

2022年2月19日

日本学術会議・公開シンポジウム  
「子どもの毒性学：子供の高次脳機能への化学物質曝露影響の把握に関わる、臨床、  
応用および基礎科学の現状と展望」

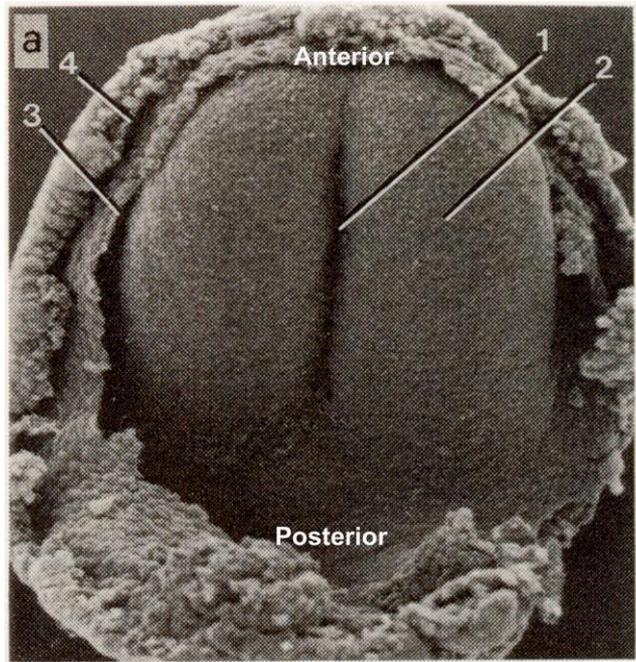
## AUTS2遺伝子と脳神経発達、そして精神疾患

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

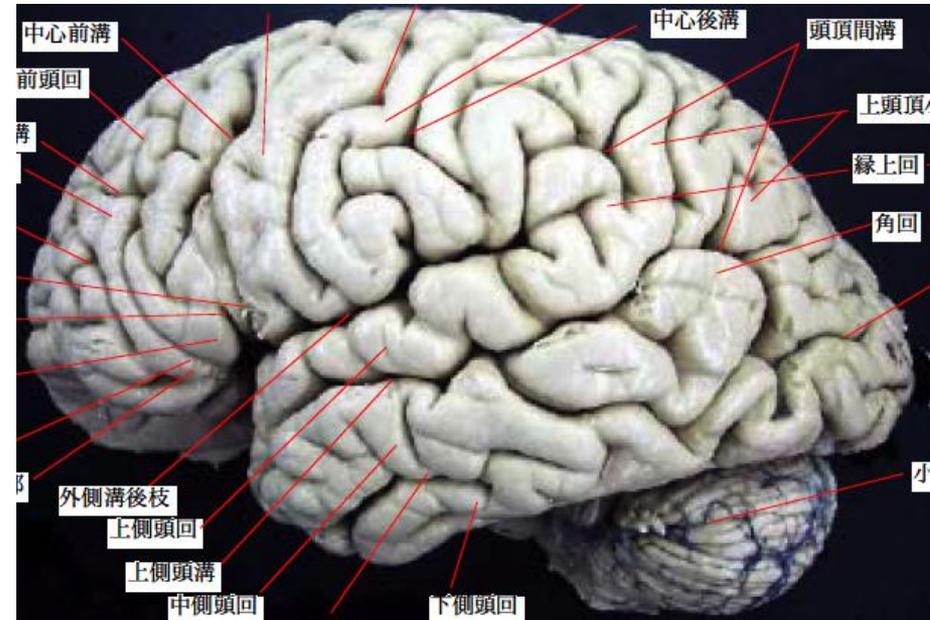
星野 幹雄

[http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r\\_diag/](http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r_diag/)

