

新たに発見した突然変異マウスを利用した てんかん関連遺伝子の探索

食・健康学科 生田李緒、濱田 俊

【要旨】

私達は、生後まもなく痙攣（けいれん）発作が始まり、離乳する前に全例が死亡する自然発症突然変異マウスを発見した。このマウスは、小児の遺伝性てんかんのモデルマウスとなると予想され、原因遺伝子の同定を進めている。

【研究の背景と目的】

ヒトの疾患に類似した異常を示す突然変異マウスの発見とその原因遺伝子の同定は、ヒト疾患の原因や成り立ちを理解するのに役立っている。

てんかんは、大脳の神経細胞の異常な活動により反復性の発作が起こる疾患であり、発作は痙攣として出現することが多い。てんかんは、一般人口における有病率が1%程度と患者数の多い、一般的な神経疾患である。てんかんには、脳の後天的な傷害が原因となるもののほかに、遺伝的要因によるものが存在している。

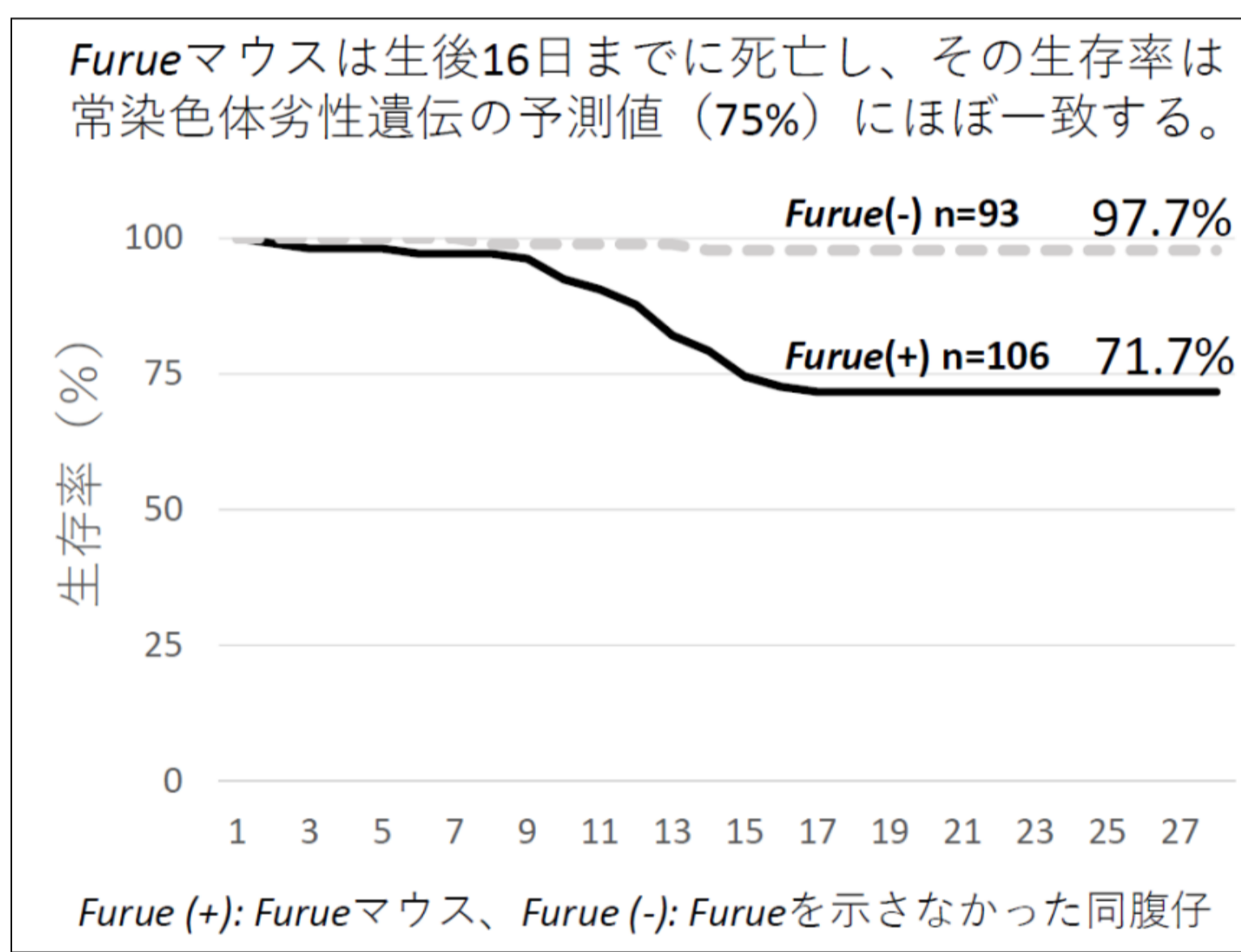
我々は、生後10日前後で間欠的な痙攣発作が始まり、生後16日目までに全例が死亡する自然発症突然変異マウス（*Furie*マウス）を飼育中に偶然発見した。本研究の目的は、*Furie*マウスの原因遺伝子をつきとめ、どのようなしくみで痙攣が発症するのか明らかにすることである。



