

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	曹 雪杉
論文審査担当者	主 査 樋口 京一 副 査 新藤 隆行 ・ 沢村 達也
論文題目	
Inhibition of CASK expression by adeno associated virus-mediated RNA interference in medial prefrontal cortex affects social behavior in the adult mouse. (アデノ随伴ウイルスを用いた RNA 干渉による内側前頭前皮質での CASK の発現抑制で成体マウスの社会行動が阻害される。)	
(論文の内容の要旨)	
<p>〔背景と目的〕 Calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase (CASK)は、membrane associated guanylate kinase protein (MAGUK)ファミリータンパク質の一種であり、主にシナプス終膜を裏打ちする形で存在し、様々なタンパク質と結合することによりシナプスの形成や成熟に寄与していることが知られている。CASK 遺伝子は X 染色体上に存在し、近年、様々な神経発達障害の患者から遺伝子変異が見つかった。この中でも特に、X 染色体劣性遺伝性神経発達障害である microcephaly with cerebellar and pontine hypoplasia (MICPCH)症候群（小脳・橋低形成を伴う小頭症候群）の原因遺伝子として注目されている。MICPCH 症候群は女性特有の疾患であり、小脳・橋低形成の他に、社会性の異常、知的障害、點頭てんかんなどを伴うことが知られている。私が所属する分子細胞生理学教室では、これまで CASK のノックアウトマウスを用いて、MICPCH 症候群の病態研究を行ってきた。CASK のオスマたはホモのノックアウトマウスは、生直後致死となる。CASK のメスヘテロノックアウトマウスは、正常マウスに比べて小さく、成長遅延を伴うが、多くの個体で成獣になるまで生き延びる。これまでの解析により、CASK ヘテロノックアウトマウスの脳では、X 染色体不活性化により CASK が正常に発現する細胞と、CASK の欠損細胞がランダムなモザイク状に入り混じっており、これによって作られる神経回路異常が、病態の原因となっていることを見出している。CASK が完全に欠損した遺伝子変異は、女性患者からしか見つかっていないが、これは CASK の完全欠損では男性の場合胎生致死になるからだと考えられる。一方、CASK のハイボモルフ変異は男性患者からも発見されており、社会行動異常、知的障害などの症状を呈することが知られている。男性患者の場合、X 染色体不活性化が行わないため、CASK ヘテロノックアウトマウスで得られた知見とは別の病態メカニズムによって発症している可能性が考えられる。本研究では、CASK 変異によって引き起こされる男性患者での神経発達障害の病態メカニズムを研究する目的で、代表的な症状である社会行動の異常に着目し、責任領域として知られる前頭前皮質で CASK の発現をノックダウンすることで、どのような異常がみられるかについて検討を行った。</p> <p>〔材料及び方法〕 生後 20 日前後のオスの C57Bl/6 マウスを脳定位固定器にセットし、頭皮を剥がし、頭蓋骨に穴を開け、両側前頭前皮質に CASK shRNA 発現アデノ随伴ウイルス (AAV) またはコントロールとして EGFP 発現 AAV をインジェクションした。2 カ月齢以降のウイルスインジェクションマウスに対して、オープンフィールドでの行動観察、幼若マウスとの接触試験、three-chamber によるマウス標的と無生物標的との接触試験 (社会的認識)、既知マウスと新奇マウスとの接触試験 (社会的記憶) を行い、統計学的に評価を行った。</p> <p>〔結果〕 前頭前皮質特異的 CASK ノックダウンマウスでは、オープンフィールドでの一定時間の移動距離の低下が見られたものの、移動速度や不安様行動、繰り返し行動 (over grooming) の異常は見られなかった。幼若マウスとの接触到低下がみられた。Three-chamber 試験では、無生物標的よりマウス標的に対する接触時間が多く、社会的認識能力に異常は見られなかったが、既知マウスと新奇マウスで接触時間に有意な差がみられず、社会的記憶が低下していることを示す結果が得られた。</p>	

〔結論〕 今回の研究は、CASK の発現を操作したマウスで行動実験を行った世界で最初の例である。前頭前皮質で CASK の発現を抑制することにより、神経発達障害の代表的な症状である社会行動の異常が見られ、特に社会的記憶力が障害されていることを突き止めた。本研究により、CASK 変異による神経発達障害の病態を解明していく上での礎となる知見を得ることができた。