お母さんのお腹の中のごく  
初期の胎児の脳



大人の脳



## 神経板

Neural plate

この過程では、**遺伝子プログラム**、が働いている

いきなり出来上がるのではなく、ステップ・バイ・ステップに作られる

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の産生



神経細胞の移動



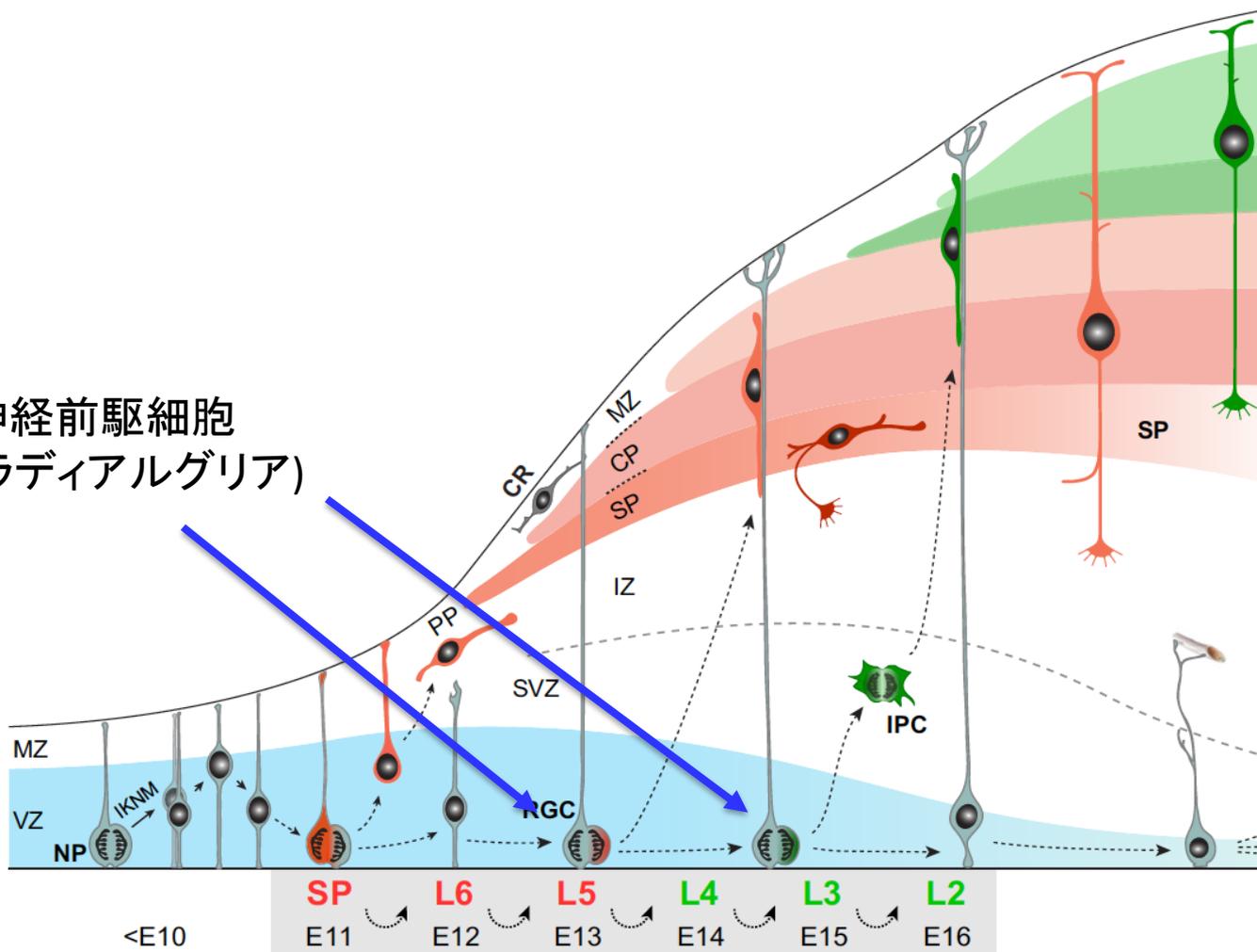
神経突起の伸長



シナプスの形成

# 神経細胞の誕生と移動

神経前駆細胞  
(ラディアルグリア)



Expansion  
of NP pool

Neurogenesis

(Kwan et al., *Development*, 2012)

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の産生



神経細胞の移動

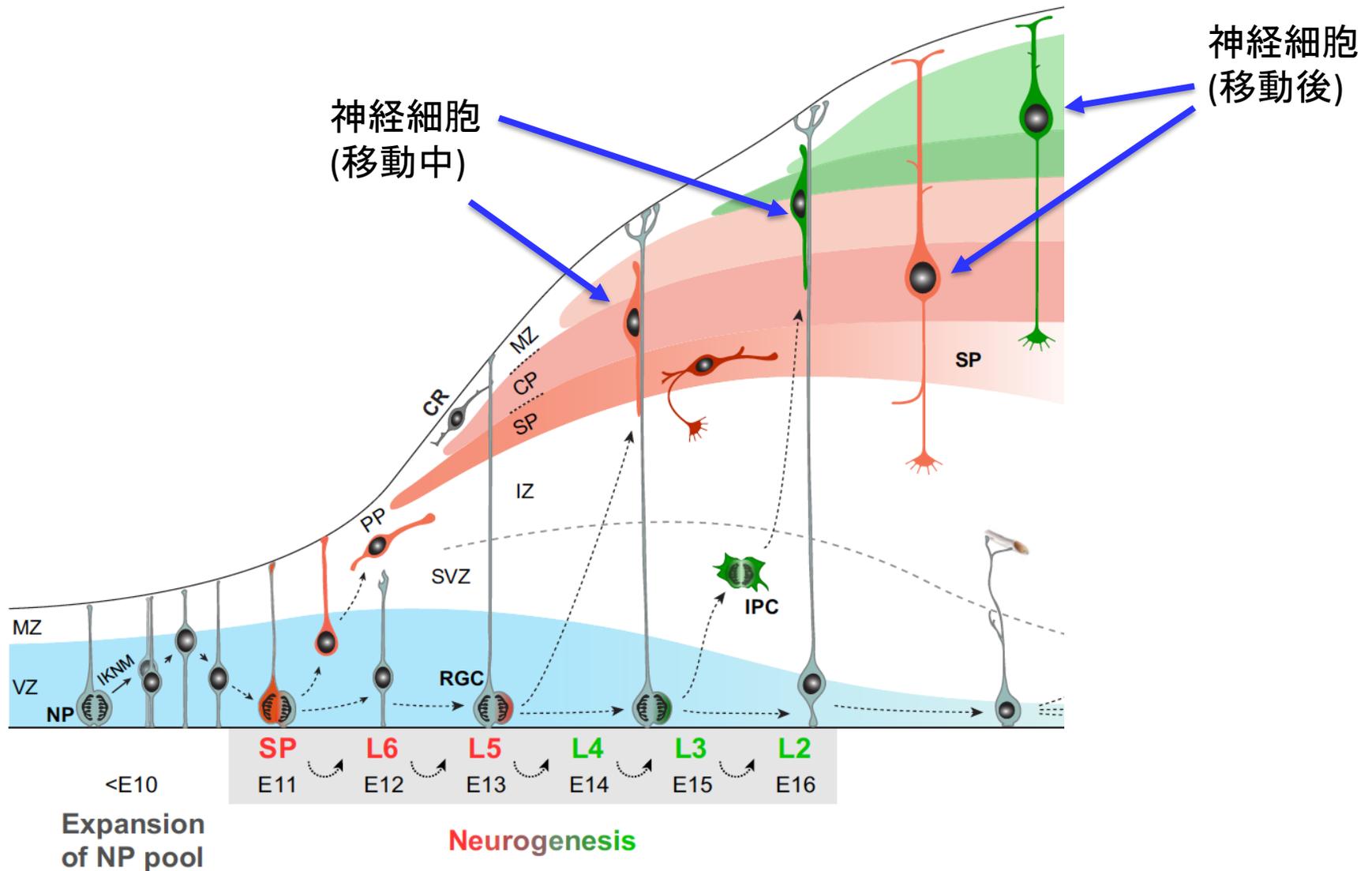


神経突起の伸長



シナプスの形成

# 神経細胞の誕生と移動



(Kwan et al., Development, 2012)

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の誕生



神経細胞の移動



神経突起の伸長



シナプスの形成

# 脳発達・脳形成は段階的におこる

神経細胞の誕生



神経細胞の移動



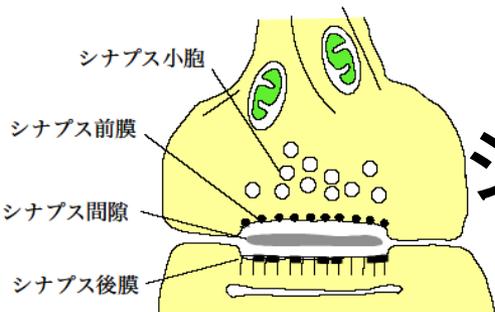
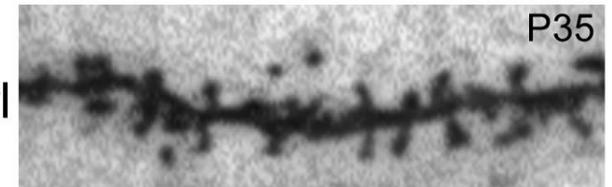
神経突起の伸長