【これまでに得られた主要な結果】

1. 遺伝形式

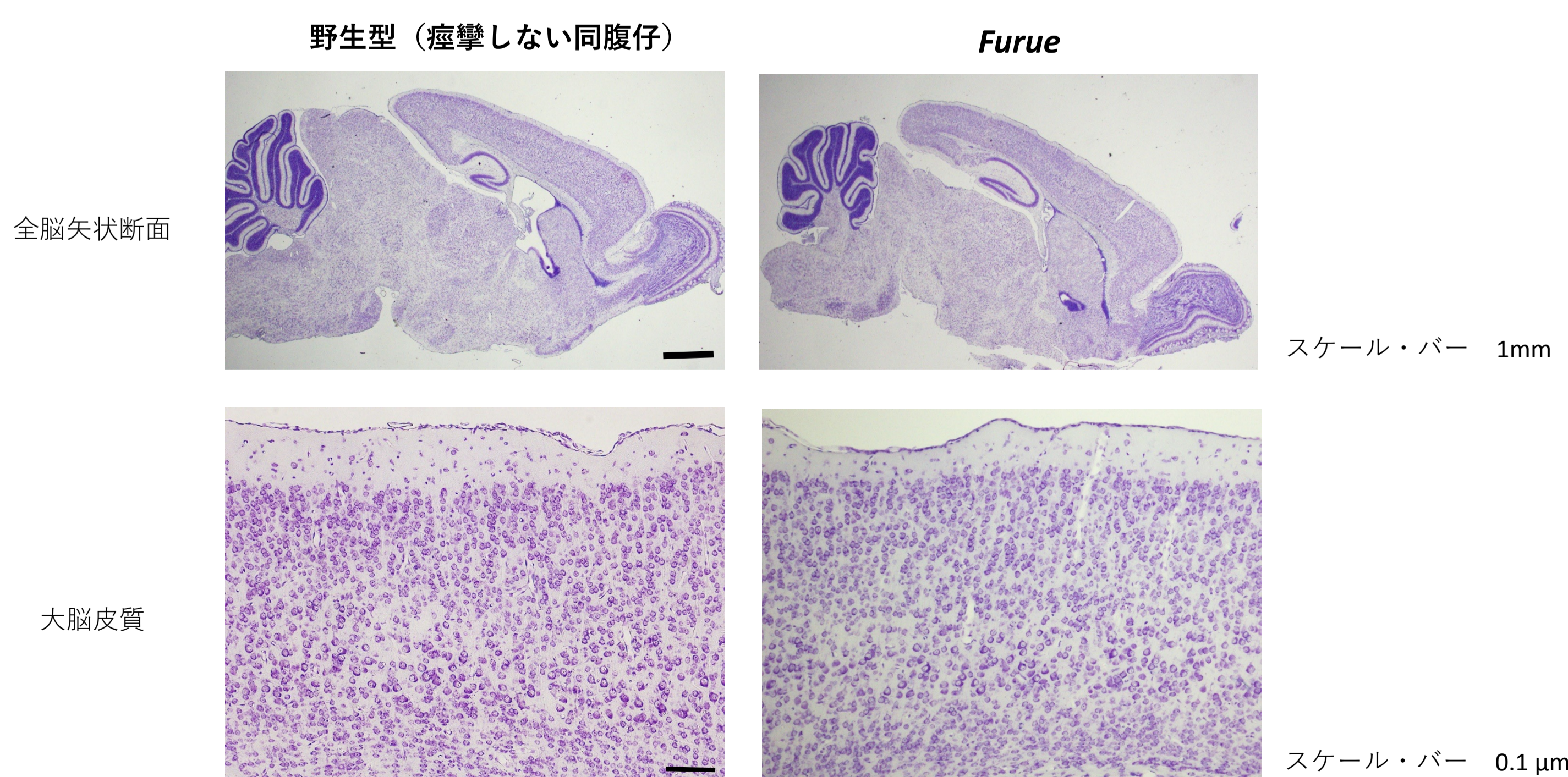
まず、*Furie*マウスが出現した交配における、生後日数と新生仔の生存率との関係を調べた（右図・実線）。生後10日前後から痙攣発作がみられ、*Furie*マウスと考えられるマウスが死亡していくため、徐々にマウスが死亡し、生後16日目以降は一定となった。このことから、*Furie*マウスは生後16日までに死亡すると考えられた。



