The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	自閉症スペクトラム障害関連遺伝子の神経系発達における機能解析
Author(s)	松村, 憲佑
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76501
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（松村　憲佑）	
論文題名	自閉症スペクトラム障害関連遺伝子の神経系発達における機能解析

自閉症スペクトラム障害（ASD）をはじめとする神経発達障害は、脳発達の異常によって発症すると考えられる疾患群である。近年、神経発達障害の発症割合は増加しており、疾患克服の医療ニーズおよび社会的ニーズが高まっている。特に、ASD の発症割合は 40 人に 1 人程度であり、世界的に増加傾向にある。ASD は一卵性双生児の発症一致率が約 60～90%であることから、その発症には遺伝的要因の寄与が大きいと考えられているが、多くの患者の病態を説明することができる疾患関連遺伝子は同定されておらず、約 90%の ASD 患者の病因や病態の分子基盤は解明されていない。また、中核症状に対する治療法はなく、ASD の病因や病態の分子基盤の解明とそれに基づく創薬が求められている。

近年、患者に突然生じる *de novo* 突然変異と神経発達障害のリスクとの関連性が指摘されている。特に、ASD は孤発例が多いため、*de novo* 変異はその原因として注目されている。個々の疾患関連遺伝子座の *de novo* 変異と ASD 発症との関連性を明らかにするためには、個々の *de novo* 変異に着目した生物学的な実験が必要であると考えられるが、*de novo* 変異による当該遺伝子産物の機能異常やその変異の個体レベルの表現型を解析した報告例はほとんどない。

当研究室では大阪大学医学部精神科を含む多くの研究室との共同研究で、ASD 患者と健常者両親から成る日本人家系から疾患特異的 *de novo* 変異を同定した。本研究では、独自に同定した *de novo* 変異を含め、複数の ASD 患者から変異が報告されている Pogo transposable element derived with ZNF domain（*POGZ*）、および Protein kinase D2（*PKD2*）に着目し、これらの遺伝子座の *de novo* 変異と ASD 発症のリスクとの関連性について解析した。

POGZ は神経発達障害患者から同定された *de novo* 変異数が、最も多い遺伝子の 1 つであり、POGZ の機能異常が神経発達障害のリスクになる可能性が強く示唆される。しかし、POGZ の脳発達における機能、および *POGZ* 遺伝子座の *de novo* 変異が POGZ の機能に与える影響は未解明である。そこで、*de novo* 変異が POGZ の機能に与える影響を解析した結果、ASD 患者由来の *POGZ* の *de novo* 変異によって POGZ の核局在率および DNA 結合能が低下することが明らかになった。さらに、POGZ の脳発達における機能を解析したところ、POGZ がマウス大脳皮質神経細胞の発達を制御すること、および ASD 患者由来の *de novo* 変異によりマウス大脳皮質神経細胞の発達が障害されること見出した。一方で、健常者由来の *POGZ* の *de novo* 変異はマウス大脳皮質神経細胞の発達に影響を与えないことが示唆された。興味深いことに、私たちが同定した *POGZ* の Q1042R 変異を持つ ASD 患者の iPS 細胞由来神経幹細胞も神経分化能が低いことが明らかになった。*POGZ* 遺伝子座の Q1042R 変異の個体レベルの表現型を明らかにすることを目的として、ヒトの Q1042R 変異に相当する Q1038R 変異を導入した *de novo* 変異ヘテロノックインマウス（POGZ-Q1038R ヘテロ変異マウス）を作出して表現型解析を行った結果、POGZ-Q1038R ヘテロ変異マウスにおいて、大脳皮質神経細胞の発達の異常、成体期の大脳皮質神経活動の過剰な活性化、社会性行動の低下などの ASD との関連性が示唆される表現型を見出した。また、AMPA 受容体阻害薬によって薬理学的に神経細胞の過剰な活動を抑制した結果、POGZ-Q1038R ヘテロ変異マウスの社会性行動の低下が回復することが明らかになった。これらの結果から、患者由来の *de novo* 変異による POGZ の機能異常が ASD と関連すること、および AMPA 受容体阻害薬が新たな ASD の治療薬になる可能性が示唆された。

PKD2 遺伝子産物は Protein kinase D ファミリーに属するセリン・スレオニンキナーゼである。私たちのこれまでの研究を含め、*PKD2* 遺伝子座に ASD 患者から 2 つの *de novo* 変異が同定されており、PKD2 の機能異常と ASD との関連性

が示唆されるが、PKD2 の脳発達における機能、および *de novo* 変異が PKD2 の機能に与える影響はほとんど不明である。そこで、マウス脳発達における PKD2 の機能解析を行った結果、PKD2 が大脳皮質における神経幹細胞の神経分化と神経細胞の大脳皮質表層への移動を制御することを見出した。さらに、ASD 患者由来の *PKD2* の *de novo* 変異によって、PKD2 の自己リン酸化レベル、および PKD2 の下流シグナルである ERK キナーゼのリン酸化レベルが低下し、PKD2 のキナーゼ活性が低下する可能性が示唆された。以上の結果から、*PKD2* の *de novo* 変異による PKD2 の機能低下が、神経細胞の発達に障害をもたらすこと、および ASD 発症のリスクファクターの 1 つである可能性が示唆された。

