

報道関係者 各位

鳥取大学医学部
令和2年7月10日

ダウン症候群の原因遺伝子解明や治療薬開発へ前進 ～独自のダウン症候群モデルマウスの作製に成功～

日頃より、鳥取大学医学部の教育・研究活動へのご理解・ご協力をいただき、誠にありがとうございます。

このたび、**本学教員が、ダウン症候群の原因解明の一助となるモデルマウスの作製に成功しましたのでお知らせします。**

つきましては、取材についてご理解とご協力を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

【概要】

ダウン症候群(通称;ダウン症)は、通常は2本であるヒト21番染色体が、3本になることで引き起こされる先天性疾患で、未だ、どのようなヒト21番染色体上の遺伝子(群)がそれらの症状に関係しているのかは不明な部分が多いのが現状です。

この謎を解明するため、ダウン症特有の表現型を示すモデルマウスが作製されていますが、これまでのヒト21番染色体をマウスに移入する技術では、組織間で保持率にばらつきが見られるという大きな問題がありました。

このたび、本学部 生命科学科 細胞ゲノム機能学分野の香月康宏准教授らの研究グループは、鳥取大学発の独自技術であるマウス人工染色体ベクターを用いて、ヒト21番染色体を巨大な領域のまま移入したマウスの作製に成功しました。これらのマウスでは、導入したヒト21番染色体領域が安定的に保持され、ダウン症の特徴的な症状がみられることから、ダウン症の研究において極めて有用な資材になると考えられます。

このモデルマウスにより、ダウン症の原因遺伝子解明や症状改善のための治療薬の開発が前進することが期待されます。

つきましては、下記のとおり、記者説明会を開催しますので、是非とも取材いただきますようよろしくお願いいたします。

記

【記者説明会】

- ◆日時：令和2年7月15日(水) 11時00分～
- ◆場所：鳥取大学医学部附属病院 会議室2 (第二中央診療棟2階)
- ◆出席者：鳥取大学医学部生命科学科細胞ゲノム機能学分野
鳥取大学染色体工学研究センター 准教授 香月 康宏

【研究について】	【取材について】
<p>鳥取大学医学部生命科学科細胞ゲノム機能 学分野／染色体工学研究センター 准教授 香月 康宏 TEL:0859-38-6219 E-mail:kazuki@tottori-u.ac.jp</p>	<p>鳥取大学米子地区事務部総務課広報係 TEL:0859-38-7037 FAX:0859-38-7029 E-mail: me-kouhou@adm.tottori-u.ac.jp</p>

新たなダウン症候群モデルマウスの作製に成功

ポイント

- ・ MAC ベクターを用いた染色体工学技術により新たなダウン症候群モデルマウス「TcMAC21 マウス」の作製に成功しました。
- ・ ヒト 21 番染色体長腕領域約 30Mb を搭載した MAC ベクターは「TcMAC21 マウス」の各組織で極めて安定に保持され、ヒト 21 番上の遺伝子の約 93%がトリソミーでした。
- ・ 「TcMAC21 マウス」はダウン症候群で見られる種々の症状（心奇形、頭部顔面骨格異常、小脳の萎縮、血液学的異常、記憶学習能力の低下）を呈しました。

概要

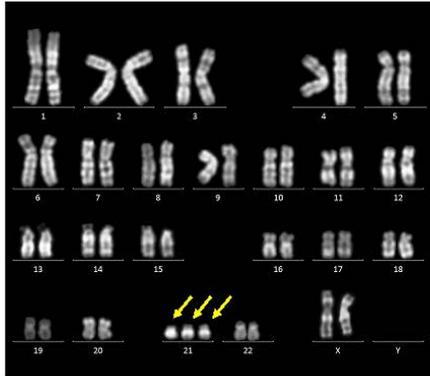
鳥取大学医学部生命科学科／染色体工学研究センター 香月康宏准教授、Johns Hopkins 大学 Roger H. Reeves 教授、東北大学 清水律子教授、ヤマザキ動物看護大学 富田幸子教授らは鳥取大学発の技術である MAC ベクターを用いて、新たなダウン症候群モデルマウス作製に成功しました。本研究成果は「eLife」2020 年 6 月 29 日(オンライン版)に掲載されました。本研究成果はダウン症候群の様々な症状に対応する原因遺伝子の解明や種々の症状改善のための治療法、治療薬開発にとって極めて有用な研究資材となることが期待されます。

