

20. 自閉スペクトラム症患者の優れた記憶力の分子機序

群馬大学大学院医学系研究科薬理学講座 教授 川辺 浩志

概要

本研究は、自閉スペクトラム症（ASD）の発症機構と、一部患者に認められる記憶力向上の分子基盤を明らかにすることを目的として、ASD リスク遺伝子候補である E3 ユビキチンリガーゼ X に着目して行った（特許申請準備中により非公開）。X は標的タンパク質のユビキチン化を介して分解や局在、機能を制御する分子であり、神経細胞のシナプス恒常性維持に重要な役割を担うと考えられる。X 欠損マウスの行動解析では、従来確認していた空間記憶の向上に加え、新たに社会性の低下と恐怖記憶の亢進を見出した。これにより、X 欠損が ASD 様表現型と広範な記憶機能変化の双方に関与する可能性が示された。また、国立成育医療研究センターとの共同研究により、ASD 患者で X 変異が有意に多いことが示され、動物モデルで得られた知見のヒト病態との関連が支持された。さらに、新規超解像蛍光顕微鏡技術を用いて、ASD 関連分子のシナプス局在を高精度に観察する基盤を構築した。以上より、X によるシナプス後部タンパク質の量・局在・代謝回転の制御異常が、ASD 発症と記憶機能変化の共通基盤となる可能性が強く示唆された。

背景および目的

自閉スペクトラム症（ASD）は有病率が高く、社会的影響の大きい神経発達症である。一方で、その症状は多様であり、社会性の低下やこだわりの強さに加えて、一部の患者では優れた記憶力がみられることが知られている。しかし、ASD の病態全体を扱う研究は多い一方で、このような個々の症状の分子機構に着目した研究は十分ではなかった。そこで本研究では、ASD の発症機構と、一部患者にみられる記憶力向上の分子基盤を明らかにすることを目的として、ASD リスク遺伝子候補である E3 ユビキチンリガーゼ X（特許申請準備中により非公開）と、その標的候補分子 Y（特許申請準備中により非公開）に着目した。

申請者らは予備データとして、興奮性神経細胞特異的 X 欠損マウスにおいて、海馬での Y タンパク質発現量増加、海馬 CA1 領域における後期長期増強（L-LTP）の増強、空間記憶能力の向上、運動協調能の低下を見出していた。また、X 欠損 Y ヘテロマウスでは、Y 発現量増加と L-LTP 増強がコントロールレベルまで回復したことから、X による Y のユビキチン化・分解制御の破綻が、シナプス可塑性異常と記憶力向上の原因である可能性が示唆されていた。これらの所見は、一部の ASD 患者にみられる優れた記憶力や不器用さとも関連しうると考えられた。

以上を背景として、本研究は当初、X による Y ユビキチン化の破綻が ASD 様表現型および記憶力向上にどのようなつながるかを、マウス解析と東北メディカル・メガバンク機構（ToMMo）の ASD 患者ゲノムデータ解析を組み合わせることを目的として開始した。しかし、ToMMo との共同研究では倫理申請に想定以上の時間を要し、研究期間内に計画していた解析を完了することができなかった。そこで本研究では、X 欠損マウスの行動学的解析、国立成育医療研究センターとの共同研究によるヒト ASD 患者における X 変異の検討、な

らびに新規超解像蛍光顕微鏡を用いた形態学的解析を進めることにより、X 欠損による ASD 様病態と記憶機能変化の関連を明らかにすることを目的とした。

方法

本研究では、まず X 欠損マウスを用いて行動実験を行い、社会性および記憶機能の評価を行った。記憶機能については、従来着目していた空間記憶に加えて、恐怖条件づけ課題を用いることで恐怖記憶の解析も行った。これにより、X 欠損による記憶力向上が特定の課題に限られるのか、それともより広い神経回路機能の変化によるものかを検討した。

また、ヒト ASD との関連を検討するため、ToMMo との共同研究に加えて、国立成育医療研究センターとの共同研究を進め、ASD 患者における X 変異の頻度を検討した。

さらに、シナプスにおける ASD 原因遺伝子産物の局在を解析するため、新規超解像蛍光顕微鏡技術を用いた観察系を構築・運用した。本技術では、従来法では十分に可視化できなかったシナプス後部タンパク質の微細な局在を高解像度で観察するとともに、より生体内構造を正確に保持した状態で観察できる技術の完成を目指した。

結果および考察

本研究により、X 欠損マウスにおいて社会性の低下を新たに見出した。これは、従来得られていた記憶関連表現型に加えて、ASD の中核症状の一つである社会性障害が認められたことを意味しており、本マウスが ASD 病態研究のモデルとして有用であることを示す重要な成果である。X 欠損は単なる記憶機能の変化にとどまらず、ASD 様病態全体に関わる可能性が示された。

