

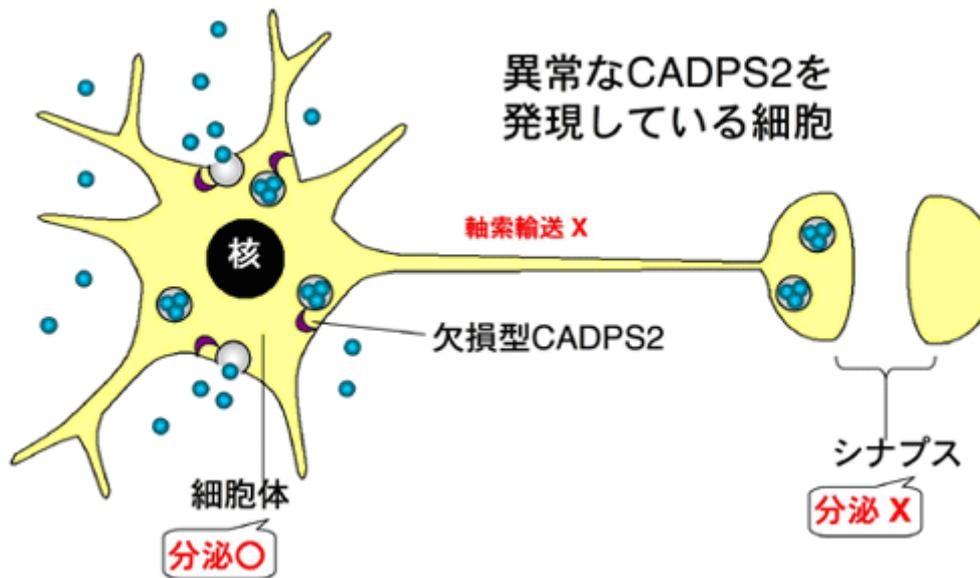
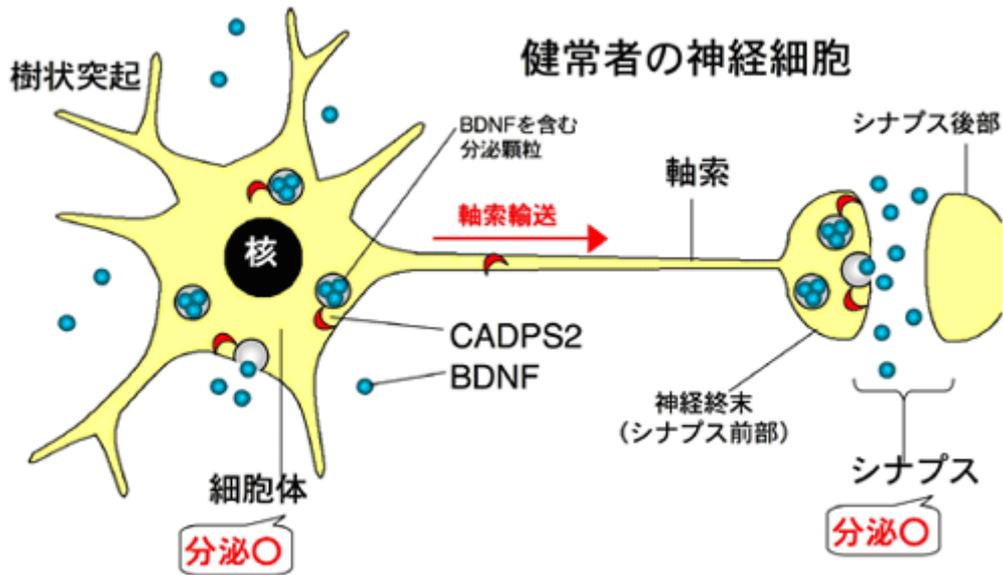
2007年3月23日  
独立行政法人 理化学研究所

