

特集 2 精神疾患と早期ライフステージイベントの関連

2. 母体免疫活性化動物モデルにおける脳神経系 LINE-1 動態の解析

村田 唯*, 藤飯 慎也*, 岩本 和也*

抄録: 統合失調症などの主要な精神疾患の発症には、遺伝と環境の相互作用が重要であると考えられているが、そのメカニズムは不明である。脳神経系には特異的な体細胞変異が存在しており、その変異パターンや頻度が精神神経疾患の病態に影響すると考えられている。近年、統合失調症患者死後脳組織や動物モデルにおいてレトロトランスポゾン LINE-1 のコピー数が増大していることが示された。本稿では、LINE-1 の転移メカニズムと母体免疫活性化動物モデルにおける LINE-1 転移機構の解析について紹介する。

日本生物学的精神医学会誌 32 (3) : 141-143, 2021

Key words : LINE-1, retrotransposon, schizophrenia, poly (I : C), maternal immunocactivation

統合失調症や双極性障害などの精神疾患は、社会的・経済的に大きな損失をもたらすものの、病因や病態の大部分は不明のままである。これらの疾患の発症には、遺伝要因と環境要因の複雑な相互作用が関与していることが示されているが、その分子的な実態は明らかではない。遺伝要因については、ゲノムワイド関連解析などから多くの遺伝的多型やコピー数多型などが同定されてきており、遺伝的構造を明らかにする試みが続けられている。環境要因については、疫学研究から妊娠期の母体感染や栄養・ストレス状態、乳児期・思春期以降の発達環境などがリスク要因として同定されている。

遺伝要因と環境要因の相互作用を反映する分子メカニズムとして、エピジェネティクスや体細胞変異などが挙げられる。これらは後天的に生じるゲノム上での変化であるが、ゲノム配列の変化を伴わず遺伝子発現を変化させるエピゲノム機構とは対照に、体細胞変異ではゲノム配列の変化を伴う。

1. 体細胞変異

母親あるいは父親の生殖系列細胞で生じた突然変異は、受精卵に引き継がれるため子の全身の細胞に

存在する。一方、受精後に生じた突然変異は、由来を同一にする細胞集団や組織のみで体細胞変異として存在することになる。このため、発生初期に生じた変異は、多くの細胞や組織で共有されるが、発達後期に生じた変異は限定された細胞群でのみ存在する。体細胞変異には、一塩基変異やコピー数多型に加え、染色体異数性、染色体微小欠失、レトロトランスポゾン LINE-1 の変異挿入などさまざまな種類が含まれ、一部は脳など特定の組織でしか認められない。近年の研究から、体細胞変異が精神神経疾患と深く関わる可能性が明らかにされつつある⁴⁾。

2. LINE-1

レトロトランスポゾン LINE-1 は自らコードする遺伝子群の働きにより自律的に転移できる唯一の転移因子である。全長約 6kb の配列をもち、ヒトやマウスなど哺乳類ゲノムの約 20% を占めている。生殖系列細胞における新規転移は多くの場合、遺伝子破壊やゲノム安定性に影響し、100 以上の遺伝性疾患に関与していることがわかっている⁵⁾。

LINE-1 の新規転移は、LINE-1 配列の転写、翻訳、逆転写、ホストゲノムへの再挿入のプロセスを経る。

Analysis of LINE-1 dynamics in the brain using maternal immune activation model

*熊本大学大学院生命科学部 分子脳科学講座 (〒 860-8556 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1) Yui Murata, Shinya Fujii, Kazuya Iwamoto : Department of Molecular Brain Science, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University. 1-1-1 Honjo, Chuo-ku, Kumamoto, Kumamoto 860-8556, Japan

【村田 唯 E-mail : ymurata.tky@gmail.com】

ゲノムに存在する LINE-1 配列がメッセンジャー RNA (messenger RNA:mRNA) へと転写された後、核外に移行し、LINE-1 がコードする 2 種類のタンパク open reading frame (ORF) 1p と ORF2p が翻訳される。ORF1p はシャペロン活性をもった mRNA 結合タンパクで、ORF2p は相補的 DNA (complementary DNA:cDNA) 産生に必要な逆転写酵素活性と、逆転写された cDNA がホストゲノムへ組み込まれる際に必要なエンドヌクレアーゼ活性をもつタンパクである。LINE-1 の mRNA は、これらの翻訳産物や宿主由来のさまざまなタンパクと複合体を作り核内に移動し、エンドヌクレアーゼ活性によってホストゲノムの特定の配列を切断、逆転写反応を伴いターゲット領域へ挿入されると考えられている。

ヒトゲノム参照配列には 50 万コピーを超える LINE-1 配列が確認できるが、転移活性を保持する LINE-1 配列は 100 コピー程度である。残りの大部分の LINE-1 配列は、不完全な逆転写反応により 5' 側の配列が欠失したものや、組み替えや変異などによって転移活性が喪失したものである。

LINE-1 の転移活性は多岐にわたるメカニズムにより厳密に抑制されている。DNA メチル化をはじめとするエピゲノム制御、アポリタンパク質 B-mRNA 編集酵素触媒ポリペプチド (apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide:APOBEC) タンパク群や SAM and HD domain containing deoxynucleoside triphosphates triphosphohydrolase 1 (SAMHD1) などの転写後の抑制因子、PIWI や MIWI などといった PIWI-interacting/RNA interference (piRNA/RNAi) 経路に関わる因子などが LINE-1 抑制に関わっている。なお、ホスト側の抑制メカニズムとそれをかいくぐる転移因子側の進化的な攻防は常に生じており、そのため、転移因子の配列は種特異的な進化を経ていると考えられる。例えばマウスにおいては、LINE-1 のプロモーター配列にヒトでは認められないモノマー構造が存在し、ヒトでは 1 種である転移活性を持つ LINE-1 のサブファミリーが複数種存在するなどの差異が認められる。動物モデルを用いた転移因子研究の際にはさまざまな注意が必要であるといえる³⁾。