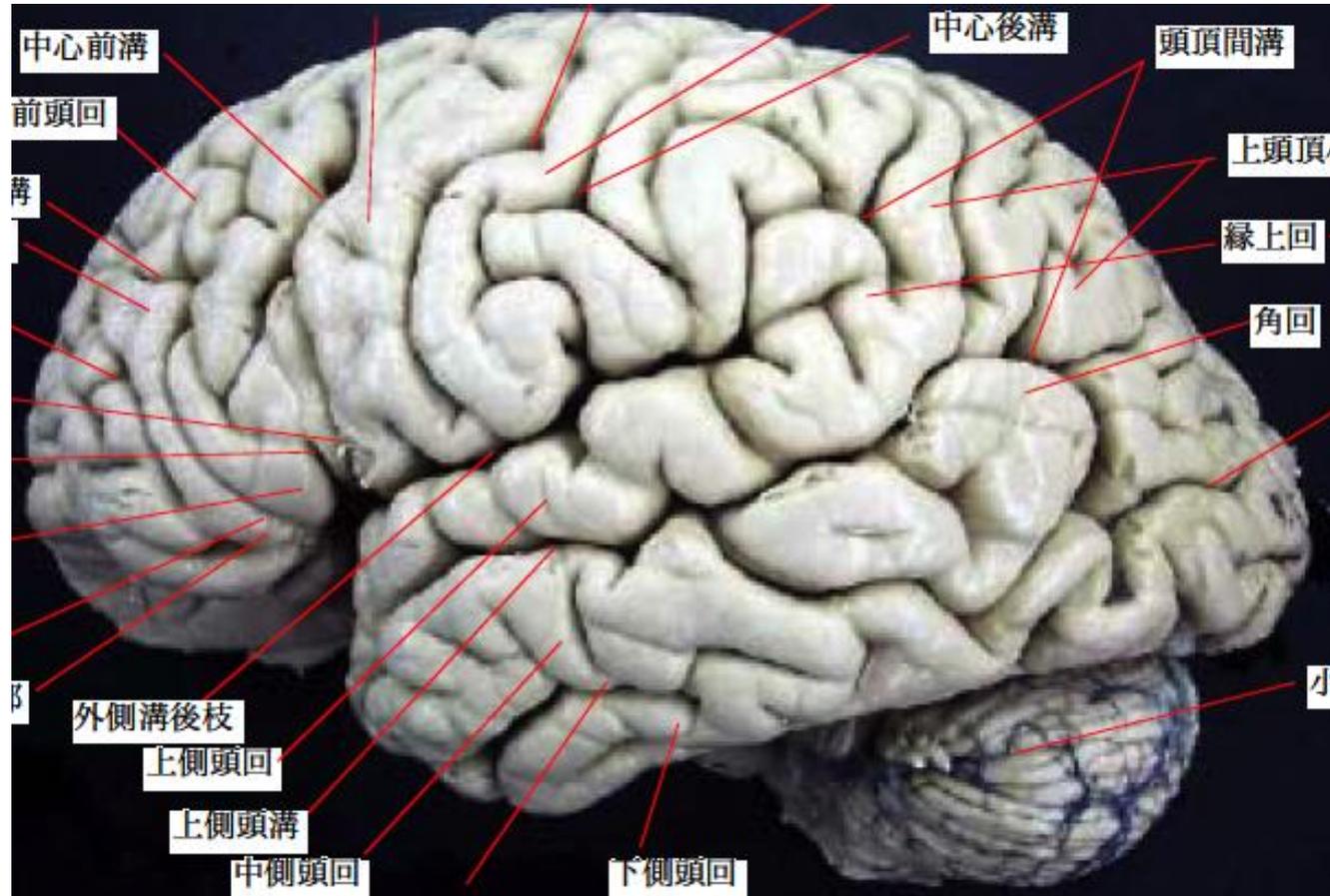
シナプスの形成



L2/3 pyramidal cells at mPFC



# やっと、脳ができる



しかし、いろいろな原因で、その発達がうまくいかないことがある

# 遺伝要因と環境要因

# 精神疾患・てんかん等の病態モデル

神経発達障害仮説

遺伝要因・遺伝子に傷



胎性期・周産期の問題

思春期・青年期の  
心理社会的ストレス

ウイルス感染、親の年齢  
早産

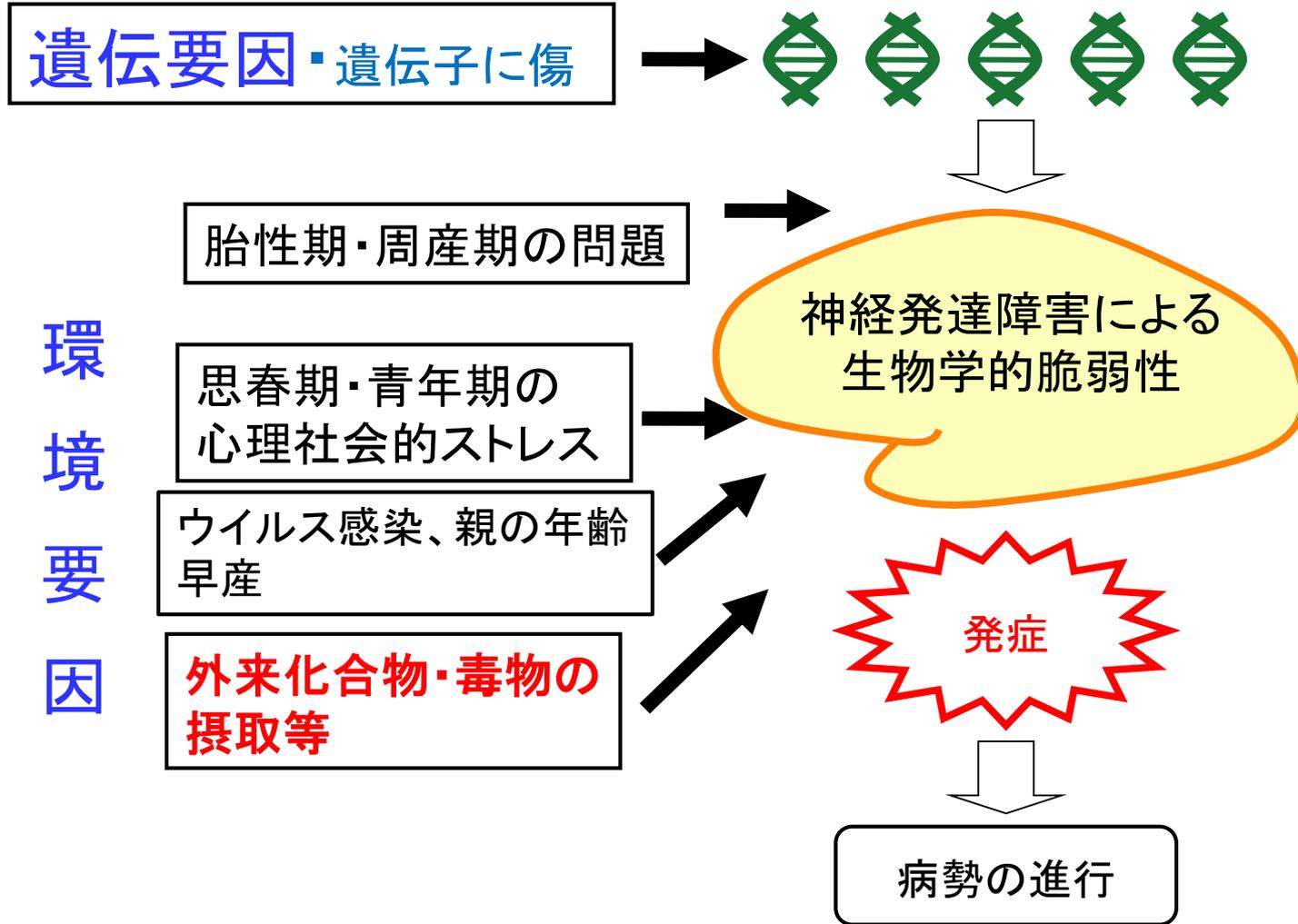
外来化合物・毒物の  
摂取等

神経発達障害による  
生物学的脆弱性

発症

病勢の進行

環  
境  
要  
因



# 脳発達・脳形成は段階的におこる

厳密な遺伝子プログラム  
環境による攪乱

神経細胞の産生

小脳症 etc



神経細胞の移動

滑脳症・てんかん etc



