



報道機関各位

2013年6月19日

日本神経科学学会

東北大学大学院医学系研究科

**マウスの超音波発声に対する遺伝および環境要因の相互作用：
父親の加齢や体外受精が自閉症のリスクとなるメカニズム解明への手がかり**

【概要】

近年、先進国では自閉症の発症率の増加が社会的問題となっています。これまでの疫学研究により、父親の高齢化や体外受精（IVF）はその子供における自閉症の発症率を増大させることが報告されています。また、脳の発生発達に重要な因子として知られる *Pax6* は自閉症発症にも関わる可能性が指摘されています。東北大学大学院医学系研究科の大隅典子教授らは、マウスにおいて自閉症様症状の指標とされる超音波発声（USV）コミュニケーションに着目し、父親の高齢化が仔における自閉症様症状の発症率を増大させることを明らかにしました。母仔分離した際に仔マウスが発する USV のコール数を生後 6 日目の時点において 5 分間測定したところ、12 ヶ月齢以上の高齢野生型父マウスに由来する仔マウスでは、3 ヶ月齢の野生型父マウス由来のものと比較して、著しい USV 数の減少が認められました。次に、*Pax6* 遺伝子変異と加齢の関係を調べたところ、3 ヶ月齢の *Pax6* 変異父マウス由来の仔マウスでは、同腹の野生型仔マウスに比して USV 数が変わらなかったものの、6-8 ヶ月齢の *Pax6* 変異父マウス由来の仔マウスでは USV 数が著しく減少していました。さらに、*Pax6* 遺伝子変異と IVF の関係を調べたところ、3 ヶ月齢の若齢 *Pax6* 変異父マウス由来仔マウスでは、同腹の野生型仔マウスに比してすでに USV 数が著しく減少していました。この所見は生物学的観点から、父親の高齢化が、その子供に対して自閉症発症リスクを上昇させる可能性が高いこと、遺伝的に子どもの自閉症発症のリスクのある父親の場合に、加齢や IVF の影響が相乗効果を生み出すことを示唆するものと考えられます。今後、マウス精子形成過程におけるエピゲノムの変化を解析することにより、親の環境・遺伝的因子が仔に影響を及ぼすメカニズム解明の手がかりになると考えられ、仔マウスの USV 数に影響するエピゲノム変

化を明らかにすることにより、自閉症発症のリスクに関わるメカニズムを明らかにすることが期待されます。

本研究成果は、本年、京都において開催される **Neuro2013** において **6月22日** に発表されます (**P3-2-176**)。

【お問い合わせ先】

東北大学大学院医学系研究科・発生発達神経科学分野

教授 大隅典子 (おおすみ のりこ)

電話番号：022-717-8203

Eメール：osumi@med.tohoku.ac.jp

【報道担当】

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室

講師 稲田 仁 (いなだ ひとし)

電話番号：022-717-7891

ファックス：022-717-8187

Eメール：pr-office@med.tohoku.ac.jp

【研究内容】

自閉症は、社会性の異常、コミュニケーションの異常、興味の限定・常同行動を三大徴候とし、さらに、感覚統合の異常や軽微な運動異常を伴う広汎性発達障害であり、近年、先進国における頻度が上昇していることが大きな社会問題となっている（図1）。その背景としては、診断基準の変化や社会の認知度が上がったこともあるが、両親の高齢化、中でも父親の高齢化（図2）や体外受精（IVF）なども自閉症発症との相関性があることが疫学的調査から示唆されている。また、一般的に自閉症の発症には遺伝的要因が強く影響することが知られており、さらに最近の大規模ゲノム解析等から、多数の自閉症発症に関わる遺伝子・遺伝子座がリストアップされてきた中で、脳の発生発達に重要である転写制御因子 *Pax6* もその1つにあげられる（詳しくは Umeda et al., 2010 およびその引用論文参照）。そこで本研究では、自閉症のマウスモデルの行動異常の指標として近年、繁用されるようになった超音波発声（ultrasonic vocalization; USV）を指標とし、母マウスの条件を一定にして、父マウスの遺伝的背景と、加齢や IVF の影響について検証した。

