

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：83902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26860839

研究課題名(和文) 自閉性障害・知的障害のリスク分子A2BP1による病態形成メカニズムの解析

研究課題名(英文) Pathophysiological analysis of A2BP1, a candidate gene for ASD, in the brain development

研究代表者

浜田 奈々子 (Hamada, Nanako)

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・神経制御学部・特別研究員

研究者番号：70721835

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)：A2BP1は、splicing制御因子であり、本遺伝子の欠失や重複が、自閉性障害(ASD)、知的障害、てんかん等の発達障害患者から多数同定されている。ASDにおけるA2BP1の病態学的意義を理解するために、発達期の大脳皮質形成過程におけるA2BP1の機能を解析した。A2BP1の発現抑制は大脳皮質神経細胞の移動障害、樹状突起の分岐減少、対側に伸びる軸索の伸長および対側皮質への進入抑制を引き起こした。さらにA2BP1を発現抑制した大脳皮質神経細胞では、NMDA受容体が機能せず、神経活動が低下していることが明らかとなり、これら一連の機能異常がASDの背景になっている可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Gene abnormalities in A2BP1, encoding an mRNA-splicing factor, have been shown to cause autism spectrum disorder (ASD) and other neurodevelopmental disorders. We analyzed the relevance of A2BP1 during mouse corticogenesis with in vivo and in vitro methods. Knockdown of A2BP1 caused abnormal neuronal positioning in the cortex, which was attributed to impaired migration. Axon extension and dendritic arborization were also suppressed in A2BP1-deficient cortical neurons. In addition, electrophysiology experiments revealed significant defects in the membrane and synaptic properties of A2BP1-deficient neurons. This study shows that A2BP1 plays an important role in neuronal migration and synapse network formation during corticogenesis. Defects in these critical processes may induce structural and functional defects in cortical neurons, and consequently contribute to the emergence of the clinical symptoms of ASD and other neurodevelopmental disorders in patients with A2BP1 abnormalities.

研究分野：cortical development

キーワード：A2BP1 ASD

### 1. 研究開始当初の背景

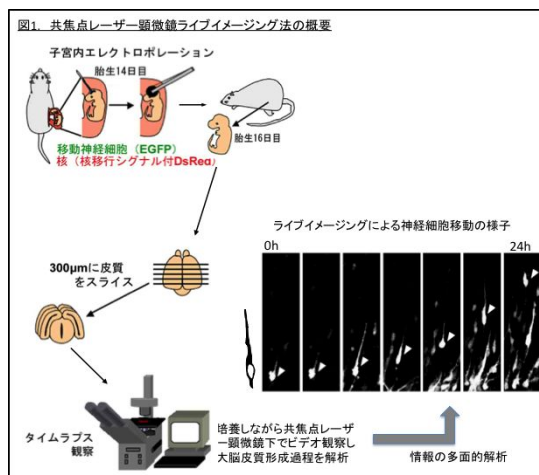
A2BP1 (Fox1、Rbfox1) は、alternative splicing 制御因子であり、神経組織の分化、発達、さらに神経機能発現において必須の役割を担うと考えられている。実際、A2BP1 遺伝子の欠失や重複が、自閉性障害(ASD)、知的障害、てんかん等の発達障害患者から多数同定されている。しかし A2BP1 の機能不全が発達障害の病態を形成するメカニズムについては全く知見がない。

