

CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-11-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Nishiyama, Masaaki メールアドレス: 所属: |
| URL | https://doi.org/10.24517/00052709 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【研究紹介】

クロマチンリモデリング因子 CHD8 のハプロ不全は
自閉スペクトラム症の原因となる

CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice

金沢大学医薬保健研究域医学系 組織細胞学
西山 正 章

はじめに

自閉スペクトラム症は社会性行動の障害および活動あるいは興味範囲のいちじるしい限局性(固執傾向)を主な特徴とする発達障害であり¹⁾, さらに, 不安の増加や注意力の障害といったさまざまな症状が合併することが多い。発症の頻度は人口の1.5%と非常に高く, 社会的な損失の大きさからも病態の解明および治療法の確立が急務となっている。自閉スペクトラム症発症の原因には諸説あるものの, 発生の初期から中期にかけての神経発達の障害が関与するという説が有力視されている²⁾。自閉スペクトラム症の発症には遺伝的な要因が強く関与することが知られており, これまでに多くの原因遺伝子の候補が報告されているが, とくに, シナプス関連タンパク質, Wnt-βカテニンシグナル伝達系, クロマチンリモデリングにかかわる遺伝子の異常が自閉スペクトラム症の発症と強い相関を示す³⁾。さらに近年, 自閉スペクトラム症の患者を対象とした大規模なエクソーム解析により, CHD8遺伝子がかつとも頻度の高いde novo変異遺伝子として報告され, 自閉スペクトラム症の原因遺伝子のかつとも有力な候補として注目を集めている⁴⁾。これらの報告から, CHD8の機能異常が自閉スペクトラム症の発症の原因であることが推測されたが, これまで, その発症機構はおろか, CHD8遺伝子の変異が自閉スペクトラム症発症の原因であるという直接的な証拠も示されていなかった。

1. CHD8ヘテロ欠損マウスは自閉スペクトラム症様の行動異常を示す

CHD8はもともとWnt-βカテニンシグナル伝達系の抑制タンパク質として報告されたが⁷⁾, そのうち, CHDファミリータンパク質の一員であることが明らかにされた。CHD8はクロマチンリモデリングタンパク質であり, クロマチンの構造を変化させることにより標的となる遺伝子の転写を制御する(図1)。筆者らは, これまでに, CHD8が転写因子であるp53やβカテニンと結合し, これらの転写制御領域にヒストンH1をリクルートすることによりその転写活性を抑制することを報告した^{8,9)}。Chd8遺伝子をホモで欠損したマウスは胎生の初期にp53の異常な活性化によるアポトーシスを起こし死亡することから, CHD8遺伝子は個体の発生において必須の役割を担うことがわかった¹⁰⁾。

自閉スペクトラム症の患者において発見されたCHD8遺伝子の変異はすべてヘテロ変異であったことから, CHD8のハプロ不全が自閉スペクトラム症発症の原因であると推測し, CHD8ヘテロ欠損マウスの行動を解析した¹¹⁾。自閉スペクトラム症の患者においてよく観察される不安様の行動について, オープンフィールド試験, 明

暗選択箱試験, 高架式十字迷路試験の3つの独立した行動試験により検証した。その結果, いずれの試験においてもCHD8ヘテロ欠損マウスにおいては不安様の行動が増加したことから, この結果からも, 自閉スペクトラム症の患者の特徴が再現されることが示された。

次に, 自閉スペクトラム症における主要な症状である固執傾向および社会性行動について検証した。記憶学習および固執傾向を評価するT字迷路試験により, CHD8ヘテロ欠損マウスは記憶学習には異常がみられなかったものの, 野生型のマウスと比較して強い固執傾向が観察された。社会性行動およびコミュニケーション能力を評価する社会的行動試験において, CHD8ヘテロ欠損マウスは初対面のマウスの近くにいる時間は長くなったものの, マウスのコミュニケーションである追いかけて行動や臭い嗅ぎ行動は減少した。この行動異常は一部の自閉スペクトラム症の患者にみられる受動型とよばれるタイプのコミュニケーション障害に似ていた。

CHD8ヘテロ欠損マウスにおいて観察されたこれらの表現型は, このマウスが自閉スペクトラム症を発症していることを示唆しており, CHD8のハプロ不全が自閉スペクトラム症の発症の原因となることを意味した。