マウスが発する USV は、人間の言語コミュニケーションに相当し、とくに生後1週間程度の間認められる母子分離による USV は、各種自閉症モデルマウスにおいてその低下が報告されている。本研究ではまず、父親の加齢の影響を調べるために、野生型の若齢（3ヶ月齢、3M）もしくは高齢（>12M）の雄マウスを若齢の雌マウスと自然交配し、産仔を得て、生後6日目に仔マウスの USV を5分間測定した。その結果、野生型高齢父マウス由来の野生型仔において、USV 数は平均値において半分以下に激減した（図3）。

次に、自閉症様行動異常を呈する *Pax6* 変異マウスを用いて、遺伝的なリスクと加齢の相乗効果について検討した。若齢から高齢の *Pax6* 変異父マウスを、野生型若齢雌マウスと自然交配し、産仔を得て、生後6日目に野生型もしくは *Pax6* 変異仔マウスの USV を上記と同様に測定した。すると、若齢（3M）父マウスに由来する *Pax6* 変異仔マウスの USV 数は野生型仔マウスのものと有意差が無かったが、若干加齢した（6-8M）*Pax6* 変異父マウスに由来する *Pax6* 変異仔マウスの USV は野生型仔マウスに比して半分程度に減少した（図4A,B）。高齢（>12M）*Pax6* 変異父マウスに由来する仔では、野生型でも USV が減少傾向にあるために、*Pax6* 変異仔マウスの USV と有意差が無かった（図4C）。

さらに、*Pax6* 変異マウスを用いて、遺伝的なリスクと IVF の相乗効果について検討した。若齢（3M）もしくは高齢（18M）*Pax6* 変異雄マウスから精子を得て、若齢野生型雌マウスから得た卵子と体外において受精させ、胚を偽妊娠させた野生型雌マウスの子宮に着床させ産仔を得て、同様に生後6日目の USV を測定した。すると、若齢（3M）*Pax6* 変異父マウスに由来する *Pax6* 変異仔マウスの USV は野生型仔に比して半分程度に減少

していたが、高齢（18M）*Pax6* 変異父マウスに由来する仔は、野生型でも USV が減少しているために、*Pax6* 変異仔マウスの USV と有意差が無かった（図 5 A, B）。

以上の結果から、(1)母体の影響や社会的な影響が限りなく少ない条件下において、父マウスが加齢することにより仔マウスの USV は減少することがわかった。また自閉症発症のリスクがある *Pax6* 変異マウスを父とする仔マウスの場合には、(2)加齢や(3)IVF の影響がより若齢の父マウスの場合にも生じることが明らかにされた。このことは、これまでに多数行われているモデルマウスを用いた実験において、加齢や IVF の影響を配慮した実験が為されるべきであることを警鐘する。今回の結果は人間の場合に直接当てはめる事はできないが、近年の晩婚化や生殖補助医療の発展により、母親だけでなく父親の加齢も、子どもの自閉症発症に影響する可能性があること、また遺伝的なリスクのある場合には、より加齢や IVF による影響が出やすい可能性があることを示唆する。今後、父マウスの加齢や IVF がどのようなエピゲノム変異を誘発し、仔マウスの遺伝子発現等に影響を与えているかを明らかにすることにより、自閉症発症の生物学的メカニズムが解明されることが期待される。

