

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：82611

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2016

課題番号：16K14570

研究課題名（和文）精神疾患関連遺伝子AUTS2の脳発生と脳進化における役割の解明

研究課題名（英文）Roles of AUTS2 in development and evolution of the brain

研究代表者

星野 幹雄（HOSHINO, MIKIO）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 病態生化学研究部・部長

研究者番号：70301273

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトAUTS2遺伝子は、自閉症、統合失調症、言語障害などの様々な疾患との関連が疑われている。終脳特異的コンディショナルノックアウトマウス(cKO)を作成したところ、海馬初代培養細胞において、また大脳皮質のゴルジ染色においてシナプス数の増大を見たことから、AUTS2がシナプス数の制限に関与することが示唆された。また、cKOマウスにおいて、超音波発声コミュニケーションに異常を認めた。さらに、BAC-LacZ-Tgマウスを作成・解析することで、AUTS2遺伝子の前頭前皮質での発現に関するエンハンサー領域を同定することに成功した。

研究成果の概要（英文）：The AUTS2 gene is related to various disorders, such as autism, schizophrenia and language disability. We generated the conditional knockout mice for AUTS2 in the telencephalon. The number of synapses in vitro and in vivo was significantly affected in the cKO mice. Ultrasonic vocalization was also abnormal in the cKO mice. We identified the enhancer of the AUTS2 gene for the expression in the prefrontal cortex.

研究分野：神経化学

キーワード：脳・神経 進化 精神疾患 遺伝子

1. 研究開始当初の背景

ヒト Autism Susceptibility Candidate 2 (AUTS2) 遺伝子は、自閉症、てんかん、精神発達遅滞などの精神症状を示す患者で、相互転座、DNA 欠失などの異常が報告され、これら精神疾患との関連が強く示唆されている。つい最近までこの遺伝子産物 AUTS2 の生理機能が不明であったため、そのゲノム異常によって引き起こされるヒト性疾患の病理についても不明であった。近年我々は、AUTS2 蛋白質が低分子量 G 蛋白質である Rac1 および Cdc42 の活性を制御し、アクチン細胞骨格を再構成し、神経細胞移動や神経突起伸長に参与することを明らかにした (Cell Reports 2014, 9, 2166-.)。しかしながら、AUTS2 が脳のどの部位の発達に参与しているのか、また具体的にシナプス形成に参与するのか、などについては解析途上である。

2010 年にネアンデルタール人 (ND) ゲノムが解読された (Science 328, 2010)。その報告では、数十万年前に ND とホモ・サピエンス (HS) が分岐した後、全ゲノムの中でもっとも加速的に変化した領域として AUTS2 遺伝子が挙げられた。ND に比べた HS の脳は、前頭前皮質が丸みを帯びて大きく発達しており、それが高次脳機能の獲得に寄与したと考えられている。AUTS2 遺伝子はまさに前頭前皮質で強く発現しており、その遺伝子発現領域の拡大や、あるいは AUTS2 蛋白質機能の変化が、HS の高次脳機能の獲得、すなわち脳の進化に関係しているのではないかと考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、AUTS2 の分子機能および生理機能をさらに *in vitro* および *in vivo* 実験系で解析し、AUTS2 による神経回路網形成の分子機構を明らかにする。特に、同分子のシナプス形成への関与に着目したい。また、脳部位特異的 cKO マウスを新たに作製し、AUTS2 遺伝子異常によるヒト精神疾患のマウスモデルとして用い、解剖学的解析、音声コミュニケーション解析等を行うことで、ヒト疾患の病態の理解につなげる。

(2) HS、NE の両種の AUTS2 ゲノムの BAC トランスジェニック (Tg) マウス技術を用いて AUTS2 遺伝子の前頭部での発現エンハンサーを同定し、その活性脳領域を解析する。これによって、HS が ND と分岐した後、AUTS2 の前頭部での発現領域がいかに変化したのかを推定し、AUTS2 の遺伝子変異がヒトの脳進化に果たした役割について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) Emx1-Cre を用いて、終脳特異的な AUTS2 のコンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作成する。そこから、海馬初代培養細胞で、あるいは cKO マウス脳のゴルジ染色によ

って、シナプスを観察する。

(2) ATUS2 cKO マウスを用いて、超音波発声 (USV) を録音し、解析する。

(3) マウスおよび HS の AUTS2 遺伝子座の BAC クローンを用いて、LacZ 遺伝子をレポーターとし、トランスジェニックマウス (BAC-LacZ-Tg マウス) を作成する。そこで、まずは前頭前皮質で発現するエンハンサーを同定する。次にそれを NE 型に置き換えた場合のエンハンサー活性領域を調べる。

