

令和 2 年 4 月 27 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19509

研究課題名(和文)自閉症は大人になっても治せるか？

研究課題名(英文)Can autism be cured in adulthood?

研究代表者

西山 正章(Nishiyama, Masaaki)

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：50423562

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：自閉症発症の原因となる神経細胞種を調べるために、CHD8ヘテロ欠損マウスで脳内の遺伝子発現解析を行ったところ、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現がもっとも顕著に低下していた。そこで、われわれはオリゴデンドロサイトにおけるCHD8の機能に着目した。CHD8ヘテロ欠損マウスはミエリン形成の低下やランビエ構造の異常、神経伝導速度の低下などを示した。さらに、オリゴデンドロサイト特異的CHD8ヘテロ欠損マウスの行動解析を行ったところ、全身CHD8ヘテロ欠損マウスで観察された行動異常の一部が再現されることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CHD8の欠損によりオリゴデンドロサイトの機能が障害することが判明したため、オリゴデンドロサイト特異的CHD8ヘテロ欠損マウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症様行動の一部が再現されることが判明した。すでにわれわれは、遺伝学的な手法および再ミエリン化薬剤の投与による治療の実験を進めており、自閉症の治療法への応用について検討している。これらの知見は当初の研究目的に適合しており、順調に達成されつつあると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Here we show that reduced expression of CHD8 in oligodendrocytes gives rise to abnormal behavioral phenotypes in mice. CHD8 was found to regulate the expression of many myelination-related genes and to be required for oligodendrocyte maturation and myelination. Ablation of Chd8 specifically in oligodendrocytes of mice impaired myelination, slowed action potential propagation, and resulted in behavioral deficits including increased social interaction and anxiety-like behavior, with similar effects being apparent in Chd8 heterozygous mutant mice. Our results thus indicate that CHD8 is essential for myelination and that dysfunction of oligodendrocytes as a result of CHD8 haploinsufficiency gives rise to several neuropsychiatric phenotypes.

研究分野：分子生物学

キーワード：トランスジェニックマウス 自閉症

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉症は、社会的相互関係やコミュニケーション能力の質的障害および常同・反復的な興味・行動で特徴付けられる発達障害であり、全人口の1.5%を占めると言われている。近年、自閉症患者で大規模なゲノム変異検索が行われた結果、クロマチンリモデリング因子の一つである CHD8 が自閉症患者で最も変異率の高い遺伝子として報告された。

われわれは長年にわたって CHD8 の研究を行っており、これまでに CHD8 が発生期の器官形成に重要な役割を果たしていることを示してきた [Nishiyama et al., *Nature Cell Biol.* 11: 172-82 (2009)]。そこで CHD8 変異を再現したマウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症を特徴付ける行動異常である社会的行動の異常や不安様行動の増加が観察された。さらに遺伝子発現解析によって神経発生の重要な制御因子である REST が異常活性化しており、そのために神経発生遅延が起こることを実証した。このようにわれわれは、ヒトの自閉症に原因遺伝子・症状・遺伝子発現パターンが極めて類似した動物モデルを有している [Katayama et al., *Nature* 537: 675-9 (2016)]。

2. 研究の目的

人間が人間らしく生き、心豊かな社会生活を営むために、コミュニケーション能力は不可欠なツールである。自閉症は、このコミュニケーション能力の質的障害および常同・反復的な興味・行動で特徴付けられる非常に発症頻度の高い発達障害であり（全人口の約1.5%）、発症メカニズムの解明と治療法の開発が強く求められている。近年クロマチンリモデリング因子 CHD8 が自閉症の最も有力な原因候補遺伝子として報告された。われわれは長年にわたり CHD8 の研究を続けてきたが、今回自閉症患者の CHD8 変異を再現したモデルマウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症様の行動異常を再現することに成功した [Katayama et al., *Nature* 537: 675-9 (2016)]。そこで、本研究では種々の神経細胞において CHD8 の機能を喪失した変異体と発現誘導型 CHD8 トランスジェニックマウスを用いて自閉症の発症時期、責任部位、責任細胞種を特定し、自閉症の発症メカニズムを解明することによって、新しい疾患治療法の確立を目的とする。

(1) コンディショナルノックアウトマウスによる自閉症の発症時期、責任部位、責任細胞種の特定

現在、時期、脳領域または細胞種特異的に CHD8 を欠損するマウスの作製を進めている。これらの時空間特異的 CHD8 欠損マウスの行動解析を行うことで、自閉症発症の原因となりうる責任病変を特定する。