## 自閉症に関連する遺伝子異常を発見

### - 自閉症の病因解明や早期診断に向けた新知見 -

---

三歳までに発病する精神疾患のひとつである「自閉症」は、“対人関係”や“言語等によるコミュニケーション”、“活動や興味の範囲が狭くなり、常に同じ行動を繰り返す”といった障害を持ちます。人口千人当たり一人以上の割合で発症する珍しくない病気ですが、その発症メカニズムはまだ分かっていません。最近では、脳の発達障害によるものと考えられており、遺伝的な要因が関与する疾患と予想されています。この病気は、改善はあっても完治しないため、家族への負担が大きく、社会的に深刻な問題となっています。理研脳科学総合研究センターの分子神経形成研究チームは、マウスを使って、神経細胞の生存や分化に重要な神経栄養因子の分泌を調節する遺伝子（CADPS2 遺伝子）の異常が、この病気に関係していることを突き止めました。今回の研究成果は、自閉症の発症メカニズムを解明する大きな手がかりをもたらしました。



(図)自閉症患者に見られた異常な CADPS2 の局所的 BDNF 分泌への影響

2007年3月23日  
独立行政法人 理化学研究所

## 自閉症に関連する遺伝子異常を発見

### - 自閉症の病因解明や早期診断に向けた新知見 -

#### ◇ポイント◇

- 神経栄養因子の分泌を調節する遺伝子を欠損したマウスは自閉症に似た症状を示す
- マウスで見つけたこの遺伝子の発現が自閉症患者で異常をきたしていることを発見
- 自閉症の発症原因の解明や早期診断につながると期待

独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、神経細胞の生存と分化に重要な神経栄養因子<sup>\*1</sup>の分泌を調節する遺伝子の発現異常と、自閉症との関連を世界で初めて明らかにしました。理研脳科学総合研究センター（甘利俊一センター長）分子神経形成研究チームの古市貞一チームリーダー、定方哲史基礎科学特別研究員ら、および東京都立梅ヶ丘病院による共同研究グループの成果です。

「自閉症」は、“対人関係の障害”や“言語等によるコミュニケーションの障害”、“活動や興味の範囲が狭くなり、常に同じ行動を繰り返す”といった特徴を持つ精神疾患の一つです。人口千人当たり一人以上の割合で発症し、改善はあっても完治しないことから家族への負担が大きく、社会的に深刻な問題となっています。しかしながら、その発症メカニズムはわかっていません。

研究チームでは、分泌関連分子であるCADPS2(キャドプスツー)遺伝子（別名CAPS2(キャップスツー)遺伝子)<sup>\*2</sup>を欠損したマウスを作製し、解析したところ、神経栄養因子の一つで、神経回路形成や記憶・学習機能を調節する脳由来神経栄養因子(BDNF)<sup>\*3</sup>の分泌が著しく減少していることを発見しました。このことは、CADPS2遺伝子がBDNF分泌において重要な働きをしていることを意味しています。このマウスの行動を詳しく調べると、自閉症に見られる特徴をもった行動異常を示すことがわかりました。さらに、自閉症患者の協力を得て、CADPS2 遺伝子の発現パターンを健常者と比較すると、一部の患者ではCADPS2 遺伝子から転写されるmRNAに、異常な「選択的スプライシング<sup>\*4</sup>」が起きていることが明らかになりました。この異常なmRNAから翻訳される欠損型CADPS2 タンパク質は、神経軸索へ輸送されないことも示されました。この結果は、欠損型CADPS2 の発現によってBDNFの局所的分泌が異常になり、これが神経ネットワークの形成異常につながる可能性を示唆しています。また、自閉症患者のゲノムの一塩基多型<sup>\*5</sup>解析から、CADPS2 タンパク質のアミノ酸配列に変異があるケースも検出しました。

