

グリア細胞機能不全によるレット症候群発症機序解明と治療法開発

九州大学大学院医学研究院 基盤幹細胞学分野

中嶋 秀行

1.緒言

精神疾患・神経発達障害は「神経細胞（ニューロン）に生じた自律的な障害が疾患発症の原因になる」と考えられてきたが、最近、「非神経細胞（グリア細胞）の機能異常に起因する非自律的な神経障害が疾患発症に深く関わること」が明らかになってきた。X染色体上に存在する *methyl-CpG binding protein 2 (MECP2)* 遺伝子の変異は、Rett 症候群（RTT）をはじめ、自閉症、てんかん、統合失調症などを含めた様々な精神疾患・神経発達障害への関与が示唆されている¹⁾。RTT は獲得された運動、言語能力の喪失、精神遅滞、自閉症傾向などを示す進行性の神経発達障害であり、神経系細胞特異的に MeCP2 を欠損したマウスは RTT 患者と類似の表現型を示すこと²⁾から、MeCP2 の神経系での機能が重要であることが示唆されているものの、RTT の表現型に関与する下流標的因子は未だに同定されておらず、RTT 発症機序の全貌は依然不明なままである。

申請者は以前、野生型及び MeCP2 欠損マウス大脳皮質からアストロサイトを単離・培養し、アストロサイト培養上清（ACM）に含まれる液性因子を質量分析法により解析した。その結果、アミノ酸の一種である「タウリン」が野生型と比較し MeCP2 欠損 ACM で著しく減少していることを突き止めた（未発表）。タウリンは浸透圧調節や細胞内カルシウム濃度維持、抗酸化作用など細胞恒常性を保つ役割を持ち、中枢神経系の発達に重要な役割を果たすことが知られている。また海馬初代ニューロンにタウリンを投与すると樹状突起やシナプス形成が促進されることが報告されている³⁾。これらの結果及び研究背景から、申請者は MeCP2 の機能異常によるアストロサイトでのタウリン分泌量低下が、ニューロンの樹状突起形成・シナプス機能異常を引き起こし RTT 病態発症の原因になり得るという独自の新規病態発症メカニズムを考えた。

2.方法

まず野生型及び MeCP2 欠損マウス大脳皮質からアストロサイトを単離・培養し、アストロサイト培養上清（ACM）を調整した。これらの ACM を野生型の初代培養ニューロンに添加し、ニューロンの形態形成に与える影響を免疫染色により解析した。また MeCP2 欠損 ACM

にタウリンを添加することで、ニューロンの形態形成における表現型が改善されるかどうかを確認した。

次に MeCP2 欠損マウスにタウリンを投与し、MeCP2 欠損マウスにみられる RTT 様の表現型（短寿命、低活動性、不安様行動等）が回復するかどうかを RTT 様症状スコアリングや行動解析（オープンフィールドテストや恐怖条件付けテスト）を用いて検討した。

3.結果

これまでの先行研究により、MeCP2 欠損 ACM はニューロンの正常な樹状突起形成を阻害することが報告されている⁴⁾。そこで、野生型及び MeCP2 欠損マウス大脳皮質からアストロサイトを単離・培養し、ACM を調整後、これらの ACM を野生型の初代培養ニューロンに添加した。その結果、確かに MeCP2 欠損 ACM はニューロンの正常な樹状突起形成を阻害することが確認された。そこで、MeCP2 欠損 ACM にタウリンを添加することで、ニューロンの形態形成における表現型が改善されるかどうかを確認した。その結果、タウリンの添加により、MeCP2 欠損 ACM によるニューロンの異常な樹状突起形成が改善することが明らかとなった（図 1）。

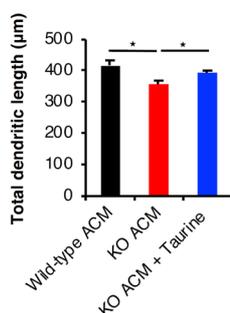


図1. MeCP2欠損ACMはニューロンの正常な樹状突起形成を阻害するが、タウリンを投与することにより樹状突起形成異常が改善する。

次に MeCP2 欠損マウスにタウリンを 100 mg/kg/day の濃度で投与し、MeCP2 欠損マウスにみられる RTT 様の表現型が回復するかどうかを検討した。MeCP2 欠損マウスは成長遅滞を示すことが知られているが、タウリンを投与することで、MeCP2 欠損マウスの体重が増加することが明らかとなった（図 2a）。また、RTT 様症状スコアリング⁵⁾を測定した結果、タウリン投与により、RTT 様症状スコアリングが減少する、つまり RTT 様の症状が改善することがわかった（図 2b）。さらに、タウリンを投与することで MeCP2 欠損マウスの寿命が増加することが明らかとなった（図 2c）。