(2) CHD8 ヘテロ欠損マウスを用いた自閉症の発症メカニズムの解明

(1)で特定した責任病変に着目し、網羅的な遺伝子発現解析や電気生理学的解析を行う。特に RNA-seq、ChIP-seq、プロテオーム解析を用いて自閉症発症の分子メカニズムを明らかにするとともに治療のための標的分子を探索する。

(3) CHD8 の発現誘導による自閉症治療への応用

発現誘導型 CHD8 トランスジェニックマウスを用いて、時空間特異的に CHD8 を発現誘導し、自閉症様の行動異常が改善されるかどうかを検討することによって、自閉症の表現型が抑えられる時期、脳領域、神経細胞種を決定する。

3. 研究の方法

まず様々な時期、脳領域、細胞種特異的 CHD8 欠損マウスを用いて行動解析を行い、自閉症の発症に関与する責任病変を特定する。次に全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスやコンディショナルノックアウトマウスを用いて網羅的な遺伝子発現解析や電気生理学的解析を行い、発症メカニズムを解明する。また全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスと発現誘導型トランスジェニックマウスを

掛け合わせ、様々な時期、脳領域、神経細胞種において様々なパターンで CHD8 を発現誘導することで、自閉症様症状が改善するかどうかを検討する。特に「成体期における CHD8 の誘導が自閉症を治療できるかどうか」について結論を得ることが本研究のゴールである。

(1) CHD8 コンディショナルノックアウトマウスを用いた解析

現在までに時期、脳領域または細胞種特異的に CHD8 を欠損した変異マウス系統を多数構築している。これらの時空間特異的 CHD8 欠損マウスの行動解析を行うことで、自閉症発症の責任病変を明らかにする。

(2) 全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスにおける遺伝子発現解析

自閉症発症の責任病変を全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスの脳組織から単離し、RNA-seq や ChIP-seq 解析、プロテオーム解析を行い、遺伝子発現パターンの変化や栄養因子の合成、分泌の変化を調べることで、自閉症発症の分子基盤を明らかにするとともに治療のための標的分子を探索する。

(3) 発現誘導型 CHD8 トランスジェニックマウスを用いた自閉症の治療実験

われわれは既に、Cre-loxP システムを用いて時空間特異的に CHD8 を発現誘導できるトランスジェニックマウスの作製に成功している。これらのマウスと全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスを交配し、行動異常が改善されるかどうかを検討することによって、自閉症の表現型が抑えられる責任病変を決定する。

4. 研究成果

自閉症は、コミュニケーション能力の質的障害および常同・反復的な興味・行動で特徴づけられる非常に発症頻度の高い発達障害であり、その発症メカニズムの解明と治療法の開発が強く求められている。近年、大規模な自閉症の原因遺伝子探索が行われ、クロマチンリモデリング因子 CHD8 が最も有力な原因遺伝子として同定された。われわれはヒト自閉症患者で報告された CHD8 変異を再現したヘテロ欠損マウスの行動解析を行ったところ、自閉症を特徴付ける行動異常である社会的行動の異常や不安様行動の増加が観察された [Katayama et al., *Nature* 537: 675-679 (2016)]。自閉症の発症にはニューロンやグリア細胞の機能異常が関与していると考えられるが、自閉症の行動異常の原因となる責任細胞種は明らかになっていない。

自閉症発症の原因となる神経細胞種を調べるために、CHD8 ヘテロ欠損マウスで脳内の遺伝子発現解析を行ったところ、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の発現がもっとも顕著に低下していた。そこで、われわれはオリゴデンドロサイトにおける CHD8 の機能に着目した。CHD8 ヘテロ欠損マウスはミエリン形成の低下やランビエ構造の異常、神経伝導速度の低下などを示した。さらに、オリゴデンドロサイト特異的 CHD8 ヘテロ欠損マウスの行動解析を行ったところ、全身 CHD8 ヘテロ欠損マウスで観察された行動異常の一部が再現されることが判明した。

これらの結果から、CHD8 はミエリン関連遺伝子の発現を直接制御することによって、オリゴデンドロサイトの分化を制御しており、CHD8 変異によるオリゴデンドロサイトの機能異常が自閉症発症の一因を担っている可能性が強く示唆された [Kawamura et al., *Hum. Mol. Genet.* (in press)]。