4. 研究成果

(1) AUTS2 cKO マウス由来の海馬初代培養細胞では、シナプスの数が対照群よりも優位に増大していた。また、cKO マウス脳のゴルジ染色においても、前頭前皮質、海馬などにおいて、樹状突起スパイン数の増大が認められた。以上から、AUTS2 がシナプス形成に抑制的に働くか、あるいはシナプス刈り込みに参与している可能性が示唆された。一般的に、ヒトの自閉症スペクトラム障害 (ASD) ではシナプスの増大が観察されているため、この cKO マウスは AUTS2 遺伝子異常によるヒト ASD の良い動物モデルになるのではないかと考えられた。

(2) AUTS2 cKO マウスでは、母子間コミュニケーションにおいても、雌雄間コミュニケーションにおいても、USV の構成要素 (音節) の単純化が認められた。以上から、AUTS2 がマウスの音声コミュニケーションに何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。AUTS2 遺伝子の変異によってヒト言語障害が招来されることが知られているので、このマウスはその動物もでるとなりうるかもしれない。

(3) まず最初に、HS およびマウスの AUTS2 ゲノムの 3 種類の BAC を用いて、BAC-lacZ-Tg を作成した。そのうちのひとつで、前頭前皮質で lacZ の強いシグナルを検出することができた。すなわち、そのゲノム配列の中にエンハンサーが含まれていることになる。今後は、さらにその領域を狭めた後、その配列を NE 型に置き換える必要があるが、期間内にそこまで終了することはできなかった。次年度以降、さらに研究を進める予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Hori K, Hoshino M: Neuronal Migration and AUTS2 Syndrome. Brain Sci, 7(5), pii: E54, 2017. DOI: 10.3390/brainsci7050054. 査読有
2. Hanai S, Sukigara S, Dai H, Owa T, Horike SI, Otsuki T, Saito T, Nakagawa E, Ikegaya N, Kaido T, Sato N, Takahashi A, Sugai K, Saito Y, Sasaki

- M, Hoshino M, Goto YI, Koizumi S, Itoh M. Pathologic Active mTOR Mutation in Brain Malformation with Intractable Epilepsy Leads to Cell-Autonomous Migration Delay. *Am J Pathol.* 187(5):1177-1185, 2017. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.01.015. 査読有
3. Hoshino M: Specification of Cerebellar Neurons. *Essentials of Cerebellum and Cerebellar Disorders*, 143-147, 2016. 査読有
 4. Yamada M, Hoshino M: Precerebellar Nuclei. *Essentials of Cerebellum and Cerebellar Disorders*, 63-67, 2016. 査読有
 5. 星野 幹 雄: AUTS2(Autism Susceptibility Candidate 2). *分子精神医学*, 16 (4): 53-55, 2016.

[学会発表](計24件)