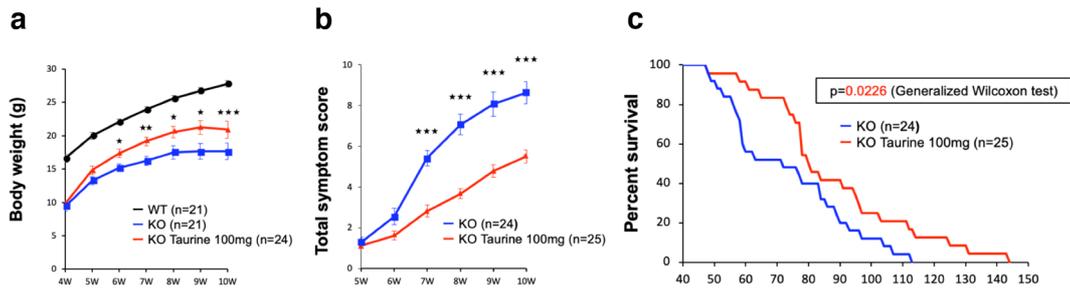


図2. MeCP2欠損マウスへのタウリン投与によりRTT様の表現型が改善する。
 a. タウリンの投与によりMeCP2欠損マウスの体重が増加する。b. タウリンの投与によりRTT様の表現型が改善する。c. タウリンの投与によりMeCP2欠損マウスの寿命が増加する。

また、MeCP2 欠損マウスでみられる行動異常がタウリンの添加により改善するかどうかについて、オープンフィールドテストおよび恐怖条件付けテスト（文脈・音）を行い検討した（図 3a）。その結果、タウリンを投与することにより MeCP2 欠損マウスでみられる活動量の低下が改善することが明らかとなった（図 3b）。しかしながら、MeCP2 欠損マウスは、文脈条件付け恐怖記憶テスト、音条件付け恐怖記憶テストともに、野生型マウスと比較して Freezing 反応時間に差は見られなかった（図 3c）。

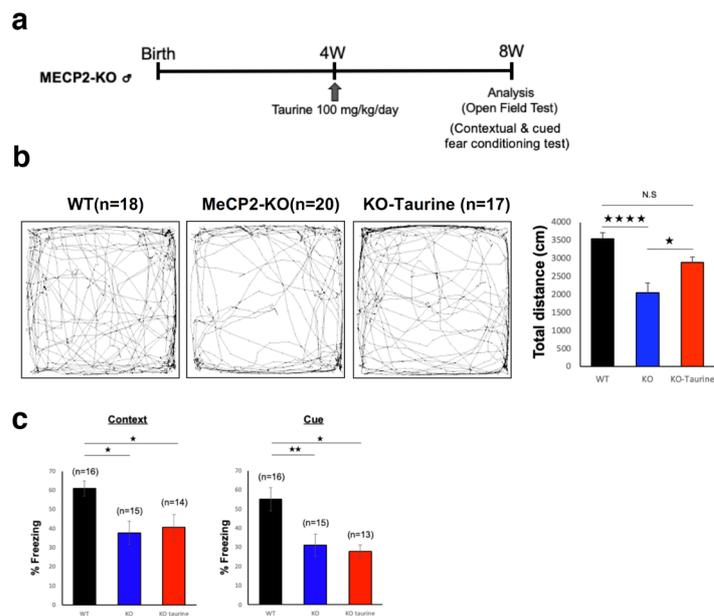


図3. MeCP2欠損マウスへのタウリン投与により自発的活動が増加する。
 a. 実験の模式図。b. オープンフィールドテストの結果。タウリンの投与によりMeCP2欠損マウスの自発的活動が増加する。
 c. 文脈 (Context) および音 (Cue) 条件付け恐怖記憶テストの結果。マウスに恐怖条件付けを行い、1日後に文脈条件付け恐怖記憶テストを行い、2日後に音 (Cue) 条件付け恐怖記憶テストを行った。タウリンを投与してもMeCP2欠損マウスと比較してFreezing反応時間に変化はみられなかった。

4. 考察

本研究では、浸透圧調節や細胞内カルシウム濃度維持、抗酸化作用など細胞恒常性維持に重要な役割をもつタウリンを MeCP2 欠損マウスへ投与することにより、MeCP2 欠損マウスの

表現型が一部改善することが明らかとなった。また、MeCP2 欠損 ACM によるニューロンの異常な樹状突起形成がタウリンの投与により改善することが示された。今後は、MeCP2 欠損マウスへのより効果の高いタウリン投与濃度を検討することにより、RTT の治療に向けた研究の発展が期待される。

また、タウリンの投与がどのようなメカニズムにより MeCP2 欠損マウスの表現型を改善しているかについて解析することが課題であり、今後の研究により新しい治療法の開発への展開が期待される。

5.結語

これまで RTT について様々な研究がなされてきたが、未だに有効な治療法は存在しない。申請者はタウリン投与により MeCP2 欠損マウスの表現型が一部改善することを明らかにしたが、MeCP2 欠損マウスの表現型は完全には改善していない。今後新しい視点に基づいた新規治療法の開発が望まれる。

6.文献

- 1) Chahrour, M. & Zoghbi, H. Y. The story of Rett syndrome: from clinic to neurobiology. *Neuron* 56, 422–437 (2007).
- 2) Chen, R. Z., Akbarian, S., Tudor, M. & Jaenisch, R. Deficiency of methyl-CpG binding protein-2 in CNS neurons results in a Rett-like phenotype in mice. *Nat Genet* 27, 327–331 (2001).
- 3) Shivaraj, M. C. *et al.* Taurine induces proliferation of neural stem cells and synapse development in the developing mouse brain. *PLoS ONE* 7, e42935 (2012).
- 4) Ballas, N., Liroy, D. T., Grunseich, C. & Mandel, G. Non-cell autonomous influence of MeCP2-deficient glia on neuronal dendritic morphology. *Nat Neurosci* 12, 311–317 (2009).
- 5) Guy, J., Gan, J., Selfridge, J., Cobb, S. & Bird, A. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 315, 1143–1147 (2007).