今回明らかになったCADPS2 遺伝子の発現異常と自閉症との関連性は、自閉症の発症メカニズム解明の糸口となります。また、CADPS2 遺伝子の発現を調べることで自閉症の早期診断につながることも期待されます。本研究成果は、米国の基礎医学専門誌『Journal of Clinical Investigation』（4月号・3月22日オンライン）に掲載されます。

## 1. 背景

「自閉症」は、三歳までに発病する精神疾患として知られ、“対人関係における障害”、“言語などによるコミュニケーションの障害”、“興味の限局（活動や興味の範囲が狭くなる）、反復的で常同的な行動（同じ行動を常に繰り返す）”を特徴とした疾患です。人口千人当たり一人以上の割合で発症する珍しくない病気ですが、その発症メカニズムはまだ分かっていません。最近では、脳の発達障害によって発症し、遺伝子の異常が関与すると考えられています。この病気は、改善はあっても完治しないため、家族への負担が大きく、社会的に深刻な問題となっています。また、早期からの治療的な教育や対処療法、および社会的なサポートなどによって、行動上の問題のある程度の改善が可能であり、早期診断技術の確立が求められています。

一方、CADPS2 は特定の分泌顆粒の開口放出に関与することがわかっていました。これまでに研究チームは、“CADPS2 タンパク質の脳内における発現分布パターンが、BDNFと多くの領域で一致する”こと、“BDNFを含む分泌顆粒膜に結合して神経終末に豊富に存在する”こと、“人為的に培養神経細胞へ発現させたCADPS2 は、BDNF分泌を促進する”ことなどを明らかにしてきました。BDNFは、記憶、学習などの高次機能に関わっているほか、神経ネットワークの形成に重要であることがわかっている神経栄養因子であり、最近では、神経疾患の一つであるレット障害<sup>\*6</sup>において、このタンパク質の量に異常があることなどが明らかになっています。

## 2. 研究手法と成果

### (1) CADPS2 遺伝子欠損マウスの作製

研究チームは、ES 細胞を用いた相同性組換え法を用いて、CADPS2 遺伝子が欠損したマウスを作製しました。この変異をホモで持つマウスは、CADPS2 遺伝子をすべての細胞で欠損します。その結果、大脳、海馬、小脳での BDNF の分泌能が低下することから、CADPS2 は、BDNF の正常な分泌に必須であることが明らかになりました。このマウスでは、大脳皮質、海馬、小脳における特定の神経細胞の生存と分化が損なわれる表現型が観察され、外来性 BDNF の投与でこの異常な表現型は元に回復することなどがわかりました。

### (2) 自閉症様行動の解析法

作製した遺伝子欠損マウスの行動を複数のテストで詳しく解析しました。以下は、その中の代表的なテストです。

#### • 社会的相互作用テスト

同じケージで飼育したことのない 2 匹の雄マウスをテスト箱に入れ、2 匹のマウスの社会的相互作用（近づいてお互いに嗅ぎあったり、接触したりする行動）を評価しました。CADPS2 遺伝子欠損マウスは、相互作用の頻度に有意な低下が見られました。

#### • 母性（哺乳）行動テスト

母親マウスの自ら出産したマウスを哺乳・養育する行動を調べました。

CADPS2 遺伝子を欠損した母親マウスは、子育てを放棄する割合が高いことがわかりました。

- 自発運動解析

マウスの水平運動量を、ケージ内に設置した赤外線ビームの遮断による検出で6日間測定しました。CADPS2 遺伝子欠損マウスは、野生型マウスに比べて運動量が多いことから、多動の傾向があることがわかりました。

- 新奇環境への適応実験

飼育ケージ内に新奇オブジェクト（物体）を設置した際のマウスの行動量の変化や、オブジェクトへの接触回数を測定しました。また、新奇迷路にマウスを入れた時の行動量の変化を評価しました。CADPS2 遺伝子欠損マウスは、新奇性の強い環境下では行動量が有意に減少し、新奇オブジェクトに対する接触行動を避ける傾向があることから、新奇環境下での不安行動の亢進や適応性の低下が見られました。

