

様式2

平成26年度研究助成報告書

平成27年5月29日

NPO 法人レット症候群支援機構

代表理事 谷岡 哲次 殿

氏名 岸 憲幸



1. 研究課題 靈長類マーモセットを用いたレット症候群モデルの作製と解析

2. 研究期間 平成26年4月1日～平成27年3月31日

3. 研究（経過・成果）の概要

本研究計画では、レット症候群の病態解明に向け、マウスモデルでは解析が困難であった靈長類の高次脳機能における MECP2 遺伝子の機能解明を目指し、小型靈長類マーモセットを用いて靈長類モデル作製を試みた。

靈長類では、マウスで行われているような ES 細胞を介した遺伝子改変動物の作製ができないため、ゲノム編集技術の 1 つである Zinc Finger Nuclease (ZFN) を用いて、受精卵レベルで原因遺伝子 MECP2 を破壊し、その胚から個体を産出させることにより、MECP2 変異マーモセットの作出を行った（図 1）。

MECP2 遺伝子の機能ドメインを標的に 16 組の ZFN を作製し、培養細胞やマーモセット受精卵で標的遺伝子に対する破壊効率を検証した。最も効率の高い ZFN 1 組を選び、その ZFN の mRNA を注入した胚を仮親の子宮に移植した。

2014 年 8 月 18 日に 4 頭の仔マーモセットが誕生し、それぞれの個体から毛根細胞を採取し、遺伝子型を解析したところ、MZ5F というメス個体からのサンプルの約半数において標的塩基配列付近に 1 塩基の欠損を検出した。この結果より、MECP2 遺伝子の半数はフレームシフト変異のた

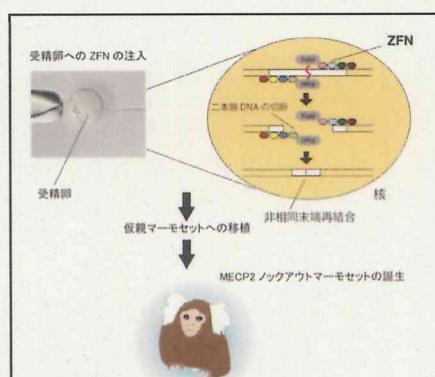


図 1 研究計画の概要

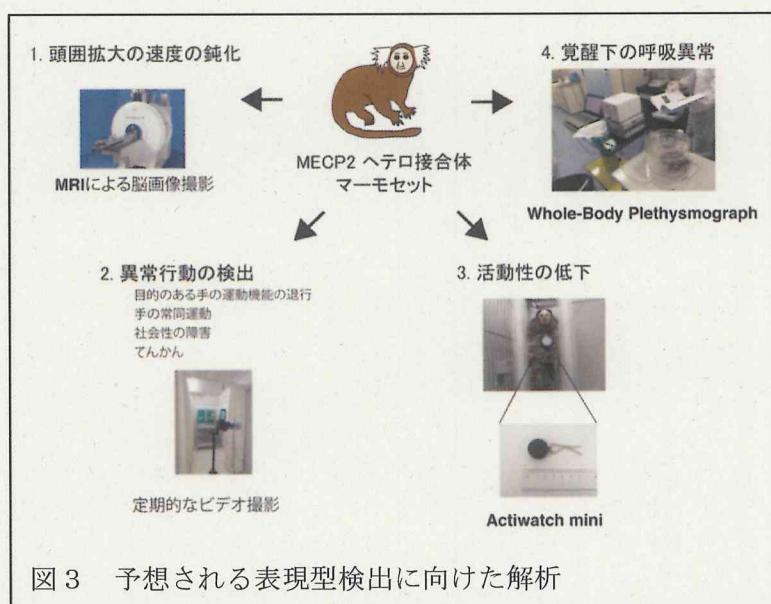
め機能が失われていることが推測されるので、MZ5F は MECP2 遺伝子についてヘテロ接合体であると結論した

(図 2)。ヒトにおいてもレット症候群患者は女性でヘテロ接合体であるので、この個体はヒト患者を忠実に反映したモデル動物になる可能性が示唆される。

レット症候群はヒト患者やマウスモデルにおいても症状が現れる前に一定期間の無症状期が存在する事が知られている。そのため、現在、MZ5F マーモセットについて予想される表現型を経時的に測定を行っている。

霊長類モデルであり、現在のところ 1 頭しかモデル動物が存在しないので、非侵襲的な手法を用いて計測を行っている(図 3)。レット症候群患者においては脳成長のスピードの鈍化が知られているので、脳体積を測定するために MRI を用いて脳画像の撮影を行っている。また手もみ運動などの自閉症様の症状やてんかんなどを検出するためにビデオ撮影による行動観察も行っている。更に活動性の低下を検出するためにペンダント型小型加速度計 Actiwatch mini を用いて活動量を測定したり、呼吸異常を検出するために Whole-body plethysmograph を用いて覚醒下の呼吸測定なども行っている。

今後、引き続き MZ5F 個体の表現型解析を行うと共に、MZ5F 以外の独立したノックアウト系統樹立を目指し、MECP2 ZFN の受精卵への注入も継続する予定である。



樣式 1

助成金收支報告書

平成 27 年 5 月 29 日

NPO 法人 レット症候群支援機構

代表理事 谷岡 哲次 殿

氏名 岸 憲幸



- ## 1. 研究課題名 靈長類マーモセットを用いたレット症候群モデルの作製と解析

2. 助成金交付額 _____ 1,000,000 円

- ### 3. 費目別使用実績

(単位 円)