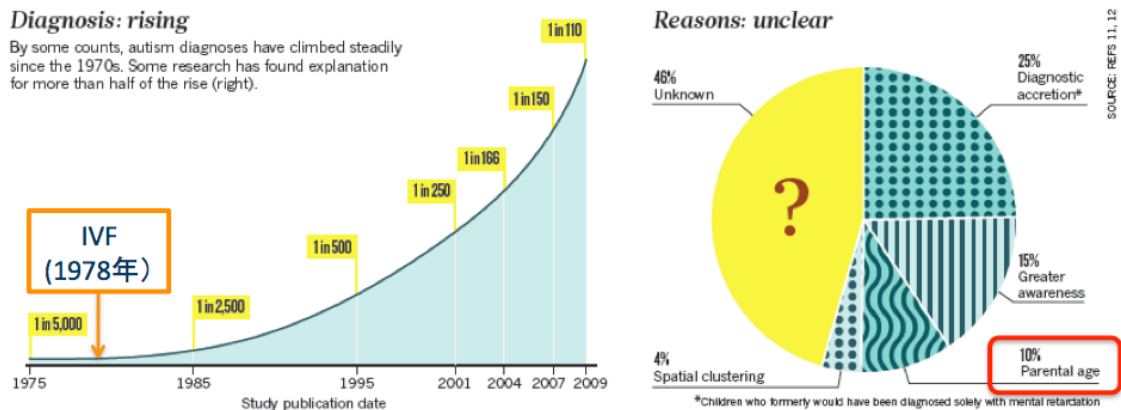
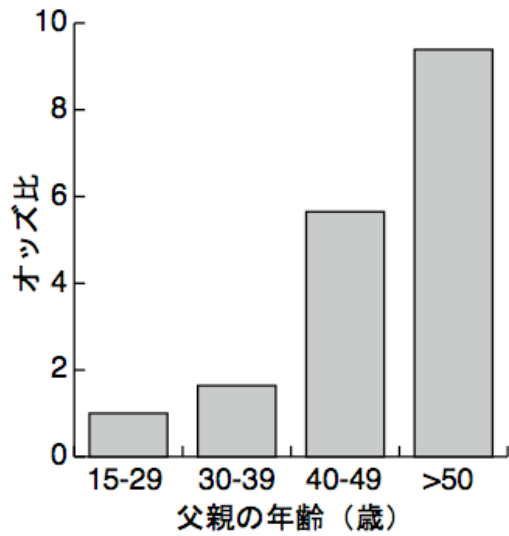


図 1：自閉症と診断される子どもの割合の増加（左）および想定されるその理由（右）。これまでに発達遅延とみなされていた患児が自閉症と診断されるようになったことや、自閉症そのものの認知度が向上したこともあるが、両親の年齢も自閉症発症の理由として示唆されている。（Weintraub, Autism counts, Nature, 2011 より改変）



Reichenberg *et al.* 2006 より改変

図2：父親の年齢と自閉症発症リスクの増加。若齢の父親のリスクを1とした場合の起こりやすさ（オッズ比）は、父親の年齢とともに増大する。

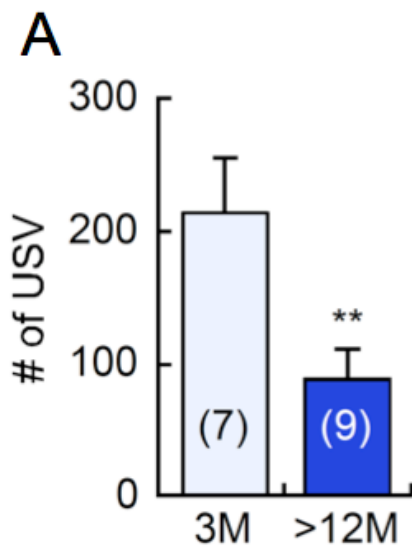


図3：自然交配野生型マウスにおける父マウス加齢の影響。若齢（3M）野生型父マウスに由来する仔に比して、高齢（>12M）野生型父マウスに由来する仔は、遺伝子型はどちらも野生型であるが、後者において著しく母子分離による超音波発生（USV）数が減少する。P<0.01