背景

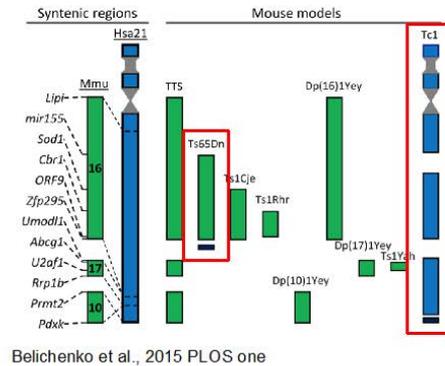
ダウン症候群（通称：ダウン症）はヒト 21 番染色体のトリソミー（正常はヒト 21 番が 2 本だが 3 本になること）によって引き起こされる先天性疾患です。ダウン症の発症率は約 700 人に 1 人と推察されています。ダウン症の症状として、知的障害、特異的顔貌、心奇形や白血病の頻度が高いなどの様々な症状が見られます。一方、どのようなヒト 21 番染色体上の遺伝子（群）がそれらの症状に関係しているのかは不明な部分が多いのが現状です。これまでにダウン症候群の各症状に対する原因遺伝子の解明や治療薬開発を目的として、いくつかのグループからダウン症特有の表現型を示すモデルマウスが作製されてきました（図 1）。しかしながら、部分トリソミー（21 番上の遺伝子の一部がトリソミー）やモザイク（ヒト 21 番染色体が細胞から脱落）という課題があり、ヒト 21 番上の遺伝子をより多く、かつ安定的に保持するモデルマウスの開発が求められてきました。

図1 研究背景

ダウン症候群の染色体分析像



これまでのダウン症候群モデルマウス

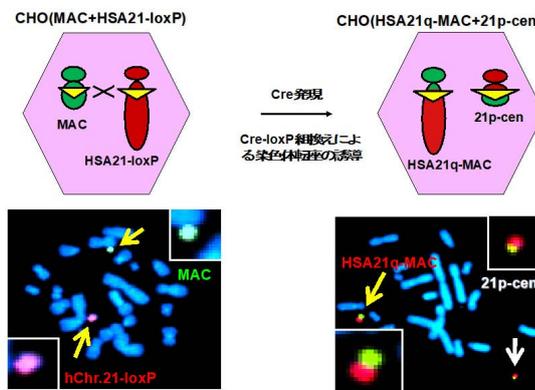


- ・ Ts65Dn: 世界初のモデルマウスであり、広く研究に使用されてきましたが、**部分トリソミー (52%)** という課題がありました。
- ・ Tc1: 世界初のHSA21を持つモデルマウスだが、**部分トリソミー (74%)** であり**モザイク**という課題がありました。

研究成果

上記課題を解決するために、我々は新たなダウン症候群モデルマウス作製を行いました。まず、初めにマウスにおいて極めて安定に保持される独自のマウス人工染色体 (Mouse Artificial Chromosome: MAC) ベクターへ染色体工学技術 (相同組換え、染色体導入、染色体転座) を駆使することにより、ヒト 21 番染色体長腕領域 (約 30Mb) を搭載することに成功しました (HSA21q-MAC と呼ぶ) (図 2)。

図2 MACベクターへのヒト21番染色体長腕の搭載方法



染色体工学技術 (相同組換え、染色体導入、染色体転座) により、MACベクターへヒト 21 番染色体長腕領域 (約 30 Mb) を搭載することに成功しました。

次にこの HSA21q-MAC を染色体導入技術を用いてマウス ES 細胞に導入後、キメラマウスを作製し、さらに子孫に伝達するマウス系統の樹立に成功しました (TcMAC21 マウスと命名) (図 3A)。染色体解析の結果、HSA21q-MAC は宿主のマウス染色体に挿入されることなく、独立に存在していました (図 3B)。