本研究では、これまでに解析例の少ない ASD 関連遺伝子の個々の *de novo* 変異に着目した検討を行った。*POGZ* に関する研究では、ASD 患者由来の iPS 細胞と変異導入マウスとを融合的に解析するという世界的に先進的な手法を用い、*POGZ* の *de novo* 変異による大脳皮質神経細胞の発達の低下が、成体期における神経細胞の過剰な活性化と社会性行動の低下に繋がるという新たな仮説と、ASD の中核症状を標的とした新たな治療戦略を示すことができた。また、*PKD2* に関する研究では、ASD 患者由来の *PKD2* の *de novo* 変異が、PKD2 のキナーゼ活性に影響を与えるという、PKD および類縁の PKC ファミリーキナーゼとしては初めての知見を得た。以上のように、本研究成果は ASD 関連遺伝子の個々の *de novo* 変異に着目した生物学的研究の重要性を示すものである。今後、ASD の更に詳細な分子病態を解明することで、分子病態に基づいた ASD の新たな亜分類の提案と患者選択的な治療戦略の構築に貢献できると期待され、本研究は ASD 研究において重要な位置を占めるものであると考えられる。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　松村　憲佑　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教授	橋本　均
	副 査　教授	藤尾　慈
	副 査　教授	平田　收正

論文審査の結果の要旨

「自閉症スペクトラム障害関連遺伝子の神経系発達における機能解析」と題する論文において学位申請者は、自閉症スペクトラム障害(ASD)関連遺伝子 *POGZ* および *PKD2* に着目し、それぞれの遺伝子産物の脳発達における機能および個々の遺伝子の患者特異的 *de novo* 変異がその遺伝子産物に与える影響を見出した。本研究は、ASD 関連遺伝子の個々の *de novo* 変異に着目した生物学的研究の重要性を示すものであるとともに、分子病態に基づいた ASD の治療戦略の構築に貢献すると期待される。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

ASD は根本的な治療法が存在せず、その分子病態はほとんど不明な神経発達障害である。ASD の多くは孤発例であるため、患者に生じる *de novo* 変異がその原因として注目されているが、疾患との関連性は未解明である。これまでに申請者らは、日本人家系から ASD と関連する *de novo* 変異を同定するなど、遺伝学的な解析を実施してきた。本学位論文において学位申請者は、独自に同定した *de novo* 変異を含め、複数の ASD 患者から変異が報告されていることから ASD との関連性が強く示唆される POGZ および PKD2 の *de novo* 変異の表現型解析を実施し、以下のことを明らかにした。

1. POGZ が神経発達に関与する遺伝子ネットワークの発現調節を介して大脳皮質神経細胞の発達を制御する可能性を示唆する結果を得た。
2. POGZ の ASD 患者由来の *de novo* 変異は POGZ の核局在、および大脳皮質神経細胞の発達における機能を低下させる一方で、健常者由来の *de novo* 変異はそれらに影響を与えないことを示した。
3. POGZ に *de novo* 変異を持つ ASD 患者 B 細胞から樹立した iPS 細胞由来の神経幹細胞は神経分化能の低下および自己増殖能の増加を示すことを明らかにした。
4. POGZ の患者由来の *de novo* 変異に対応する変異を導入したマウス（POGZ 変異マウス）は大脳皮質興奮性神経細胞の発達の低下、大脳皮質興奮性神経細胞の過剰な活性化、および ASD をはじめとする神経発達障害と関連する行動異常の表現型を示すことを明らかにした。
5. POGZ 変異マウスの社会性行動の低下は、AMPA 受容体阻害薬による薬理学的な神経活動の抑制によって回復することを見出した。
6. PKD2 は胎生期の大脳皮質において、神経分化および神経発達を制御することを明らかにした。
7. *PKD2* の ASD 患者由来の *de novo* 変異によって PKD2 のキナーゼ活性が低下する可能性を示した。

POGZ に関する研究では、ASD 患者由来の iPS 細胞と変異導入マウスとを融合的に解析するという世界的に先進的な手法を用い、POGZ の *de novo* 変異による大脳皮質神経細胞の発達の低下が、成体期における神経細胞の過剰な活性化と社会性行動の低下に繋がるという新たな仮説と、ASD の中核症状を標的とした新たな治療戦略を示すことができた。また、PKD2 に関する研究では、ASD 患者由来の PKD2 の *de novo* 変異が PKD2 のキナーゼ活性に影響を与えるという、PKD および類縁の PKC ファミリーキナーゼとしては初めての知見を得た。以上、本研究の成果は、*de novo* 変異による POGZ および PKD2 の機能異常が ASD 発症のリスクになる可能性を示しており、ASD の分子病態の一端の解明に貢献すると考えられることにより、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。