神経突起の伸長

回路形成異常 etc



シナプスの形成

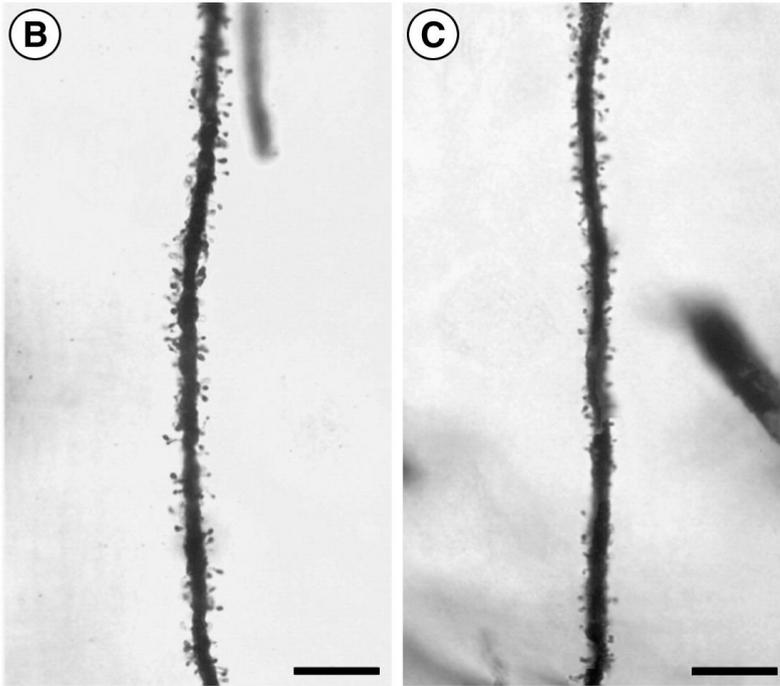
自閉スペクトラム症  
統合失調症 etc

# 疾患脳解析：疾患とシナプス数

自閉スペクトラム症ではシナプス増加

自閉スペ  
クトラム症

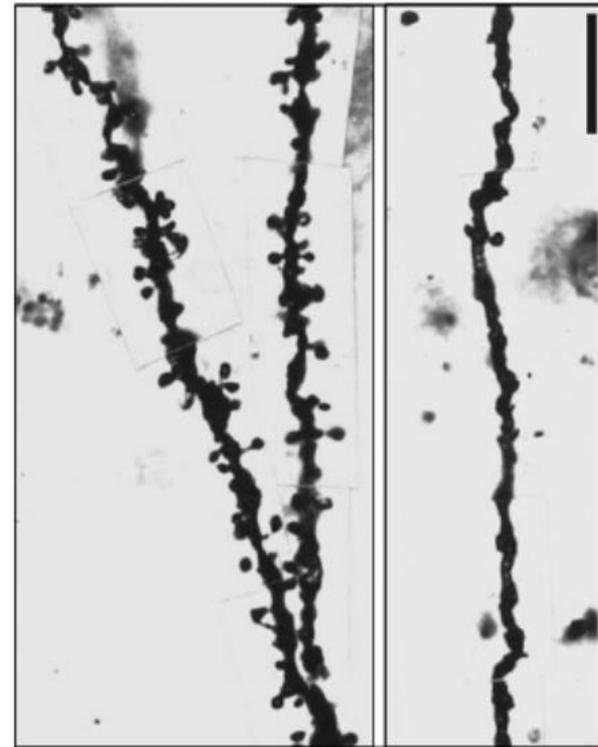
通常脳



統合失調症ではシナプス減少

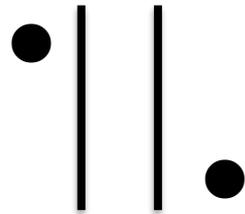
A 通常脳

統合失調症



必ずしも常にこうだとは限りませんが、、、

# 脳神経発生・発達の研究



## その障害によってもたらされる 脳疾患の研究

まず、脳神経系の発生・発達メカニズムについて研究し、  
次に、その障害によってどのように疾患の原因・誘因となるかを研究

外来化合物、毒物との関連については、最後に触れます。。