これらのテスト結果を踏まえると、CADPS2 遺伝子欠損マウスは、通常的环境下での視覚、嗅覚、聴覚の機能は正常ですが、社会性行動の異常、母性行動（子育ての能力）の低下、多動、新奇環境への適応力の低下が見られ、自閉症で見られるような行動異常を示すことが明らかになりました。また、このマウスは、空間認知記憶の低下やサーカディアン・リズム<sup>\*7</sup>の異常なども見られました。

### (3) 自閉症患者における CADPS2 遺伝子の解析法

CADPS2 遺伝子欠損マウスの解析から、実際に自閉症患者においても、CADPS2 遺伝子に何らかの異常がある可能性が考えられました。そこで、自閉症患者の協力を得て、患者と健常者のCADPS2 遺伝子（全28エクソン）の配列を解析しました。その結果、CADPS2 遺伝子の塩基配列そのものに、自閉症患者特異的な一塩基多型があることが明らかになりました。

また、ヒトの抹消血液中の好塩基球<sup>\*8</sup>にはCADPS2 のmRNAが発現していることから、患者と健常者の血中のRNAをCADPS2 の特定のエクソンを含むかたちで増幅し、その生成物を比較解析しました。その結果、一部の患者ではCADPS2 遺伝子の転写で3番目のエクソンのみがスキップする（抜け落ちる）異常な選択的スプライシングが起きていることがわかりました（図1）。

### (4) CADPS2 結合タンパク質の解析法

研究チームでは、CADPS2 遺伝子の転写で3番目のエクソンのみがスキップすることによりどんな変化が生じるか探るため、CADPS2 のエクソン3配列から翻訳されるタンパク質領域と特異的に結合するタンパク質を酵母Two-Hybrid スクリーニング<sup>\*9</sup>によって探索しました。解析の結果、エクソン3は、神経軸索<sup>\*10</sup>に沿った輸送に関与するp150<sup>Glued</sup>というタンパク質との結合に重要であり、エクソン3がスキップしたCADPS2 タンパク質は軸索終末部に輸送されないことが明らかになりました。CADPS2 は軸索終末からのBDNFの分泌に関わることから、エクソン3欠損型のCADPS2 を発現する特定の自閉症患者においては、BDNFが健常者と異なったパターンで分泌されるために、神経ネットワークの形成に異常をきたす可能性が示唆されました（図2）。

(5) その他の知見

自閉症患者の脳では、最も顕著な異常が小脳組織で観察されることが知られています。研究チームは、関連した別の研究において、CADPS2 遺伝子欠損マウスも自閉症患者に見られる特徴的な小脳の形態異常を示すことも明らかにしました（『Journal of Neuroscience』(2007年3月7日)）。

### 3. 今後の期待

自閉症の分子レベルでの診断法は、現在のところ確立されていません。今回の研究成果から、CADPS2 遺伝子の発現を調べることにより、早期での自閉症の診断が可能になると期待されます。このことは、根本的な治療法が無い現在、教育や対症的薬物治療などを早めに施すことができるため、自閉症が抱える社会的な問題の改善につながる可能性があります。また、将来的に BDNF の正常な分泌を促進するような薬剤を探索し、薬を開発するなど、自閉症の治療法の選択肢が増える可能性があります。

(問い合わせ先)

独立行政法人理化学研究所

脳科学総合研究センター 分子神経形成研究チーム

チームリーダー 古市 貞一 (ふるいち ていいち)

Tel : 048-467-6079 / Fax : 048-467-6079

脳科学研究推進部

嶋田 庸嗣

Tel : 048-467-9596 / Fax : 048-462-4914

(報道担当)