また、最終的な生存率は71.7%であり、*Furie*マウスが出現しない交配における死亡率2.3%を考慮すると、およそ実際の生存率は74%程度であると考えられる。*Furie*マウスの原因遺伝子が常染色体上の単一の原因遺伝子による劣性遺伝であると仮定した場合の理論値は75%であり、ほぼ一致した。この結果より、*Furie*マウスの遺伝形式は常染色体劣性遺伝であり、単一の原因遺伝子により発症する疾病であると考えられる。

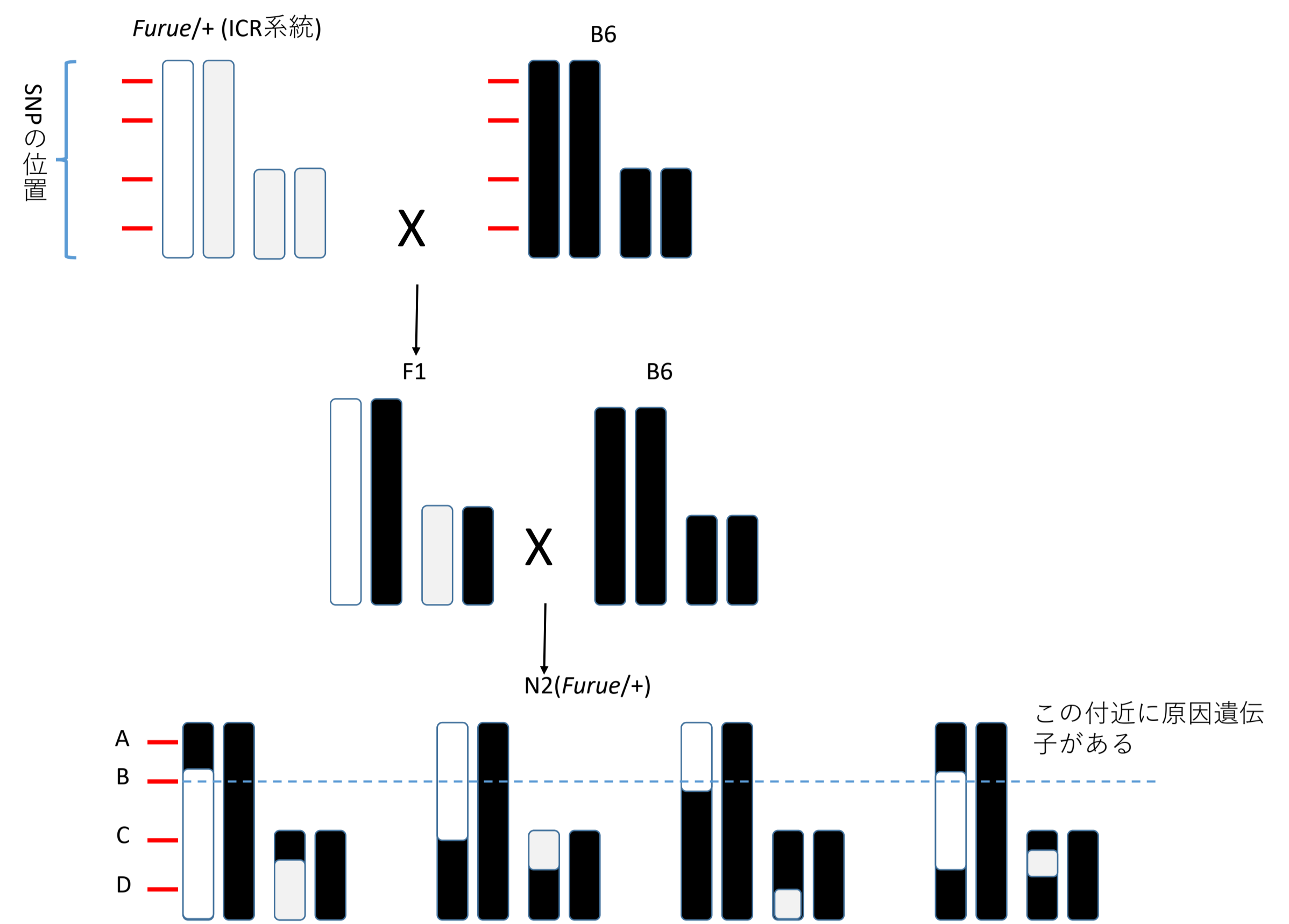
2. 脳の構造異常の検索

*Furie*マウスとその同腹仔で脳の構造を比較した。その結果、両者に大きな差異はみられなかった。また、大脳皮質のGABA神経細胞の分布などにも大きな異常は認められなかった。



