

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08200

研究課題名（和文）Phactr1遺伝子変異を背景とするウエスト症候群の分子病態メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular pathogenetic mechanism of West syndrome in the context of Phactr1 gene abnormalities

研究代表者

浜田 奈々子（Hamada, Nanako）

愛知県医療療育総合センター発達障害研究所・分子病態研究部・主任研究員

研究者番号：70721835

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：PHACTR1はウエスト症候群患者より遺伝子変異が同定された遺伝子であり、これまでに神経細胞移動や樹状突起形成に及ぼす影響について解析してきた。本研究では、PHACTR1変異の臨床的意義に焦点を絞り、患者由来リンパ芽球を樹立し、性状解析を行なった。健常者と患者由来リンパ芽球でPHACTR1の発現量や細胞内局在に差はなかったことから、アクチンやプロテインフォスファターゼとの結合能の違いが疾患の原因となっていることが示唆された。またPHACTR1と結合するKCNT1も神経細胞移動に関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PHACTR1は日本人ウエスト症候群患者からバリエーションが同定された遺伝子である。PHACTR1はシナプス関連分子など主要なてんかん原因分子とは異なり、細胞骨格を構成する分子と相互作用するが、生理作用等は全く不明である。本研究で患者の細胞を用いて得られた結果は、Phactr1の細胞生物学的性状やてんかんの発症機序を理解する一助となり、新規治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：PHACTR1 is a gene whose mutation was identified in a patient with West syndrome, and its effects on neuronal migration and dendrite formation have been analyzed. In this study, we focused on the clinical significance of PHACTR1 mutations and established patient-derived lymphoblasts for characterization. The results showed no difference in PHACTR1 expression or subcellular localization between normal and patient-derived lymphoblasts, suggesting that differences in binding to actin and protein phosphatase may be the cause of the disease. KCNT1, which binds to PHACTR1, was also suggested to be involved in neuronal migration.

研究分野：神経発達

キーワード：ウエスト症候群 Phactr1

1. 研究開始当初の背景

Phactr1 は2名の血縁関係のない日本人ウエスト症候群患者より遺伝子バリエーションが同定された新規の原因遺伝子である。**PHACTR1** は **G** アクチンと結合することが知られていたが、脳形成における機能は全く不明であった。我々はこれまでに変異タンパク質の性状解析や大脳皮質神経細胞の分化・発達に及ぼす影響について解析してきた。また最近の報告で、**PHACTR1** に結合する分子として **KCNT1** が同定された。**KCNT1** も **PHACTR1** と同様、小児難治性てんかんの原因遺伝子であることから、両者が脳発達においてどのように関係しているのかを解明することで、病態理解と新規治療法の開発に繋がる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、**PHACTR1** 変異の臨床的意義に焦点を絞り、患者由来リンパ芽球の生化学・細胞生物学的解析、結合する分子群 (**Protein phosphatase 1**, **KCNT1** (小児てんかん性脳症の原因遺伝子)) との相互作用等の解析を行うことで、ウエスト症候群の分子病態メカニズムの一旦を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

健常者と **Phactr1** バリエーションを有するウエスト症候群患者の血液からリンパ芽球を樹立し、生化学・細胞生物学的解析を行う。具体的には **PHACTR1** の発現量や細胞内局在、また **PHACTR1** は血清刺激によって **G** アクチンとの結合能が変化することから、血清による刺激応答性、その際の細胞形態を健常者のリンパ芽球と比較する。**In vivo** 解析では、子宮内胎仔脳遺伝子導入法 (**in utero electroporation** 法) を用いて **KCNT1** を胎生 14.5 日目のマウス大脳皮質神経幹細胞で発現抑制し、そこから誕生する大脳皮質 2-3 層の神経細胞の分化、移動、発達に及ぼす影響を評価する。さらにそこで観察された表現型が **PHACTR1** の導入でレスキューされるか、また **PHACTR1** の発現抑制で観察された表現型が **KCNT1** の導入でレスキューされるか検証することで、両分子の神経発達における関係性を明らかにする。

4. 研究成果

3名の健常者と2名のウエスト症候群患者からリンパ芽球を樹立した。健常者と患者のリンパ芽球で細胞形態や血清による刺激応答性、**PHACTR1** の細胞内局在に差はなかった。**PHACTR1** の発現量は患者細胞で少ない傾向にあったが、有意な差は認められなかった。免疫沈降実験により、変異型は単量体である **G** アクチンとの結合が著しく減弱していたことから、アクチンとの結合能の違いが疾患の原因となっている可能性が示唆された。また **KCNT1** の発現抑制は大脳皮質 2-3 層の神経細胞の移動障害を引き起こした。そこで **KCNT1** を発現抑制し、そこに **PHACTR1** を導入したが、神経細胞の移動障害は改善されなかった。さらに **Phactr1** の発現抑制でも同様の表現型異常が見られたが、**Phactr1** の発現抑制で観察された移動障害は **KCNT1** の導入でレスキューされなかった。これらのことから神経細胞移動において、**PHACTR1** と **KCNT1** の経

