

[目的] 自閉症の原因として注目されているシナプス接着因子に着目し、これらの関連分子のゲノム改変細胞、組織、個体を研究することで自閉症の分子病理像の解明を目指した。

[方法] CRISPR/Cas9 システムを利用して、iPS 細胞で Neuroligin-3 の自閉症変異 (R451C) のノックイン、マウス大脳皮質の錐体ニューロンの β -actin 遺伝子に EGFP のノックイン、従来の ES 細胞での相同組み換えを利用した方法で、 β -Neurexin のトリプルノックアウトマウス及び Neurexin-3 のノックアウトマウスの作製を行った。更に、X 染色体不活性化を利用して、Neuroligin-3 R451C ノックインのモザイクマウスを作製し、これらのシナプス機能の解析を行った。

[結果] β -Neurexin が内在性エンドカンナビノイドシグナルを抑制していることを見出した。Neurexin-3 が海馬では細胞外領域を介して AMPA 受容体機能、嗅球では細胞内領域を介して GABA 受容体機能を制御していることを見出した。CRISPR/Cas9 システムにより、ニューロン特異的ノックインの作製に成功した。Neuroligin-3 R451C 変異が細胞自律的メカニズムにより抑制性シナプス機能を亢進させていることを見出した。

CRISPR/Cas9 による EGFP- β -actin ノックインニューロンの樹状突起

- a) 樹状突起と棘突起像。Scale Bar: $5\mu\text{m}$. b) 棘突起の数の比較。** $P < 0.01$ (Tukey's test) . c) EGFP のシグナル強度の比較。*** $P < 0.001$ (Student's t-test) . (CTL: 野生型コントロール、KI: ノックイン、OE: 過剰発現)