 1. 星野幹雄: 小脳神経細胞の発生プログラム .2016年度 第7回小脳研究会 学術集会・総会, アルカディア市ヶ谷(東京都), 1.20, 2017
 2. Owa T, Taya S, Miyashita S, Nishioka T, Kaibuchi K, Hoshino M: Role of Meis1 in the cerebellar development. *Neuroscience2016*, San Diego Convention Center(San Diego, CA, USA) 11.14, 2016
 3. 田谷真一郎, 早瀬ヨネ子, 山田真弓, 初山俊彦, 西條琢真, 三浦義記, 大野行弘, 今奥琢士, 柳川右千夫, 伊原信夫, 芹川忠夫, 天野殖, 星野幹雄: The deficiency of DSCAML1, which is a mutant model with limbic-like seizures, induces the excitatory and inhibitory imbalance. 第39回日本神経科学大会シンポジウム, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.22, 2016
 4. 星野幹雄: 精神疾患関連遺伝子 AUTS2 の生理機能と病理. 第39回日本神経科学大会シンポジウム, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.21, 2016(7.20-7.22)
 5. 星野幹雄: 脳神経系の発生と精神疾患そして脳進化 - Autism Susceptibility Candidate2 遺伝子の研究を通して - . タイムシグナルと制御シンポジウム, 筑波大学下田臨海実験センター(静岡県下田市), 6.10, 2016
 6. 大輪智雄, 田谷真一郎, 宮下聡, 西岡朋生, 中村卓郎, 五飯塚僚, 貝淵弘三, 星野 幹 雄: Multi-step and context-dependent functions of Meis1 in cerebellar granule cell development. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 7. 江草早紀, 堀 啓, 坂本亜沙美, 阿部学, 崎村建司, 郷康広, 星野幹雄: Deletion of Aut2 gene induces the impairment of dentate gyrus development. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 8. 宮下聡, 瀬戸祐介, 會田将吾, 川口義弥, 宗田孝之, 星野幹雄: Prox1 limits the mitotic potential of cerebellar granule cell precursor through mitosis-dependent deacetylation of CyclinD1 promoter. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 9. 出羽健一, 有村奈利子, 田谷真一郎, 境和久, 小泉修一, 星野幹雄: Role of DSCAM in cerebellar development. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 10. 山下真梨子, 宮下聡, 星野幹雄: 細胞周期の長い小脳顆粒細胞前駆細胞の同定と解析. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 11. 山城邦比古, 青木瞭, 坂本亜沙美, 堀 啓, 星野 幹 雄: Functional Analysis of Autism susceptibility candidate 2 (Aut2) in the cerebellar development. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 12. 足立透真, 宮下聡, 井上貴文, 星野幹雄: 小脳顆粒細胞における分裂面と娘細胞の運命決定メカニズムの解析. 第10回神経発生討論会, 秋保リゾートホテルクレセント(宮城県仙台市), 3.10-3.11, 2017
 13. 有村奈利子, 出羽健一, 岡田茉莉子, 柳川右千夫, 田谷真一郎, 星野幹雄: 中脳神経細胞の細胞移動におけるダウン症関連因子の機能解析. 第39回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 12.1, 2016
 14. 足立透真, 宮下聡, 井上貴文, 星野幹雄: 小脳顆粒細胞における分裂面と娘細胞の運命決定メカニズムの解析. 第39回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 12.1, 2016
 15. 大輪智雄, 田谷真一郎, 宮下聡, 西岡朋生, 中村卓郎, 五飯塚僚, 貝淵弘三, 星野幹雄: Meis1 の小脳顆粒細胞における多段階発生制御. 第39回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 11.30, 2016
 16. 出羽健一, 有村奈利子, 田谷真一郎, 小泉修一, 星野幹雄: 小脳興奮制シナプス形成におけるダウン症関連分子の機能解析. 第59回日本神経化学学会大会, 福岡国際会議場(福岡県福岡市), 9.9,

2016

17. 山城邦比古,青木瞭,坂本亜沙美,堀 啓,星野幹雄: 小脳発生における自閉症感受性遺伝子 Auts2 の機能解析. 第 59 回日本神経化学学会大会,福岡国際会議場(福岡県福岡市), 9.9, 2016
18. 足立透真,宮下聡,井上貴文,星野幹雄: 小脳顆粒細胞における分裂面と娘細胞の運命決定メカニズムの解析. 第 59 回日本神経化学学会大会,福岡国際会議場(福岡県福岡市), 9.9, 2016
19. 大輪智雄,田谷真一郎,宮下聡,西岡朋生,中村卓郎,五飯塚僚,貝淵弘三,星野幹雄: Meis1 による顆粒細胞の増殖・分化の制御機構の解明. 第 59 回日本神経化学学会大会,福岡国際会議場(福岡県福岡市), 9.8, 2016
20. 堀 啓,青木瞭,坂本亜沙美,大輪智雄,宮下聡,阿部学,山崎真弥,崎村健,星野 幹 雄: The role of autism susceptibility gene AUTS2 in the cerebellar Purkinje development. 第 39 回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.22, 2016
21. 大輪智雄,田谷真一郎,宮下聡,西岡朋生,中村卓郎,五飯塚僚,貝淵弘三,星野幹雄: Role of Meis1 in granule cell development. 第 39 回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.20, 2016
22. 宮下聡,瀬戸祐介,會田将吾,川口義弥,宗田孝之,星野幹雄: Prox1 regulates the cell cycle exit of cerebellar granule cell precursors through suppression of a cell cycle-related gene. 第 39 回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.20, 2016
23. 足立透真,宮下聡,井上貴文,星野幹雄: 小脳顆粒細胞における分裂面と娘細胞の運命決定メカニズムの解析. 第 39 回日本神経科学大会,パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 7.20, 2016
24. 早瀬ヨネ子,田谷真一郎,伊原信夫,天野殖,星野幹雄: イハラてんかんラット原因遺伝子 ier の知的障がい+てんかん患者リンパ芽球デポジトリーでの発現量. 第 105 回日本病理学会総会,仙台国際センター(宮城県仙台市), 5.14, 2016

〔その他〕

ホ ム ペ ー ジ 等 :
http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r_diag/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

星野 幹雄 (HOSHINO, Mikio)

国立精神神経医療研究センター・神経研究

所・病態生化学研究部・部長

研究者番号: 70301273

(2)研究分担者

井上 高良 (INOUE, Takayoshi)

国立精神神経医療研究センター・神経研究

所・疾病研究第六部・室長

研究者番号: 20370984