# AUTS2 (Autism Susceptibility Candidate 2) 遺伝子

## 自閉スペクトラム症 (ASD) 2002

知的障害

ADHD

統合失調症

うつ病

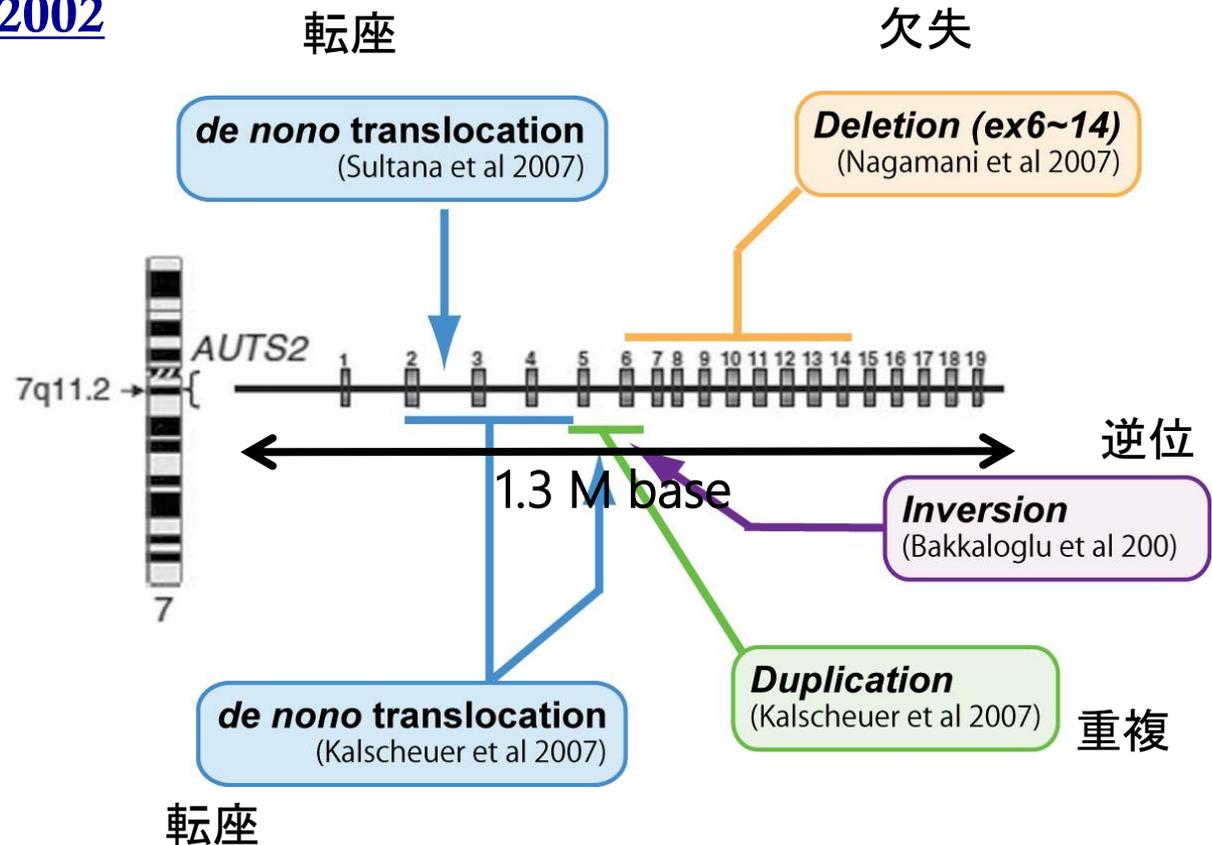
薬物依存

てんかん

言語発達障害

失読症

構音障害



様々な精神・神経発達障害の誘因・原因

# AUTS2遺伝子の変異と相貌

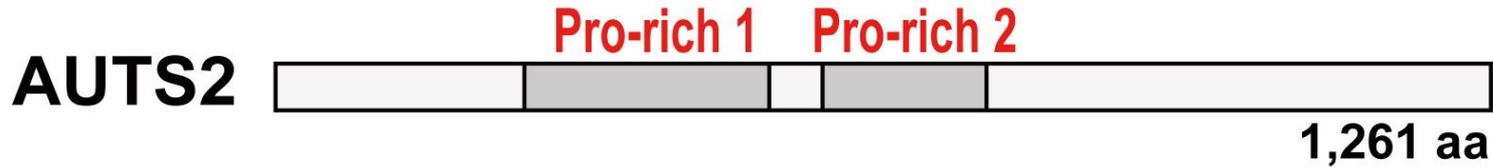


*Am J Hum Genet (2013)*

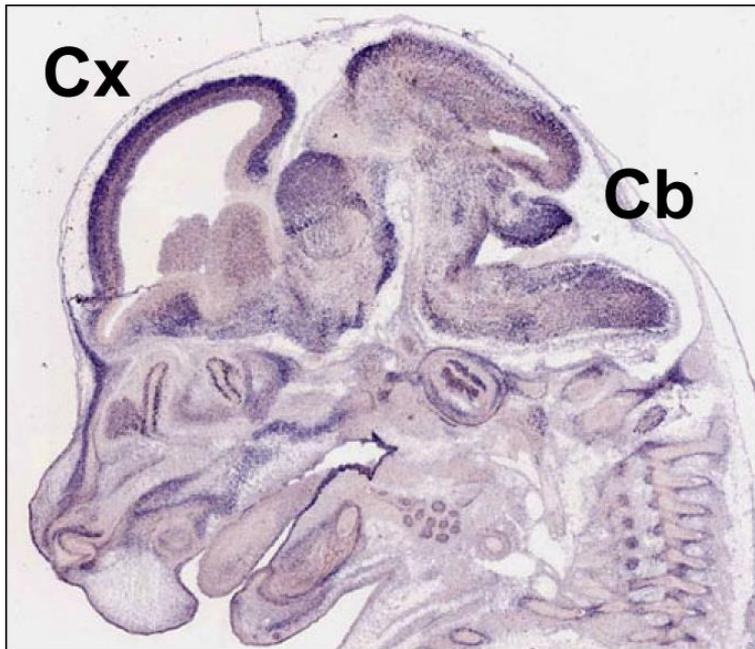
## AUTS2 症候群

脳神経機能の変化+ 相貌の変化

# Auts2は脳神経系の様々な部位で発現する

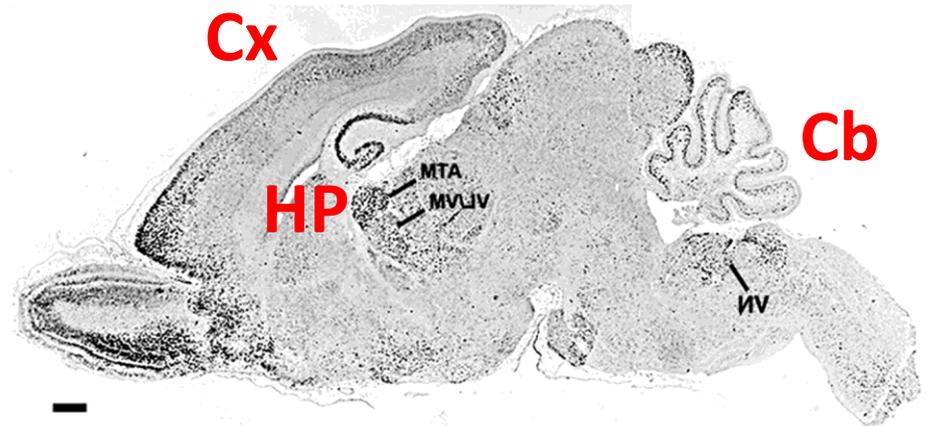


**Embryo (E14)**



(GenePaint.org)