また、X 欠損マウスでは恐怖記憶の向上が認められた。申請時には主として空間記憶や海馬シナプス可塑性の増強に注目していたが、今回、恐怖条件づけ課題においても記憶保持の亢進が認められたことから、X 欠損による記憶力向上はより広い記憶システムに関係している可能性が示唆された。ASD 患者では、恐怖や不安に関連する記憶が強く保持される症例も少なくなく、本研究で認められた恐怖記憶の向上は、そのような臨床像との関連を考えるうえでも重要な知見である。恐怖記憶は扁桃体・海馬・前頭前野など複数の脳領域の協調に依存するため、X がシナプス後部タンパク質の量や局在を制御することで、神経回路レベルで記憶の固定化や保持を促進している可能性が考えられる。

ヒト ASD との関連については、国立成育医療研究センターとの共同研究により、ASD 患者において X 変異が有意に多いことが示された。これは、マウスで得られた表現型がヒト ASD の遺伝学的背景とも関連することを示す重要な成果であり、X が ASD の発症機構に関与する可能性を強く支持するものである。

さらに、新規超解像顕微鏡技術を用いて ASD 原因遺伝子産物のシナプス局在を観察できたことも重要な成果であった。本研究では、実質分解能約 8 nm の新規超解像蛍光顕微鏡技術を活用し、従来法では十分に可視化できなかったシナプス後部タンパク質の微細な局在を解析した。加えて、より生体内構造を正確に保持した状態で観察を行うための技術を完成させたことで、ASD 原因遺伝子産物のシナプス内配置をより高精度に捉えることが可能となった。これにより、X が制御する標的分子群の空間的配置異常を今後精密に解析するための基盤が整った。

以上の結果から、X 欠損は、社会性低下という ASD 様表現型と、恐怖記憶を含む記憶力向上の双方を引き起こしうること、さらにその背景にはシナプス後部におけるタンパク質分解制御の破綻が存在する可能性が高いこ

とが示された。特に、X が E3 ユビキチンリガーゼとしてシナプス後部タンパク質の量・局在・代謝回転を制御し、その異常が神経回路機能のバランスを変化させるという作業仮説は、本研究により一層強く支持された。今後は、今回得られたマウス表現型、ヒト遺伝学的所見、ならびに超解像顕微鏡による局在解析を統合し、X 欠損による ASD 発症機構と記憶力向上の機序の解明へと発展させたい。

また、財団からの助成金は、行動実験、分子生物学的解析、共同研究に伴う試料・データ解析、および新規超解像顕微鏡を用いた観察系の構築と運用を支え、本研究を多面的かつ実証的に進めるうえで不可欠であった。基礎研究と臨床的意義を結びつける本研究の遂行において、助成金は極めて重要な役割を果たした。

(完)

引用文献

- 1) Ambrozkiwicz, M.C., Schwark, M., Kishimoto-Suga, M., Borisova, E., Hori, K., Salazar-Lázaro, A., Rusanova, A., Altas, B., Piepkorn, L., Bessa, P., Schaub, T., Zhang, X., Rabe, T., Ripamonti, S., Rosário, M., Akiyama, H., Jahn, O., Kobayashi, T., Hoshino, M., Tarabykin, V., and *Kawabe, H. Polarity acquisition in cortical neurons is driven by synergistic action of Sox9-regulated Wwp1 and Wwp2 E3 ubiquitin ligases and intronic miR-140. *Neuron*, 2018, 100 : 1097–1115.e15.
- 2) Ambrozkiwicz, M.C., Borisova, E., Schwark, M., Ripamonti, S., Schaub, T., Smorodchenko, A., Weber, A.I., Rhee, H.J., Altas, B., Yilmaz, R., Mueller, S., Piepkorn, L., Horan, S.T., Straussberg, R., Zaqout, S., Jahn, O., Dere, E., Rosário, M., Boehm-Sturm, P., Borck, G., Willig, K.I., Rhee, J., Tarabykin, V., and *Kawabe, H. The murine ortholog of Kaufman oculocerebrofacial syndrome protein Ube3b regulates synapse number by ubiquitinating Ppp3cc. *Mol. Psychiatry*, 2021, 26 : 1980–1995.
- 3) Altas, B., Rhee, H.J., Ju, A., Solís, H.C., Karaca, S., Winchenbach, J., Kaplan-Arabaci, O., Schwark, M., Ambrozkiwicz, M.C., Lee, C., Spieth, L., Wieser, G.L., Chaugule, V.K., Majoul, I., Hassan, M.A., Goel, R., Wojcik, S.M., Koganezawa, N., Hanamura, K., Rotin, D., Pichler, A., Mitkovski, M., de Hoz, L., Pouloupoulos, A., Urlaub, H., Jahn, O., Saher, G., Brose, N., Rhee, J., and *Kawabe, H. Ned4-2-dependent regulation of astrocytic Kir4.1 and Connexin43 controls neuronal network activity. *J. Cell Biol.*, 2024, 223 : e201902050.