2. CHD8ヘテロ欠損マウスは自閉スペクトラム症患者における遺伝子の発現パターンを再現する

野生型のマウスおよびCHD8ヘテロ欠損マウスの脳を試料としてRNA-seq法によりChd8遺伝子のヘテロ欠損により発現量の変化した遺伝子を探索した。しかし, 予想に反して, 顕著に発現量の変化した遺伝子はほとんどなかった。この結果, および, CHD8の標的となる遺伝子が非常に多いことをふまえ, 少数の遺伝子の大きな変化ではなく, それぞれは小さい変動ながらも多

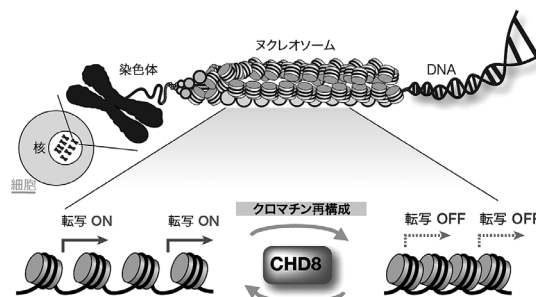


図1. クロマチンリモデリング因子 CHD8
クロマチンは, DNAをヒストンに巻き付けて(ヌクレオソーム), 高度に折り畳んで収納したものである。CHD8は, このクロマチンの構造を変化させるクロマチンリモデリング因子というタンパク質の一種で, 様々な遺伝子の発現を調節することが知られている。

数の遺伝子の変化の相乗効果が自閉スペクトラム症の発症に関与すると推測し、遺伝子の発現量の変化を個々の遺伝子ではなく遺伝子セットとして解析するGSEA (gene set enrichment analysis) 法により再解析した。その結果、自閉スペクトラム症との関連が報告されている遺伝子の発現がCHD8ヘテロ欠損マウスにおいて低下していることが見出された。さらに、自閉スペクトラム症の患者の脳において発現が低下している遺伝子も同様に、CHD8ヘテロ欠損マウスにおける発現が低下していた。この結果から、CHD8ヘテロ欠損マウスの脳における遺伝子の発現パターンは、自閉スペクトラム症の患者における遺伝子の発現パターンと類似していることが示された。発現が低下した遺伝子にはシナプス関連タンパク質やイオンチャネルといった神経の活性にかかわる遺伝子が多く含まれていたことから、CHD8ヘテロ欠損マウスにおいて神経機能の低下が自閉スペクトラム症の症状に関与する可能性が示唆された。

3. 転写抑制因子RESTの異常な活性化をともなう神経発達の遅延

自閉スペクトラム症の発症には胎生の初期から中期にかけての神経発達が関与すると考えられていることから、胎生14.5日齢のCHD8ヘテロ欠損マウスの脳において遺伝子の発現量のデータを取得し、発生の初期あるいは中期においてそれぞれ高発現していた遺伝子セットについてGSEA法により解析した。その結果、胎生期のCHD8ヘテロ欠損マウスの脳における遺伝子の発現パターンは、野生型のマウスと比較して、発生の初期に高発現する遺伝子の発現が優位であった。この結果から、CHD8ヘテロ欠損マウスにおいては胎生の初期から中期の神経発達が遅延していることが示唆された。

また、CHD8ヘテロ欠損マウスにおいて、転写抑制因子RESTの標的となる遺伝子の発現がもっとも顕著に低下していた。RESTは神経分化の制御において重要であり、RESTの活性が低下することにより神経前駆細胞は神経細胞へと分化する。発生の中期において高発現していた遺伝子セットにもRESTの標的となる遺伝子が多く含まれていたことから、RESTの活性化により発生の中期に働く遺伝子の発現が抑制された結果、神経発達の遅延が生じたと考えられた。さらに、RESTの標的となる遺伝子の発現低下は自閉スペクトラム症の患者の死後脳のデータにもみられたことから、RESTの活性化はヒトの自閉スペクトラム症にも関与することが示唆された。