**Adult (P21)**

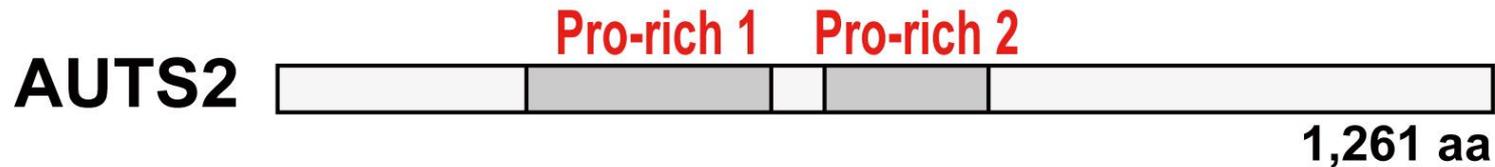


Bedogni et al., Gene Exp Pat 2010

前頭前皮質(大脳皮質の前方)  
海馬、小脳、など

分子機能は不明 → この遺伝子異常でどのようにして疾患が引き起こされるかも不明

# AUTS2のタンパク質の構造



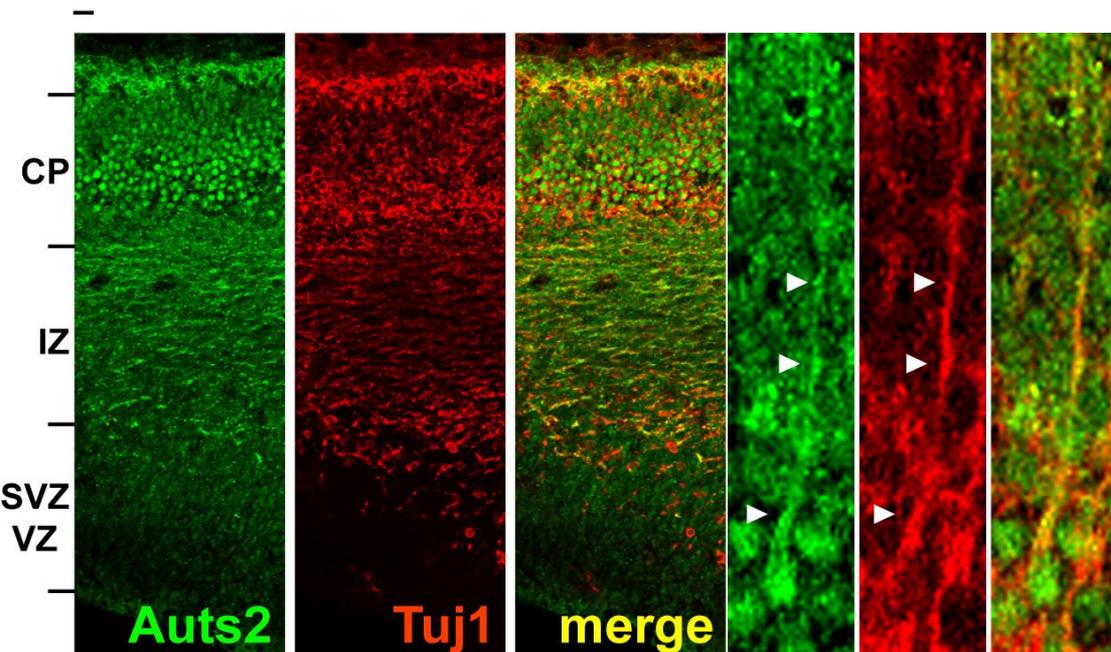
しかし分子機能は、ほとんどわかっていなかった。  
脳発達における役割もよくわかっていなかった。

## AUTS2の細胞内での働き、脳発達における働きの解明

AUTS2遺伝子の変異による患者さんではどのような脳発達異常があり、どのように疾患が惹起されるか、  
すなわち、患者さんの**病態解明**

# 発達過程の脳におけるAuts2の発現

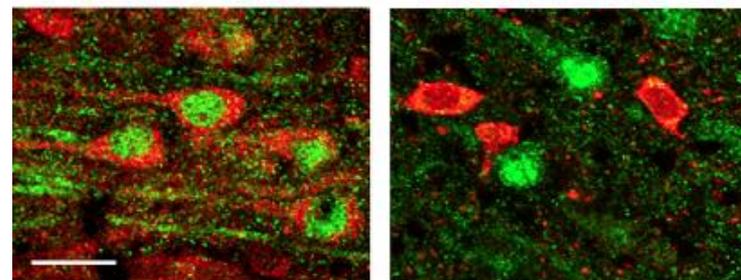
## マウス脳(E14.5)



P7

Auts2 / Glu

Auts2/GABA

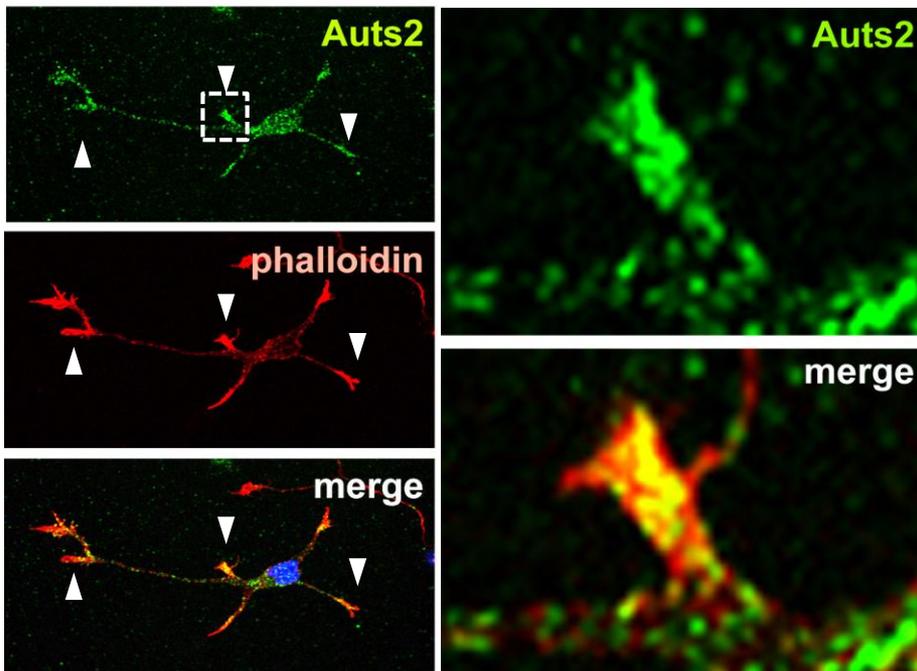


神経細胞で発現する(特に興奮性神経細胞)