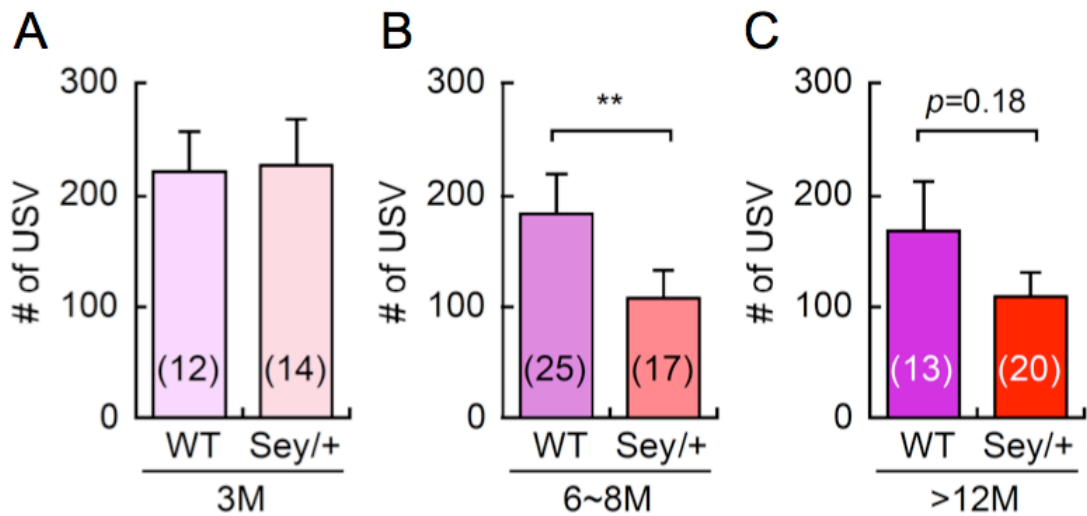


図4 : *Pax6* 変異と加齢の関係。 *Pax6* 変異 (Sey/+) 父マウスと野生型若齢雌マウスの自然交配において、若齢 (3M) 父マウス由来 Sey/+仔マウスの USV は野生型と変わらない (A) が、若干加齢した (6-8M) 父マウス由来の Sey/+仔マウスの USV は野生型に比して 50%程度に減少する (B, $p < 0.01$)。高齢 (>12M) 父マウス由来の仔マウスでは、Sey/+仔マウスの USV は野生型仔マウスと有意差が無かった。

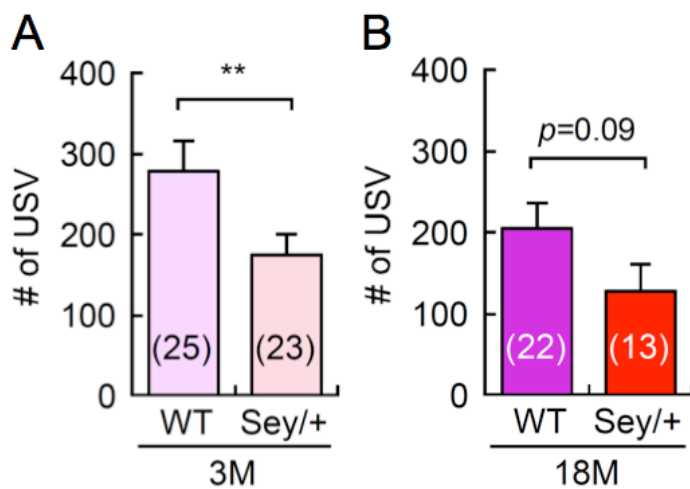


図5 : *Pax6* 変異と体外受精 (IVF) の関係。 *Pax6* 変異 (Sey/+) 父マウス精子と、野生型若齢雌マウス卵子の IVF により得られた仔において、若齢 (3M) 父マウス由来 Sey/+仔マウスの USV は野生型仔マウスに比して 50%程度に減少していたのに対し、高齢 (>12M) 父マウス由来の仔マウスでは、Sey/+仔マウスの USV は野生型仔マウスと有意差が無かった。