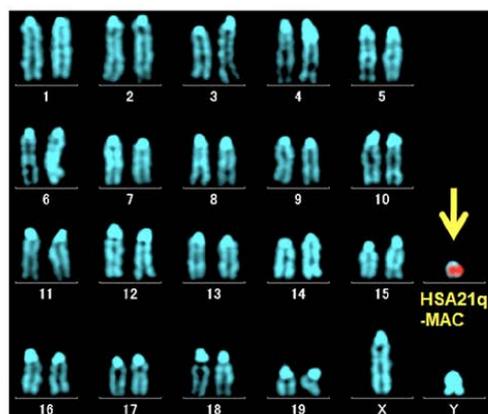
図3 ダウン症モデルマウスの作製に成功

A モデルマウスの写真



メス オス

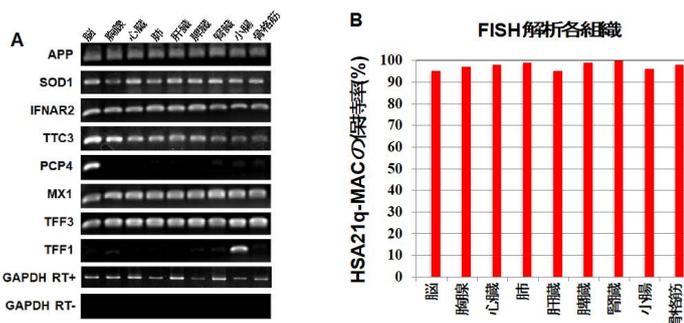
B モデルマウスの核型解析



- ・ (A) 新たなダウン症候群モデルマウスを「TcMAC21 マウス」と命名しました。
- ・ (B) HSA21q-MAC は宿主染色体とは独立に存在していました。

次に TcMAC21 マウスの DNA を次世代シーケンスで解析した結果、ヒト 21 番染色体上の 213 個のタンパク質をコードする遺伝子のうち 199 個 (約 93%) が TcMAC21 マウスに導入されていることが分かりました。また、TcMAC21 マウスにおける遺伝子発現を解析した結果、ヒト 21 番染色体上の遺伝子 (群) は組織特異的な発現を呈しました (図 4A)。TcMAC21 マウスの様々な組織において、HSA21q-MAC の保持率を検証したところ、HSA21q-MAC は極めて安定に維持され、モザイクの問題を解決できました (図 4B)。

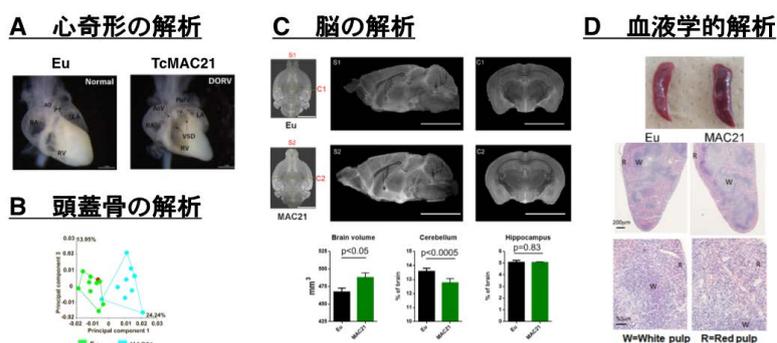
図4 TcMAC21マウスにおける遺伝子発現解析と保持率解析



- ・ (A) 各組織においてヒト 21 番染色体上の遺伝子は組織特異的に発現していました。
- ・ (B) 各組織において、HSA21q-MAC は95%以上の高い保持率でした。

次に心臓、頭部顔面骨格、脳の形態学的解析、及び脾臓、骨髄の血液学的解析を行いました。TcMAC21 マウスの胎仔の約 24%で心奇形（中隔欠損）が見られました（図 5A）。頭蓋骨のマイクロ CT 解析の結果、TcMAC21 マウスは正常マウスに比べて扁平な顔つきになっていました（図 5B）。脳の MRI 解析の結果、TcMAC21 マウスの小脳の大きさは正常マウスに比べて有意に減少していました（図 5C）。血液学的解析の結果、TcMAC21 マウスは正常マウスに比べ脾臓の肥大が見られ（図 5D）、脾臓、骨髄、末梢血で血液学的異常が見られました。

図 5 TcMAC21マウスにおける形態学的解析



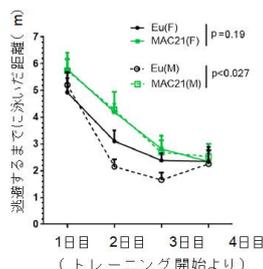
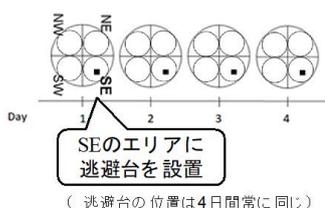
- ・(A) TcMAC21 マウスの24%で心奇形（中隔欠損）が見られました。
- ・(B) TcMAC21 マウスは正常マウスに比べて扁平な顔つきになっていました。
- ・(C) TcMAC21 マウスの小脳の大きさは正常マウスに比べて有意に減少していました。
- ・(D) TcMAC21 マウスは正常マウスに比べ脾臓の肥大が見られ、血液分化異常が見られました。