### 2. 研究の目的

ASD における A2BP1 の病態学的意義を理解するために、発達期の大脳皮質形成過程における A2BP1 の機能を解析した。

### 3. 研究の方法

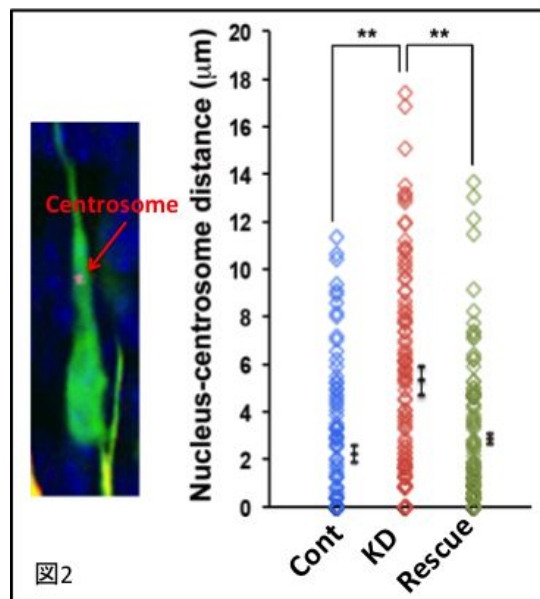
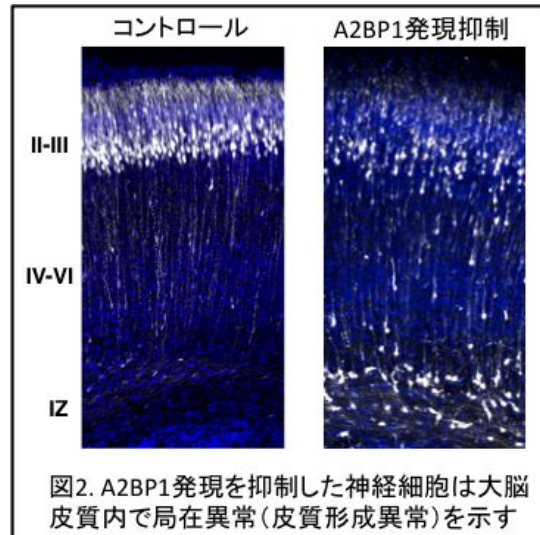
子宮内胎仔脳遺伝子導入法 (in utero electroporation) を用いて発達期のマウス大脳皮質で A2BP1 を発現抑制し、神経細胞の移動、樹状突起や軸索の発達を観察した。また移動障害の実態を詳細に解析するために共焦点顕微鏡ライブイメージングを行った。in utero electroporation により A2BP1 の RNAi ベクターを導入し、2 日後に脳切片を作成し、共焦点顕微鏡ライブイメージングを 24 時間行い、幹細胞から分裂した新生ニューロンが中間帯から皮質へと移動し、皮質内を脳表面へと移動する様子を観察した(図1参照)。



### 4. 研究成果

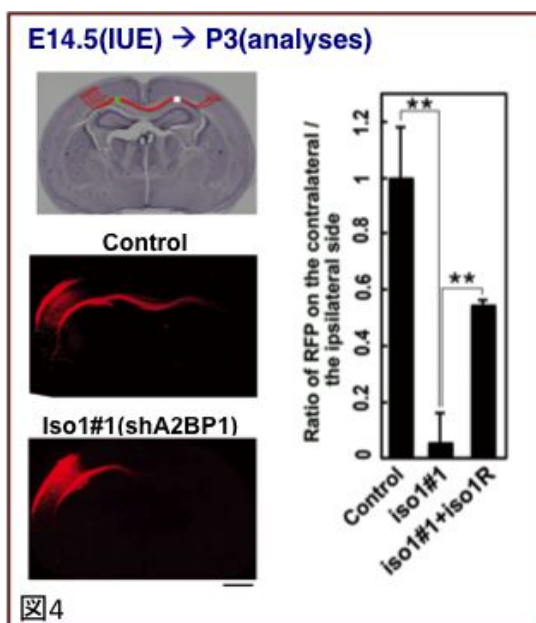
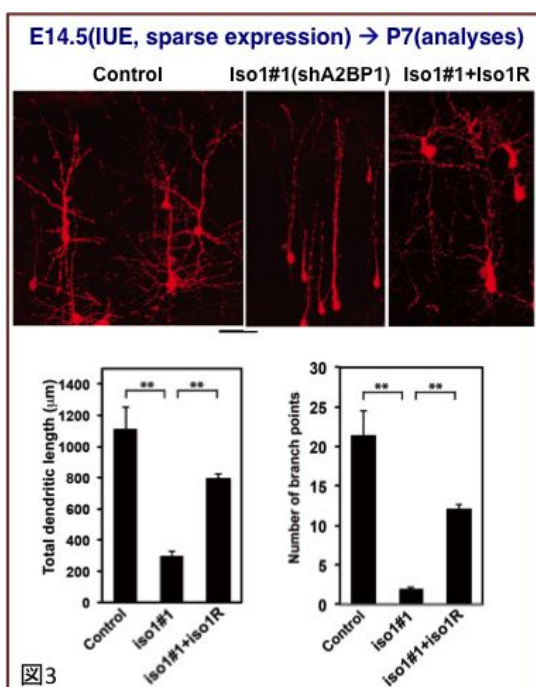
A2BP1 を大脳皮質神経細胞で発現抑制す