核にもそれ以外(細胞質)にも存在するよう見える。

# 海馬培養神経細胞におけるAuts2の細胞内局在

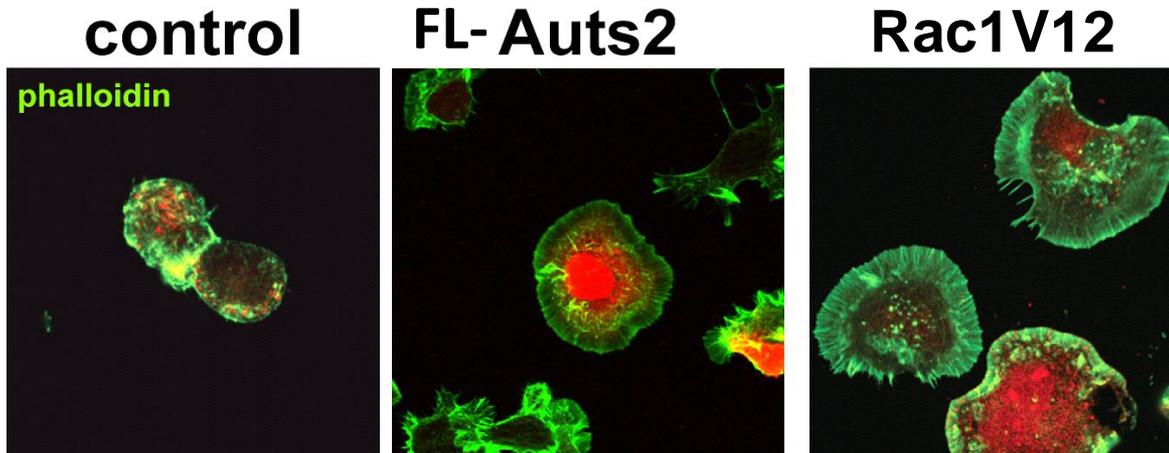
primary hippocampal neurons



神経突起の先端部分に特に濃縮。  
そこで、アクチン細胞骨格と重なって見える

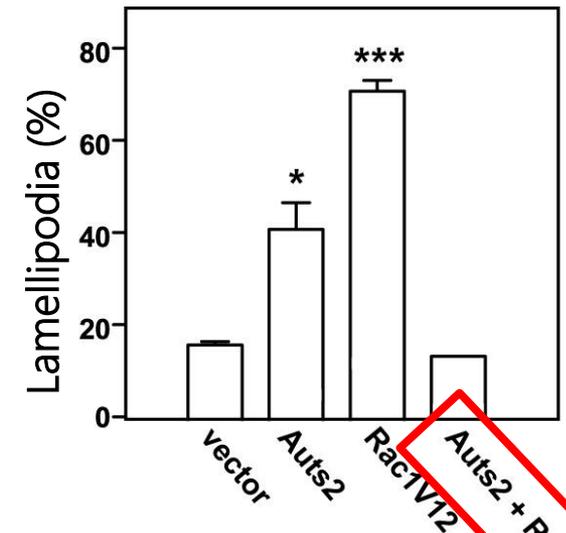
# AUTS2 遺伝子の細胞内での強制発現実験

N1E-115 cells (with serum)



