの測定を行いました。恒常的に暗期な環境下における一日の活動リズムを解析したところ、3.0-Mb 欠失を再現したマウスは、野生型マウスと異なる活動リズムを示しました。このことから、3.0-Mb 欠失を再現したマウスの内在性活動リズムに異常がある可能性が示唆されました。また、体内時計の調節が正常に行われるかを調べるため、時差ボケ実験を行いました。14 日間程度、マウスを明期 12 時間・暗期 12 時間の明暗サイクルで飼育したのち、この明暗

サイクルを 8 時間ずらして時差を与え、何日かかって時差ボケを解消できるか測定しました。その結果、3.0-Mb 欠失を再現したマウスは、8 時間の明暗サイクルを前進させたとき（我々が日本からアメリカへ行くのと同じような時差を与えたとき）、野生型マウスよりも時差ボケが早く解消しました。

本研究で作出された遺伝子改変マウスは、22q11.2 欠失症候群で最も主要なタイプの 3.0-Mb 領域の欠失が再現されています。これまでのモデルマウスよりもヒト患者の遺伝的素因を忠実に再現したモデルマウスが作製されたことによって、統合失調症をはじめとする 22q11.2 欠失症候群と関連する精神疾患の発症メカニズムの解明・治療法の開発につながることを期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Translational Psychiatry*」

論文タイトル：Comprehensive analysis of a novel mouse model of the 22q11.2 deletion syndrome: A model with the most common 3.0-Mb deletion at the human 22q11.2 locus

著者：Ryo Saito, Michinori Koebis, Taku Nagai, Kimiko Shimizu, Jingzhu Liao, Bolati Wulaer, Yuki Sugaya, Kenichiro Nagahama, Naofumi Uesaka, Itaru Kushima, Daisuke Mori, Kazuaki Maruyama, Kazuki Nakao, Hiroki Kurihara, Kiyofumi Yamada, Masanobu Kano, Yoshitaka Fukada, Norio Ozaki and Atsu Aiba*

DOI 番号：10.1038/s41398-020-0723-z

論文 URL：https://www.nature.com/articles/s41398-020-0723-z

7. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター 動物資源学部門

教授 饗場 篤（あいば あつ）

TEL: 03-5841-3638

E-mail: aiba@m.u-tokyo.ac.jp

名古屋大学大学院医学系研究科 精神医学・親と子どもの心療学分野

教授 尾崎 紀夫（おざき のりお）

TEL: 052-744-2282・2283

E-mail: ozaki-n@med.nagoya-u.ac.jp

8. 用語解説：

（注 1）22q11.2 欠失症候群：

ヒトは 23 対の染色体を持っていますが、その内の 22 番目の染色体の長腕 (q) の 11.2 という部分に欠失が存在した場合に、22q11.2 欠失症候群とされます。約 90% の患者が 46 個のタンパク質をコードする遺伝子を含む 3.0-Mb 領域の欠失を有しています。この症候群では、心血管異常、特徴的な顔貌、胸腺低形成、口蓋裂、低カルシウム血症という身体疾患の合併に加えて、種々の精神疾患の発症率も高く、例えば統合失調症のオッズ比は最大値 44.2 倍とされ、本疾患の最大のリスクと考えられています。

（注 2）プレパルス抑制：

ヒトや動物は、突然の大きな音刺激に対して驚愕反応を示しますが、大きな音刺激の直前に微弱な音刺激（プレパルス）を先行させると驚愕反応が抑制されます。この現象をプレパルス抑制と呼び、注意機能・感覚ゲーティングの指標として用いられています。統合失調症の患者ではプレパルス抑制の低下が報告されており、感覚ゲーティングの障害を反映していると考えられています。プレパルス抑制は、げっ歯類でも観察できるため、ヒトと共通する統合失調症様表現型の測定指標として用いられています。

（注 3）視覚誘発電位：

視覚刺激を与えることにより、大脳皮質視覚野に生じる電位を視覚誘発電位と呼びます。統合失調症の患者では視覚誘発電位の振幅が低下することが報告されており、視覚情報の処理過程における障害を反映していると考えられています。

（注 4）CRISPR/Cas9 システム：

CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats / CRISPR associated proteins 9) は、真正細菌や古細菌が持つ獲得免疫機構のひとつで、細胞内に侵入してきた核酸（ファージ DNA やプラスミドなど）を切断・分解します。この機構を応用したゲノム編集技術は、あらゆる生物種の遺伝子改変を簡便かつ迅速に行うことのできる技術として広く利用されています。DNA の切断を行う Cas9 ヌクレアーゼは、ガイド RNA と相互作用し、ガイド RNA と相補的な DNA を選択的に切断します。ガイド RNA の配列を変更することにより、ゲノム上の任意の配列を切断することができます。

9. 添付資料：

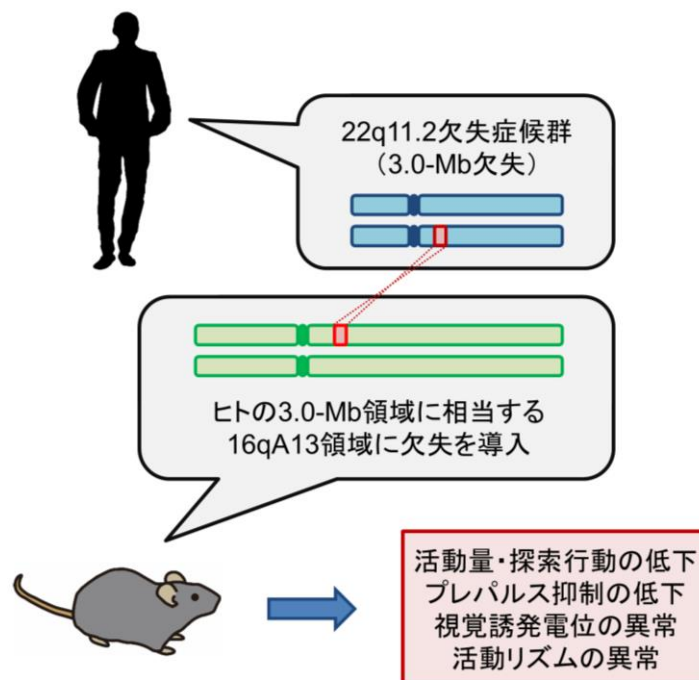


図 1. 22q11.2 欠失症候群における 3.0-Mb 欠失を再現したマウスで観察された表現型