CHD8 の欠損によりオリゴデンドロサイトの機能が障害することが判明したため、オリゴデンドロサイト特異的 CHD8 ヘテロ欠損マウスを作製し行動解析を行ったところ、自閉症様行動の一部が再現されることが判明した。すでにわれわれは、遺伝学的な手法および再ミエリン化薬剤の投与による治療の実験を進めており、自閉症の治療法への応用について検討している。これらの知見は当初の研究目的に適っており、順調に達成されつつあると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawamura, A., Katayama, Y., *Nishiyama, M., Shoji, H., Tokuoka, K., Ueta, Y., Miyata, M., Isa, T., Miyakawa, T., Hayashi-Takagi, A., *Nakayama, K. I.	4. 巻 XX
2. 論文標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation gives rise to behavioral deficits in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hum. Mol. Genet.	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/hmg/ddaa036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamauchi, Y., Nita, A., Nishiyama, M., Muto, Y., Shimizu, H., Nakatsumi, H., Nakayama, K. I.	4. 巻 XX
2. 論文標題 Skp2 contributes to cell cycle progression in trophoblast stem cells and to placental development.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genes Cells	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/gtc.12769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Muto, Y., Moroishi, T., Ichihara, K., *Nishiyama, M., Shimizu, H., Eguchi, H., Moriya, K., Koike, K., Mimori, K., Mori, M., Katayama, Y., *Nakayama, K. I.	4. 巻 216
2. 論文標題 Disruption of FBXL5-mediated cellular iron homeostasis promotes liver carcinogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Exp. Med.	6. 最初と最後の頁 950-965
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20180900	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kita, Y., Katayama, Y., Shiraishi, T., Oka, T., Sato, T., Suyama, M., Ohkawa, Y., Miyata, K., Oike, Y., Shirane, M., *Nishiyama, M., *Nakayama, K. I.	4. 巻 23
2. 論文標題 The autism-related protein CHD8 cooperates with C/EBP to regulate adipogenesis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 1988-2000
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2018.04.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 仁田 暁大, 武藤 義治, 片山 雄太, 松本 有樹修, 西山 正章, 中山 敬一
2. 発表標題 自閉症関連遺伝子CHD8は造血幹細胞の分化に寄与する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚本 康寛, 古寺 哲幸, 福間 剛士, 中山 敬一, 西山 正章
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の動態追跡による自閉症の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山内 悠平, 仁田 暁大, 西山 正章, 武藤 義治, 清水 秀幸, 中津海 洋一, 中山 敬一
2. 発表標題 Skp2は胎盤幹細胞の細胞周期を制御する
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石 大智, 片山 雄太, 西山 正章, 真柳 浩太, 神田 大輔, 浦 聖恵, 鯨井 智也, 胡桃坂 仁志, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の機能異常によるASD発症の分子基盤の解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川村 敦生, 片山 雄太, 西山 正章, 昌子 浩孝, 阿部 欣史, 関 布美子, 高田 則雄, 田中 謙二, 徳岡 広太, 植田 禎史, 宮田 麻理子, 伊佐 正, 岡野 栄之, 宮川 剛, 林 朗子, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子 CHD8の変異によるオリゴデンドロサイト機能異常と自閉症発症への関与
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西山 正章
2. 発表標題 クロマチンリモデリングの可視化による自閉症の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 白石 大智, 片山 雄太, 喜多 泰之, 西山 正章, 中山 敬一
2. 発表標題 CHD8機能異常による自閉症スペクトラム障害の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 喜多 泰之, 片山 雄太, 白石 大智, 岡 毅寛, 白根 道子, 西山 正章, 中山 敬一
2. 発表標題 脂肪分化におけるクロマチンリモデラーCHD8のgenome-wide解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西山 正章, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の動態追跡による自閉症の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 仁田 暁大, 武藤 義治, 片山 雄太, 松本 有樹修, 西山 正章, 中山 敬一
2. 発表標題 自閉症関連遺伝子CHD8は造血幹細胞の分化に関与する
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川村 敦生, 片山 雄太, 西山 正章, 昌子 浩孝, 徳岡 広太, 植田 禎史, 宮田 麻理子, 伊佐 正, 宮川 剛, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の変異によるオリゴデンドロサイト機能異常と自閉症発症への関与
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚本 康寛, 中山 敬一, 西山 正章
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の動態追跡による自閉症の発症メカニズムの解明
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 市原 知哉, 武藤 義治, 諸石 寿朗, 西山 正章, 片山 雄太, 中山 敬一
2. 発表標題 ユビキチンリガーゼFBXL5による鉄代謝制御とその上流制御因子の探索
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

金沢大学医薬保健研究域医学系 組織細胞学 http://ana1.w3.kanazawa-u.ac.jp/

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考