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

Tel : 048-467-9272 / Fax : 048-462-4715

Mail : koho@riken.jp

## <補足説明>

### ※1 神経栄養因子

NGF, BDNF, NT-3, NT-4 で神経栄養因子 (ニューロトロフィン) ファミリーを形成する。

細胞内においては分泌顆粒内に含まれ、細胞外へ分泌される。神経伝達物質が次の神経細胞に信号を送るのに特化しているのに対し、神経栄養因子は、神経細胞の分化を誘導する作用や、神経細胞の生存を調節する作用を持つことが知られている。

### ※2 CADPS2

CADPS2 と表記されることも多い。ヒト CADPS2 遺伝子は、自閉症発症との関連が

疑われるヒト7番染色体上の領域 (AUTS1) に存在する。この領域に存在する遺伝子で、自閉症との関連が明確に示されているものは今までにはなかった。CADPS2 タンパク質は、神経栄養因子を含む分泌顆粒に結合し、その分泌を調節する。CADPS1 が脳内に広く発現するのに対し、CADPS2 は、大脳、海馬、中脳、小脳、手綱核 (たづなかく) などの限られた細胞で強く発現する (CADPS2 と CADPS1 は異なった細胞で発現する傾向が強い)。

### ※3 脳由来神経栄養因子 (BDNF)

神経栄養因子ファミリーの分子。神経細胞の生存・分化やシナプスの機能を調節する作用の他、神経ネットワークの形成にも関与することが知られている。神経栄養因子ファミリーの中でも特に脳に多く発現し、脳の高次機能への関与なども研究されている。

### ※4 選択的スプライシング

真核生物のゲノム DNA 上にある遺伝子のタンパク質をコードする配列は、タンパク質へ翻訳される暗号となるエキソンと呼ばれる複数の配列と、その間をつなぐイントロンと呼ばれる介在配列から構成される。遺伝子は、まず、エキソンとイントロンが一続きの前駆体 mRNA に転写され、それとほぼ同時にイントロンを除去してエキソン同士を連結した成熟 mRNA の産生がおこる。このイントロンを除去し前後のエキソンを再結合する反応は、スプライシングと呼ばれ、タンパク質に翻訳されるための鋳型となる成熟 mRNA を決定する重要な分子機構である。遺伝子や細胞によっては、スプライシング反応の際に特定のエキソンをスキップした成熟 mRNA を産生する場合があります、これによって性質の異なるタンパク質の鋳型が作られることになる。これを選択的スプライシングと呼ぶ。

### ※5 一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP)

ゲノム上の DNA の配列が、生物個体によって一塩基だけ異なること。多くの一塩基多型は表現型に関係ないが、なかには個体の体質や特定の病気に関わる変異も存在する。

### ※6 レット障害

進行性の神経疾患で、X 染色体に連鎖して女兒にのみみられる。知的障害は重く、頭囲の成長や歩行に問題がある。また、常同的な手の運動を示す。

### ※7 サーカディアン・リズム

概日リズムともいう。約 24 時間の周期で繰り返す生理現象。このリズムを生む時計は、哺乳類では視交差上核にある。

### ※8 好塩基球

白血球の一種。白血球の中で最も割合が少ない。好塩基性の大きな顆粒を有する。

## ※9 酵母 Two-Hybrid スクリーニング

酵母の転写因子である GAL4 の機能回復を利用して、タンパク質間の結合を検出するスクリーニングシステム。

## ※10 軸索

神経細胞体から伸びる神経突起のひとつで、出力線維である。軸索終末には神経伝達物質を含有するシナプス小胞やペプチド、カテコールアミンなどを含む分泌顆粒があり、標的となる神経細胞の樹状突起や細胞体とシナプス結合して信号を送る。