3. マウス系統間一塩基多型DNAマーカーを利用した原因遺伝子座の絞り込み

*Furie*マウスはICR系統に発生した自然発症突然変異マウスである。*Furie*原因遺伝子のある染色体の場所（染色体座）を絞り込むため、マウス系統間で異なる染色体DNAの塩基配列のわずかな違い、単一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism, SNP）を利用した（下図）。



※ この図では、マウスのもつ相同染色体を仮に2組と考えている。ICR系統と参照系統であるC57BL/6 (B6)系統由来のマウス染色体をそれぞれ白と黒で示した。N2では、配偶子が産生される際に生じる染色体乗換えが起こる。このため、相同染色体の片方はICR系統とB6系統由来の染色体が様々なパターンで入り混じった染色体となる。このN2の中から、交配により*Furie*原因遺伝子をもつ個体を同定し、共通してICR系統に特徴的なSNPをもつ場合、その近傍に*Furie*原因遺伝子があることが予想される。

*Furie*原因遺伝子をヘテロ接合型でもつマウス（特に大きな異常は認められない）と、一般的に広く研究に使用されているB6マウス系統を交配し、雑種第1代（F1）を得る。さらに、F1とB6系統を交配し、戻し交配第1代（N2）を得た。N2のうち、どの個体が*Furie*原因遺伝子をヘテロ接合型（*Furie*/+）で保有しているのかを交配によって確認し、*Furie*/+であるN2を4個体得た。この4個体に対して、マウス全染色体上の特定の場所、384箇所で見られるSNPを調べ（MAX-BAX®, 米国 Charles River）、ICR系統由来である染色体領域を調べた。その結果、5ヶ所の染色体領域が*Furie*原因遺伝子を含む候補領域となった。

SNP検査（MAX-BAX®）の結果（一部抜粋）

SNP #	Chr #	NCBI Assembly bp	B6J=0052	SNP #	001-1	002-3	003-5	004-6
2	Chr 01-02	6655964	V V	2	V F	V F	V F	V F
3	Chr 01-03	14360323	V V	3	V F	V F	V F	V F
4	Chr 01-04	20814637	F F	4	V F	V F	V F	V F
5	Chr 01-05	27615610	V V	5	V F	V F	V F	V F
6	Chr 01-06	34544356	V V	6	V F	V F	V F	V F
7	Chr 01-07	45912375	V V	7	V F	V F	V F	V F
8	Chr 01-08	47204173	V V	8	V F	V F	V F	V F
9	Chr 01-09	63311474	F F	9	V F	V F	V F	V F
10	Chr 01-10	72973981	V V	10	V F	V F	V F	V F
12	Chr 01-12	79346604	F F	12	V F	V F	V F	V F
15	Chr 01-15	103556204	F F	15	V F	V F	V F	V F
20	Chr 01-20	134210714	V V	20	V F	V F	V F	V F
23	Chr 01-23	157307945	V V	23	V F	V F	V F	V F
25	Chr 01-25	172958008	F F	25	V F	V F	V F	V F
27	Chr 01-27	185887123	F F	27	V F	V F	V F	V F
28	Chr 01-28	188444560	F F	28	V F	V F	V F	V F

※ SNP # SNPの番号、Chr # 染色体の番号と領域番号、NCBI Assembly bp B6マウスでのSNPの当該染色体上での位置、B6J=0052 B6でのSNPの型（V型とF型の2通りがある）、001-1~004-6 調べた*Furie*マウスの個体番号。
*Furie*原因遺伝子をもつマウスでは、赤枠で囲った領域がICR系統由来の染色体DNAを共通して含んでいることがわかる。

4. まとめ・今後の展望

本研究により、*Furie*が単一遺伝子疾患であり、その存在する可能性が高い場所として5ヶ所の染色体領域が同定できた。今後は、N2をさらにB6系統に戻し交配を行い、DNAの塩基配列の違いを調べる検査（全エクソンDNA配列解析など）を行うことで、原因遺伝子の絞り込みを行っていく。

5. 謝辞

本研究は福岡女子大学研究症例交付金B（研究代表者 生田李緒）のご支援により実施されました。この場を借りて関係者の皆様に感謝申し上げます。