ると、大脳皮質神経細胞の移動障害を引き起こし、それらの神経細胞では核と中心体の距離が異常に長くなっていた(図2参照)。



脳切片の共焦点顕微鏡ライブイメージング解析を行い、幹細胞から分裂した新生ニューロンが中間帯から皮質へと移動し、皮質内を脳表面へと移動する様子を観察した。その結果、A2BP1 の機能が阻害された大脳皮質神経細胞では、1) 中間帯から皮質へ移行できない、2) 皮質へ移行できた場合にも大脳皮質表面に向かう移動が遅い、という表現型が観察された。また A2BP1 を発現抑制した大脳皮質神経細胞では、発達期において樹状突起の分岐が減少し、対側に伸びる軸索の伸長および対側皮質への進入が抑制された(図3、4

参照)。樹状突起、軸索の発達抑制はマウス海馬初代培養神経細胞でも同様に確認された。さらに A2BP1 を発現抑制した大脳皮質神経細胞における電気生理学解析において、抑制性シナプス後電流の頻度、振幅が抑制され、興奮性シナプス後電流の頻度も低下していた。さらに NMDA 受容体が殆ど機能していないことが明らかとなり、これら一連の機能異常が ASD の背景になっている可能性が示された。



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 2件)

1. Hamada N, Ito H, Nishijo T, Iwamoto I, Morishita R, Tabata H, Momiyama T, Nagata K. Essential role of the nuclear isoform of RBFOX1, a candidate gene for autism spectrum disorders, in the brain development. *Sci. Rep.* 査読有り 2016 2;6:30805. doi: 10.1038
2. Hamada N, Ito H, Iwamoto I, Morishita R, Tabata H, Nagata K. Role of the cytoplasmic isoform of RBFOX1/A2BP1 in establishing the architecture of the developing cerebral cortex. *Mol. Autism.* 査読有り 6:56, 2015. DOI 10.1186

[学会発表](計 4件)

1. 浜田 奈々子、伊東 秀記、田畑 秀典、永田 浩一 Rbfox1, an autism causal gene, plays an essential role in cortical development 25<sup>th</sup> International Society for Neurochemistry Meeting Cairns, Australia 2015.8.23-27
2. 浜田奈々子、伊東秀記、田畑秀典、永田浩一 Comprehensive approach with an analytical battery to understand pathophysiological role of RBFOX1/A2BP1, a "hub" gene in the ASD gene transcriptome network Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology Pathways of Neurodevelopmental Disorders California, 2015.3.16-20
3. 浜田 奈々子、伊東 秀記、田畑 秀典、永田 浩一 自閉症・知的障害原因遺伝子 A2BP1 の大脳皮質形成における機能解析 第 87 回日本生化学会大会、京都、2014.10.15-18
4. 浜田 奈々子、田畑 秀典、伊東 秀

記、永田 浩一 Autism risk gene, A2BP1, plays an essential role in cortical development. 第37回日本神経科学大会、横浜、2014.9.11-13

( )

研究者番号：

〔図書〕(計 0 件)

(4)研究協力者

( )

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

浜田 奈々子 (HAMADA Nanako)  
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・神経制御学部・学術振興会特別研究員  
PD  
研究者番号：70721835

### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

### (3)連携研究者