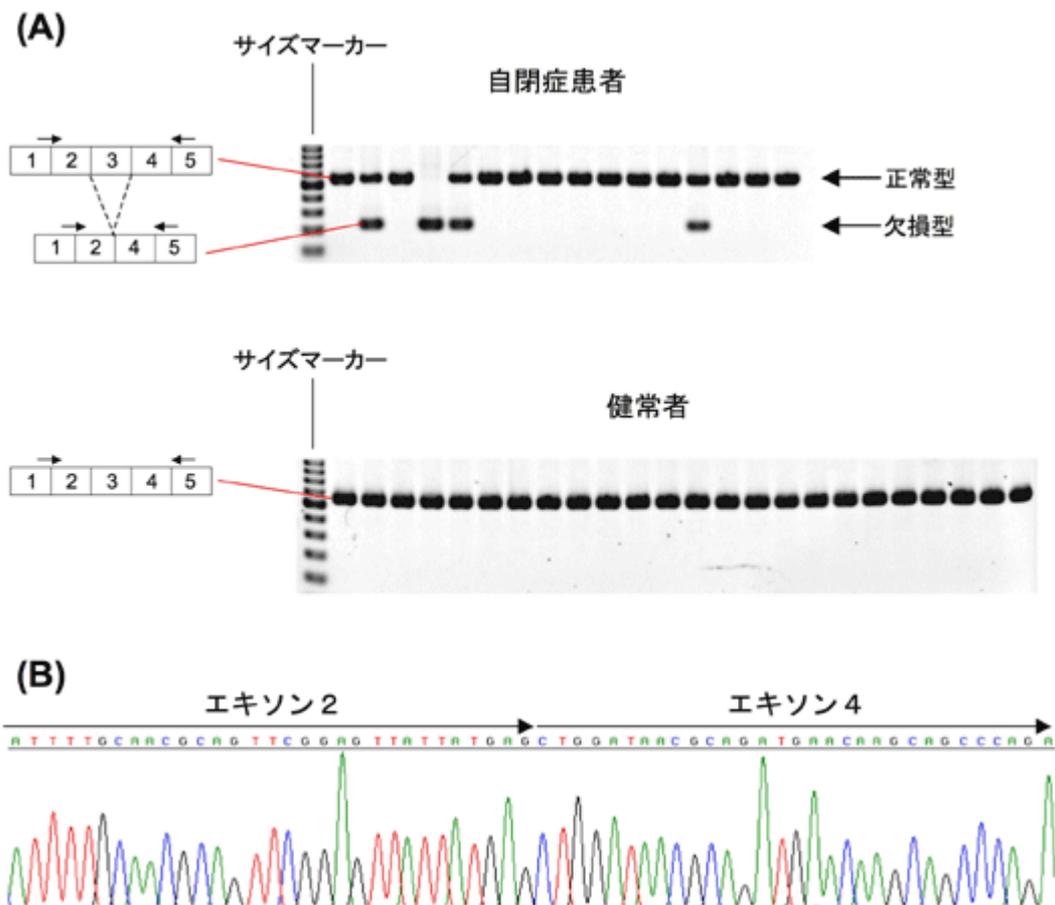


図1 自閉症患者に見られた CADPS2 の異常なスプライシング

- (A) 特定の自閉症患者において、エクソン3がスキップした異常な CADPS2 遺伝子の発現が見られた(矢印で示したプライマー配列を用い、PCR法にて検出)。健常者では、このような異常は見られなかった。
- (B) 実際にエクソン3がスキップしていることは、塩基配列のシーケンス解析によって確認された。