これまで、生殖系列や胚性幹細胞以外の体細胞では、新規転移活性をほとんどもたないとされていた。しかし近年の研究により、脳神経系、特に発達期の神経系細胞や正常加齢に伴い多くの細胞種で LINE-1 の転写および転移活性が高くなることが明らか

にされてきている²⁾。

3. 精神神経疾患と LINE-1

発達遅延、てんかん発作、自閉症様行動などを呈するレット症候群は、X 染色体上の methyl-CpG binding protein 2 (MECP2) における変異によって生じることが示されている。レット症候群患者および MECP2 遺伝子欠損マウスを用いた研究から、脳神経系で LINE-1 コピー数が上昇していることが示されている。また、ataxia telangiectasia mutated (ATM) 遺伝子変異によって生じる毛細血管拡張性運動失調症においても、患者および ATM 遺伝子欠損マウス神経系細胞での LINE-1 コピー数増大が認められている⁵⁾。筆者らは、統合失調症患者由来死後脳組織における LINE-1 配列のコピー数が健常者と比べて有意に増大していること、さらに患者における LINE-1 新規挿入は神経機能や統合失調症関連遺伝子周辺に濃縮していることを見いだした。また、患者由来人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cells:iPS 細胞) や母体免疫活性化精神疾患動物モデルにおいて LINE-1 コピー数増大を確認した¹⁾。

4. 母体免疫活性化モデルと LINE-1

母体免疫活性化動物モデルである polyinosinic:polycytidylic acid [poly(I:C)] 投与モデルでは、二本鎖 RNA アナログである poly(I:C) 化合物を妊娠動物に投与し、母体免疫活性を惹起する。産まれてきた仔では、神経発達障害や精神疾患様行動といった行動異常を示すことが知られており、LINE-1 コピー数の増大が確認されている。ヒトにおいて、妊娠期における母体感染や免疫反応活性化は精神疾患発症を上昇させるリスク因子として確立されており、疫学研究の結果を反映した優れたモデルであると考えられる。

poly(I:C) 投与モデルは世界で広く用いられているものの、研究室によって投与方法が異なっていたり、表現型にばらつきが出たりと、作製方法やモデルとしての安定性が不十分であった。そこで筆者らは安定したモデル作出プロトコルを確立するため、投与量の異なった poly(I:C) を妊娠中期に単回投与する群と、低用量の poly(I:C) を妊娠中期から後期にかけて投与する群を設け、産まれた仔の脳の LINE-1 コピー数を測定した。その結果、低用量を連続して投与した群において、安定して LINE

-1 コピー数を増大させることがわかった。

次に poly (I : C) 投与後の胎仔マウス脳を用いて LINE-1 発現量の測定, LINE-1 配列のエピゲノム解析, 網羅的 mRNA 発現量解析を行った。その結果, LINE-1 プロモーター領域において転写活性化マーカーであるヒドロキシメチル化の増大が生じていることがわかった。さらに網羅的 mRNA 発現量解析から, poly (I : C) 投与群では免疫関連遺伝子の過剰発現および神経発達関連遺伝子発現の減少が認められた。一連のデータより, poly (I : C) 投与モデルにおける LINE-1 増大には, LINE-1 配列のエピゲノム状態の変化および免疫関連遺伝子の発現変動が関与している可能性が考えられた。

LINE-1 新規転移が与える脳機能への影響や精神疾患の発症, 病態への影響について解明していくことで, 精神神経疾患の治療戦略および早期発見のためのバイオマーカー開発の一助になると考えられる。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。また, 開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, et al (2014) Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron*, 81 (2) : 306-313.
- 2) Faulkner GJ and Billon V (2018) L1 retrotransposition in the soma : a field jumping ahead. *Mob DNA*, 9 : 22.
- 3) Kuroki R, Murata Y, Fuke S, et al (2020) Establishment of quantitative PCR assays for active long interspersed nuclear element-1 subfamilies in mice and applications to the analysis of aging-associated retrotransposition. *Front Genet*, 11 : 519206.
- 4) Nishioka M, Bundo M, Iwamoto K, et al (2019) Somatic mutations in the human brain : implications for psychiatric research. *Mol Psychiatry*, 24 (6) : 839-856.
- 5) Suarez NA, Macia A and Muotri AR (2018) LINE-1 retrotransposons in healthy and diseased human brain. *Dev Neurobiol*, 78 (5) : 434-455.

■ ABSTRACT

Analysis of LINE-1 dynamics in the brain using maternal immune activation model

Yui Murata, Shinya Fujii, Kazuya Iwamoto

Department of Molecular Brain Science, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University

Both genetic and environmental factors are involved in the pathophysiology of the major psychiatric disorders including schizophrenia. However, detailed molecular mechanisms are not understood. Brain-specific somatic mutations including LINE-1 retrotransposition are found in patients with neuropsychiatric disorders, and their patterns and frequency may play important roles in the pathophysiology of psychiatric disorders. Here we describe molecular mechanism of LINE-1 retrotransposition and the studies of LINE-1 retrotransposition using maternal immune activation model in mice.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (3) : 141-143, 2021)