次にモリス水迷路試験という記憶学習能力を調べる試験を行いました（図 6）。逃避台に到着するまでに泳いだ距離は TcMAC21 マウス（特にオスマウス）で長かったことから、TcMAC21 マウスで学習能力の低下が見られました。また、逃避台が下げられた後にマウスを泳がせた試験では、逃避台のエリア（SE のエリア）を泳いでいた時間が、TcMAC21 マウスで短かったことから、TcMAC21 マウスで記憶能力の低下が見られました。

図 6 モリス水迷路試験 (記憶学習能力を調べる試験)

水の入った大きな円形プールの水面下に逃避台を設置し、マウスを泳がせ、プール周囲の景色を手がかりに、逃避台の位置を学習・記憶させる試験

- ・ダウン症患者には知的障害が見られるため、生後約3ヶ月齢のマウスで記憶学習能力を評価



- 逃避台に到着するまでに泳いだ距離は TcMAC21マウス（特にオスマウス）で長かった → TcMAC21マウスで学習能力の低下が見られました
- 逃避台が下げられた後にマウスを泳がせた試験では、逃避台のエリア（SEのエリア）を泳いでいた時間が、TcMAC21マウスで短かった → TcMAC21で記憶能力の低下が見られました

最後に従来型ダウン症モデルマウスで報告されている情報と今回 TcMAC21 マウスで得られた情報を比較してみました（図 7）。ヒト 21 番上の遺伝子の約 93%がトリソミーでモザイクを解消した TcMAC21 マウスは従来型のモデルマウスに比べて、最もダウン症モデルマウスとして適していると考えられました。

図 7 従来型ダウン症モデルマウスとの比較表

課題	タイプ1: ヒト遺伝子導入による トリソミー		タイプ2: マウス遺伝子導入による トリソミー		
	TcMAC21	Tc1	Ts65Dn	Ts1Cje	Dp(10)1Yey/+; Dp(16)1Yey/+; Dp(17)1Yey/+
モザイク	No	Yes	No	No	No
独立染色体	Yes	Yes	Yes	No	No
21トリソミーの遺伝子数 (213個中の割合)	199 (93.4%)	158 (74.2%)	110 (51.6%)	68 (31.9%)	180 (40;122;18) (84.5%)
ヒトにないマウス遺伝子の トリソミーの遺伝子数	0	0	7	7	12
21番上の相同遺伝子では ないトリソミーあるいは モノソミーの遺伝子数	0	0	トリソミー ~44 MMU17	モノソミー ~7 MMU12	0

従来型のモデルマウスに比べて、TcMAC21マウスが
ダウン症モデルマウスとして最も適していると考えられます

将来の展望

新たなダウン症候群モデルマウスである TcMAC21 マウスはダウン症候群の様々な症状に対応する原因遺伝子解明や症状改善のための治療法、治療薬開発にとって極めて有用な研究資材となることが期待されます。また、MAC ベクターを用いた染色体工学技術により、様々な疾患モデルマウス開発と医薬品開発に活用されることが期待できます。

掲載論文情報

題名: A non-mosaic transchromosomal mouse model of Down syndrome carrying the long arm of human chromosome 21

(ヒト 21 番染色体長腕を保持するダウン症候群の非モザイク型トランスクロモソミックマウスモデル)

掲載誌: eLife, 9:e56223. (<https://elifesciences.org/articles/56223>)

掲載日 : 2020 年 6 月 29 日

著 者 : Yasuhiro Kazuki, Feng J. Gao, Yicong Li, Anna J. Moyer, Benjamin Devenney, Kei Hiramatsu, Sachiko Miyagawa-Tomita, Satoshi Abe, Kanako Kazuki, Naoyo Kajitani, Narumi Uno, Shoko Takehara, Masato Takiguchi, Miho Yamakawa, Atsushi Hasegawa, Ritsuko Shimizu, Satoko Matsukura, Naohiro Noda, Narumi Ogonuki, Kimiko Inoue, Shogo Matoba, Atsuo Ogura, Liliana D. Florea, Alena Savonenko, Meifang Xiao, Dan Wu, Denise A.S. Batista, Junhua Yang, Zhaozhu Qiu, Nandini Singh, Joan T. Richtsmeier, Takashi Takeuchi, Mitsuo Oshimura and Roger H. Reeves

研究支援

本研究は科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業（CREST）、日本学術振興会 科学研究費補助金（基盤S）などの支援を受けて行われました。