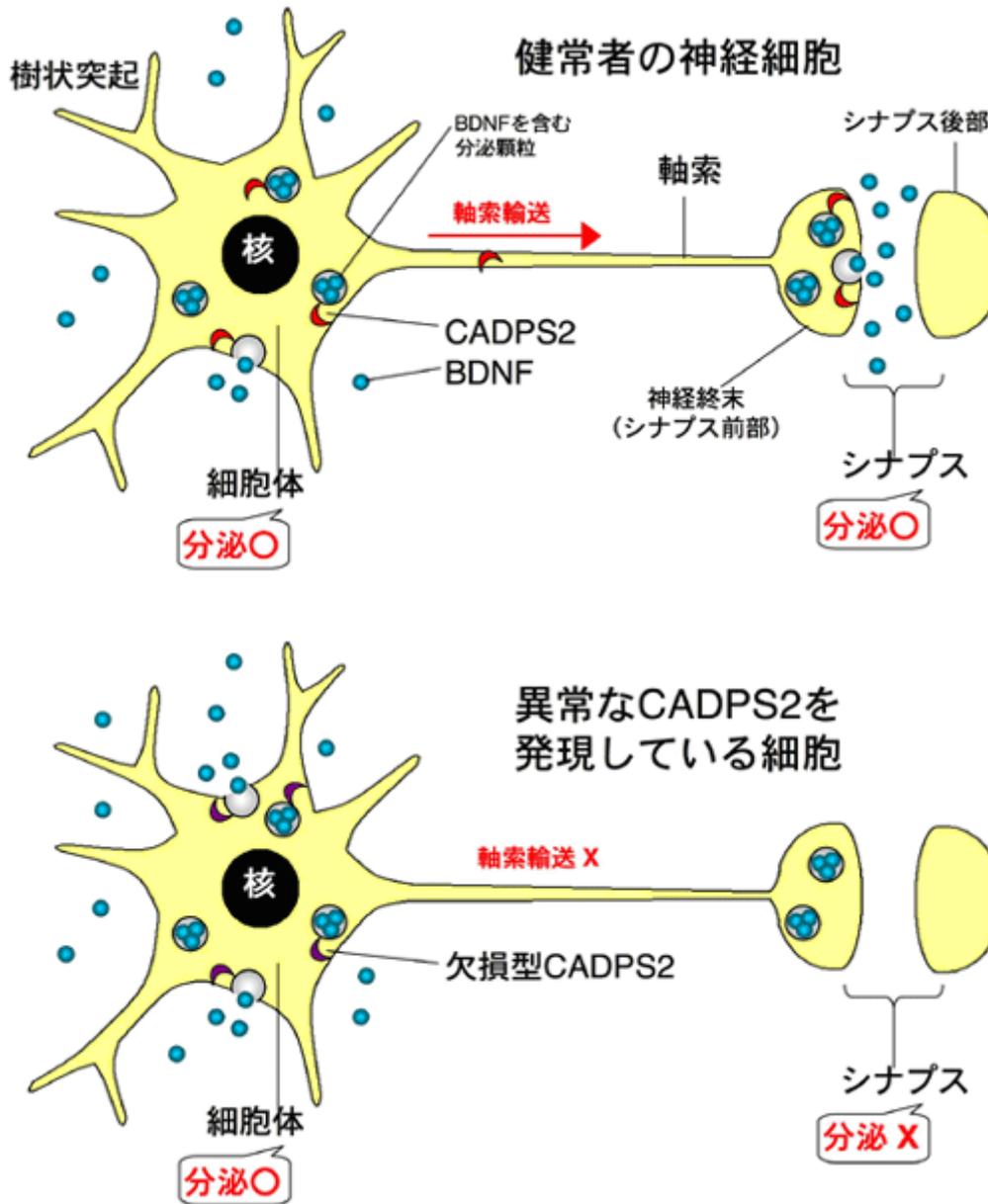


図2 自閉症患者に見られた異常なCADPS2の局所的BDNF分泌への影響

CADPS2 遺伝子欠損マウスの研究から、CADPS2 は BDNF を含む分泌顆粒膜に結合し、BDNF の分泌を調節することが明らかになった。また、自閉症患者から見つかった CADPS2 の異常な選択的スプライシングにより、細胞局所特異的な BDNF 分泌のパターンが混乱することが示唆された。これらの結果から、正常な神経ネットワークの形成に重要な BDNF の分泌異常が自閉症の発症に関与するのではないかと考えられる。