

## レット症候群の新規病態発症機序の解明と治療法の開発

九州大学大学院医学研究院 基盤幹細胞学分野・助教 中嶋 秀行



### <研究の背景・目的>

レット症候群 (Rett syndrome; RTT) は主に女兒にみられる進行性の神経発達障害であり、10,000人から15,000人に一人の割合で発症する。生後6ヶ月から18ヶ月程度までは正常に発達するものの、その後、それまでに獲得した言語能力や運動能力の急速な退行が生じる。1999年にX染色体上に存在する *methyl-CpG binding protein 2 (MECP2)* 遺伝子の変異により発症することが発見され、神経系細胞特異的にMeCP2を欠損したマウスはRTT患者と類似の表現型を示すことから、MeCP2の神経系での機能が重要であることが示唆されているものの、RTT発症機序の全貌は依然不明なままであり、根本的な治療法は存在していない。

MeCP2はメチル化DNA結合性の転写抑制因子として同定され、その後、神経幹(前駆)細胞及びニューロンで特異的にレトロトランスポゾンLINE1 (L1) の遺伝子発現を抑制することが報告された。RTT患者の死後脳においてもL1の発現亢進が報告され、L1が脳発達関連ゲノム部位に転移し、その遺伝子の発現異常を引き起こすことがRTT病態発症の要因になり得ると考えられてきた。しかし、L1の転移はほぼランダムと想定されており、またその頻度も低いため、少数の細胞個々の性質への影響は説明できるものの、RTT病態発症に及ぼす影響は説明できていない。そのような状況の中、近年、L1-mRNAから逆転写されたL1-cDNAが機能性分子として作用することで炎症反応を引き起こすことが報告された (Cecco et al. *Nature* 2019)。そこで我々は、ミクログリアで高発現しており、細菌・ウイルス由来のDNAを認識することが知られていた自然免疫受容体TLR9に着目し、「MeCP2欠損細胞から分泌されるL1-cDNAが内因性リガンドとなることで、近接するミクログリアでのTLR9シグナルの活性化を誘導し、それにより慢性的な炎症が引き起こされる」という、新規病態発症メカニズムを着想した(図1)。本研究では上記仮説の元、遺伝子欠損マウスの行動解析、ミクログリア機能性分子の探索・同定を行うことで、RTT病態発症機序を明らかにすることを目的とした。

### <研究方法・結果>

これまでの予備的実験では、TLR9/MeCP2ダブル欠損マウスではMeCP2欠損によるミクログリアの活性化や寿命短縮が改善することを明らかにしていた。そこで、MeCP2欠損マウスで観察される自閉症様行動、不安様行動及び記憶形成異常がTLR9/MeCP2ダブル欠損マウスで改善するかどうかについて行動解析を行った。まず、3チャンバーテストを行い社会性行動について評価したところ、社会的新奇性に対する嗜好 (preference for social novelty) がTLR9/MeCP2ダブル欠損マウスで改善していることが明らかとなった。また、高架式十字テストを行い不安様行動について評価したところ、MeCP2欠損マウスでは高さに対する不安が軽減していたが、TLR9/MeCP2ダブル欠損マウスではそれが一部改善していることがわかった。さらに恐怖条件付けテストを行い恐怖記憶に対する評価を行ったところ、文脈恐怖条件付け及び手がかり恐怖条件付けテストにおいてMeCP2欠損マウスはすくみ反

応時間が減少していたが、TLR9/MeCP2ダブル欠損マウスではそれが改善していることが明らかとなった。

次にミクログリア機能性分子の同定を行うために、野生型、MeCP2欠損、TLR9/MeCP2ダブル欠損マウス脳からミクログリアを単離後、シングルセルRNAシーケンス (scRNA-seq) を行った。その結果、野生型と比較しMeCP2欠損ミクログリアで発現が増加しており、TLR9/MeCP2ダブル欠損ミクログリアで発現が正常に変化しているミクログリア機能性分子の候補をいくつか同定することができた。

### <考察・今後の展望>

本研究により、MeCP2欠損マウスで観察される複数の行動異常がTLR9シグナルの減弱により改善することが明らかとなった。また、scRNA-seqの結果から、複数のミクログリア機能性分子候補の同定をできており、今後は今回見つけた候補からニューロンの機能に負の影響を与える候補分子を同定し、RTT病態発症機序の詳細を明らかにしていきたい。また、TLR9以外の他のDNAセンサーと疾患発症との関与について、それら遺伝子欠損マウスとの交配を行い、MeCP2欠損マウスのRTT様病態が改善するかどうかについても今後解析を行っていきたいと考えている。

### <謝辞>

本研究を行うにあたり、ご支援いただきました公益財団法人難病医学研究財団及びご寄付をいただきました多くの皆様に心より御礼申し上げます。今後も、難病の克服に向け、より一層研究に励んで参ります。

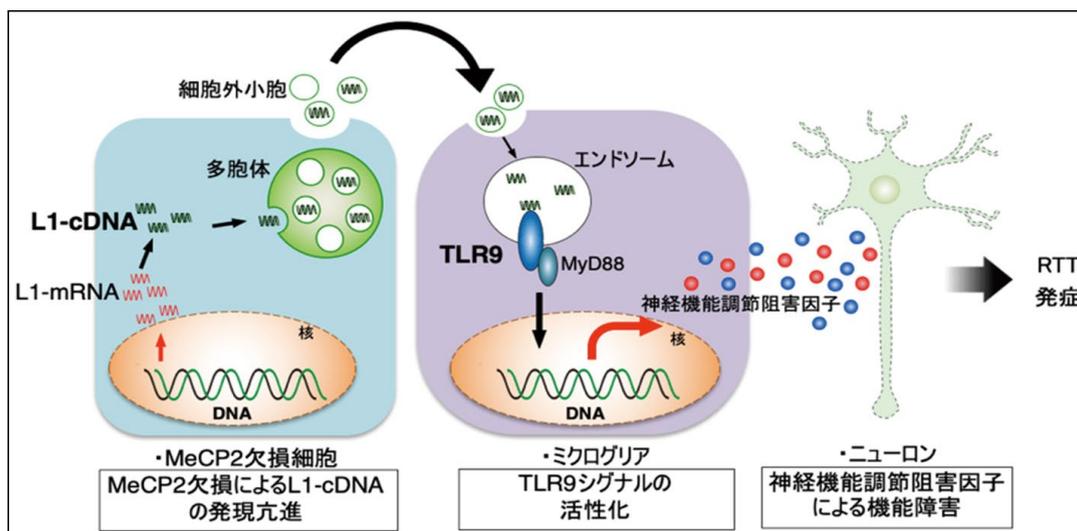


図1. 申請者の仮説。MeCP2欠損細胞から分泌されるL1-cDNAはTLR9シグナルを介してミクログリアを活性化し、ニューロンの機能障害を引き起こす。