おわりに

この研究は、自閉スペクトラム症の原因遺伝子の有力な候補として注目されているCHD8遺伝子の変異により自閉スペクトラム症が発症することを直接的に示した、はじめての報告である。さらに、CHD8遺伝子の変異はRESTの異常な活性化をともなう神経発達の遅延を引き起こし、その結果、自閉スペクトラム症が発症するという仮説が提唱された(図2)。CHD8とRESTの活性化との関連はこの研究における重要な発見のひとつであるが、今のところ、CHD8によるRESTの抑制機構の詳細は明らかにされておらず、今後の課題となっている。

また、CHD8ヘテロ欠損マウスは、原因遺伝子、遺伝子発現のパターン、行動学的な異常など、ヒトの自閉スペクトラム症の特徴を多方面から再現することから、非常

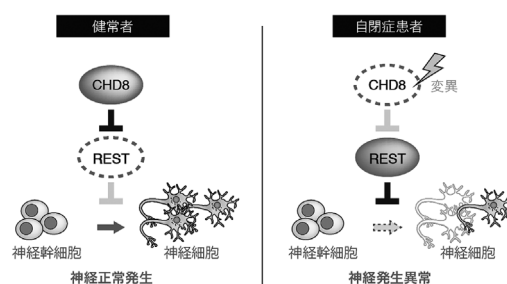


図2. CHD8はRESTを抑制することにより神経発生を制御する。CHD8は神経発生に重要なタンパク質であるRESTの機能を抑制することによって、胎児期における神経発生のタイミングを制御している。CHD8に変異が起こると、RESTが異常に活性化することによって神経発生が障害され、その結果自閉症を発症すると考えられる。

に信頼性の高い自閉スペクトラム症のモデル動物であるといえよう。モデル動物は研究ツールとしてだけでなく薬剤スクリーニングにも大いに役立つことから、自閉スペクトラム症の治療法の開発にも貢献するものと考えている。さらに、自閉スペクトラム症との関連が明らかにされたRESTは自閉スペクトラム症の新しい創薬ターゲットになりうる。すでに筆者らは、遺伝学的手法およびREST阻害剤の投与による治療の実験を進めており、自閉スペクトラム症の治療法への応用について検討している。

文 献

- 1) Abrahams, B. S. & Geschwind, D. H.: Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat. Rev. Genet.*, 9, 341-355 (2008)
- 2) Willsey, A. J., Sanders, S. J., Li, M. et al.: Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell*, 155, 997-1007 (2013)
- 3) Krumm, N., O'Roak, B. J., Shendure, J. et al.: A de novo convergence of autism genetics and molecular neuroscience. *Trends Neurosci.*, 37, 95-105 (2014)
- 4) O'Roak, B. J., Vives, L., Girirajan, S. et al.: Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of de novo mutations. *Nature*, 485, 246-250 (2012)
- 5) Talkowski, M. E., Rosenfeld, J. A., Blumenthal, I. et al.: Sequencing chromosomal abnormalities reveals neurodevelopmental loci that confer risk across diagnostic boundaries. *Cell*, 149, 525-537 (2012)
- 6) Neale, B. M., Kou, Y., Liu, L. et al.: Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*, 485, 242-245 (2012)
- 7) Sakamoto, I., Kishida, S., Fukui, A. et al.: A novel β -catenin-binding protein inhibits β -catenin-dependent Tcf activation and axis formation. *J. Biol. Chem.*, 275, 32871-32878 (2000)
- 8) Nishiyama, M., Oshikawa, K., Tsukada, Y. et al.: CHD8 suppresses p53-mediated apoptosis through histone H1 recruitment during early embryogenesis. *Nat. Cell Biol.*, 11, 172-182 (2009)
- 9) Nishiyama, M., Skoultchi, A. I. & Nakayama, K. I.: Histone H1 recruitment by CHD8 is essential for suppression of the Wnt- β -catenin signaling pathway. *Mol. Cell Biol.*, 32, 501-512 (2012)
- 10) Nishiyama, M., Nakayama, K., Tsunematsu, R. et al.: Early embryonic death in mice lacking the β -catenin-binding protein Duplin. *Mol. Cell Biol.*, 24, 8386-8394 (2004)
- 11) Katayama, Y., Nishiyama, M., Shoji, H., et al.: CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice. *Nature*, 537, 675-679 (2016)