路はそれぞれ独立して機能していると示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsuki Tohru, Hamada Nanako, Ito Hidenori, Sugawara Ryota, Iwamoto Ikuko, Nakayama Atsuo, Nagata Koh-ichi	4. 巻 51
2. 論文標題 Expression analysis of type I ARF small GTPases ARF1-3 during mouse brain development	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Molecular Biology Reports	6. 最初と最後の頁 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11033-023-09142-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hamada Nanako, Iwamoto Ikuko, Nagata Koh ichi	4. 巻 165
2. 論文標題 <scp>MED13L</scp> and its disease associated variants influence the dendritic development of cerebral cortical neurons in the mammalian brain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Neurochemistry	6. 最初と最後の頁 334 ~ 347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15783	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Goto Naoki, Nishikawa Masashi, Ito Hidenori, Noda Mariko, Hamada Nanako, Tabata Hidenori, Kinoshita Makoto, Nagata Koh-ichi	4. 巻 45
2. 論文標題 Expression Analyses of Rich2/Arhgap44, a Rho Family GTPase-Activating Protein, during Mouse Brain Development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Developmental Neuroscience	6. 最初と最後の頁 19 ~ 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000529051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masashi Nishikawa, Tohru Matsuki, Nanako Hamada, Atsuo Nakayama, Hidenori Ito, Koh-Ichi Nagata	4. 巻 56
2. 論文標題 Expression analyses of WAC, a responsible gene for neurodevelopmental disorders, during mouse brain development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 266-273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-023-00364-x.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada Nanako, Nishijo Takuma, Iwamoto Ikuko, Shifman Sagiv, Nagata Koh-ichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Analyses of Conditional Knockout Mice for Pogz, a Gene Responsible for Neurodevelopmental Disorders in Excitatory and Inhibitory Neurons in the Brain	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 540 ~ 540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells13060540	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hamada Nanako, Noda Mariko, Ito Hidenori, Iwamoto Ikuko, Nagata Koh-ichi	4. 巻 44
2. 論文標題 Expression Analyses of Cep152, a Responsible Gene Product for Autosomal Recessive Primary Microcephaly, during Mouse Brain Development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Developmental Neuroscience	6. 最初と最後の頁 162 ~ 170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000523922	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada Nanako, Iwamoto Ikuko, Noda Mariko, Nishikawa Masashi, Nagata Koh-ichi	4. 巻 44
2. 論文標題 Expression Analyses of Polo-Like Kinase 4, a Gene Product Responsible for Autosomal Recessive Microcephaly and Seckel Syndrome, during Mouse Brain Development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Developmental Neuroscience	6. 最初と最後の頁 643 ~ 650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000526914	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada Nanako, Iwamoto Ikuko, Nishikawa Masashi, Nagata Koh-ichi	4. 巻 43
2. 論文標題 Expression Analyses of Mediator Complex Subunit 13-Like: A Responsible Gene for Neurodevelopmental Disorders during Mouse Brain Development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Neuroscience	6. 最初と最後の頁 43 ~ 52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000515188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishikawa Masashi, Ito Hidenori, Noda Mariko, Hamada Nanako, Tabata Hidenori, Nagata Koh-ichi	4. 巻 54
2. 論文標題 Expression analyses of PLEKHG2, a Rho family-specific guanine nucleotide exchange factor, during mouse brain development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 146 ~ 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-020-00275-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Reut Suliman-Lavie, Ben Title, Yahel Cohen, Hamada N, Maayan Tal, Nitzan Tal, Galya Monderer-Rothkoff, Bjorg Gudmundsdottir, Kristbjorn O Gudmundsson, Jonathan R Keller, Guo-Jen Huang, Nagata K, Yosef Yarom, Sagiv Shifman.	4. 巻 11
2. 論文標題 Pogz deficiency leads to transcription dysregulation and impaired cerebellar activity underlying autism-like behavior in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nat. Commun.	6. 最初と最後の頁 5836-5836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-19577-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hamada N, Iwamoto I, Kawamura N, Nagata K.	4. 巻 1
2. 論文標題 Heterotrimeric G-protein, Gi1, is involved in the regulation of proliferation, neuronal migration and dendrite morphology during cortical development in vivo.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Neurochem.	6. 最初と最後の頁 1-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hamada N, Ito H, Shibukawa Y, Morishita R, Iwamoto I, Okamoto N, Nagata K.	4. 巻 529
2. 論文標題 Neuropathophysiological significance of the c.1449T>C/p.(Tyr64Cys) mutation in the CDC42 gene responsible for Takenouchi-Kosaki syndrome.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BBRC	6. 最初と最後の頁 1033-1037
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.06.104	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 浜田奈々子、伊東秀記、永田浩一
2. 発表標題 電気穿孔法を用いた神経発達障害の病態解析
3. 学会等名 日本臨床分子形態学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

愛知県医療療育総合センター発達障害研究所 https://www.pref.aichi.jp/addc/eachfacility/hattatsu/index.html 発達障害研究所分子病態研究部 https://www.pref.aichi.jp/addc/eachfacility/hattatsu/department/index4.html
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	Yale School of Medicine		