Round

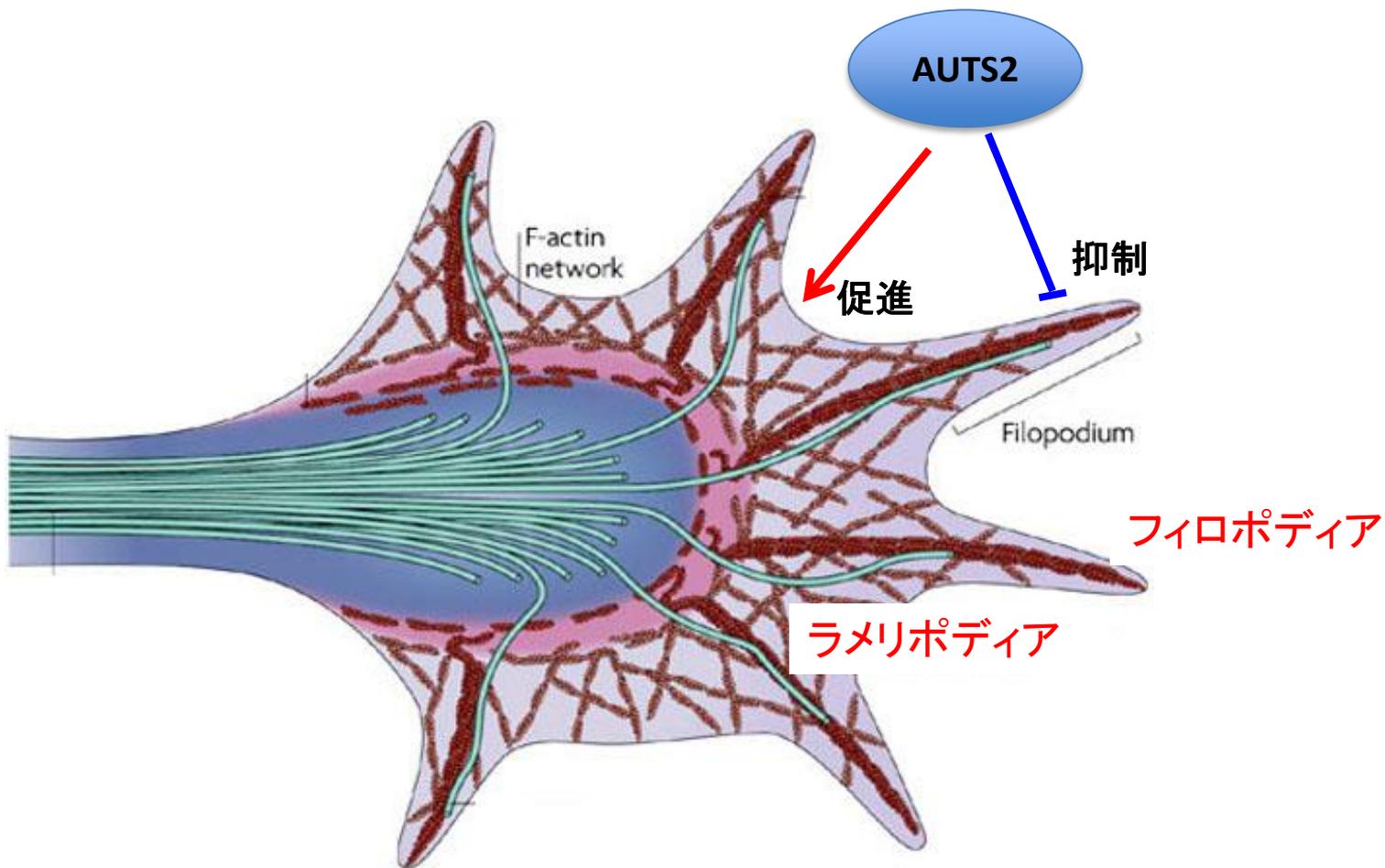
Lamellipodia



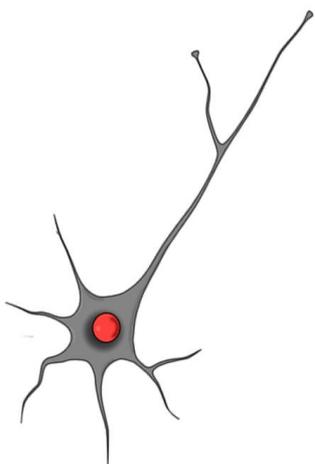
Suppressed by  
dominant-negative Rac1

AUTS2はラメリポディアを引き起こす。

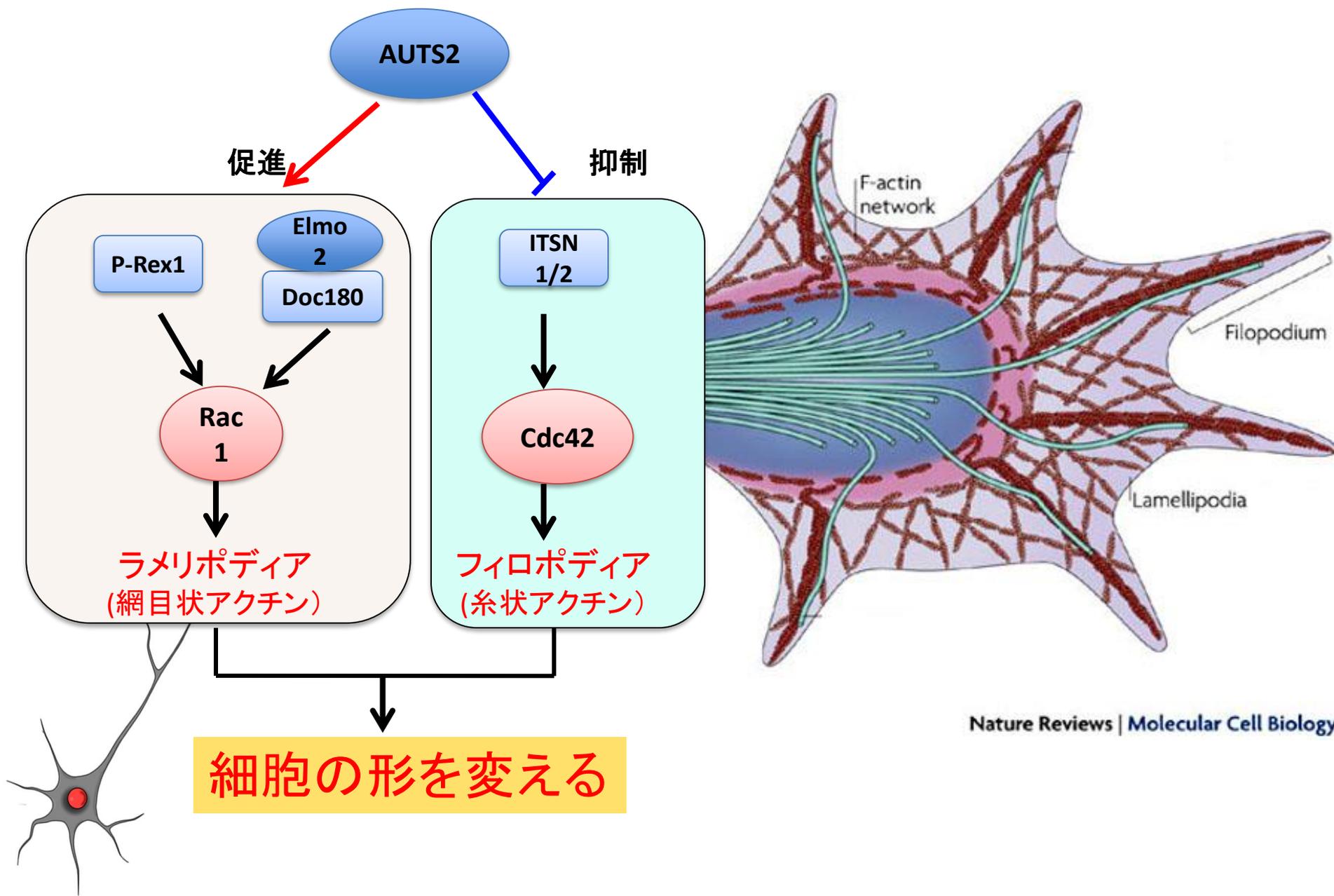
# 細胞骨格 と AUTS2の細胞内での機能



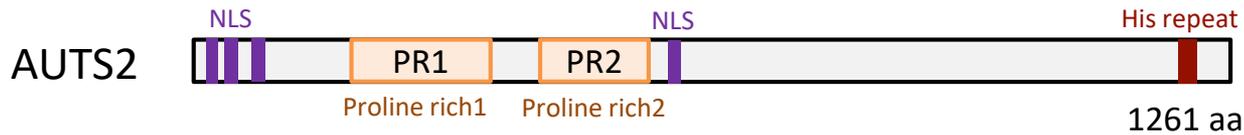
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



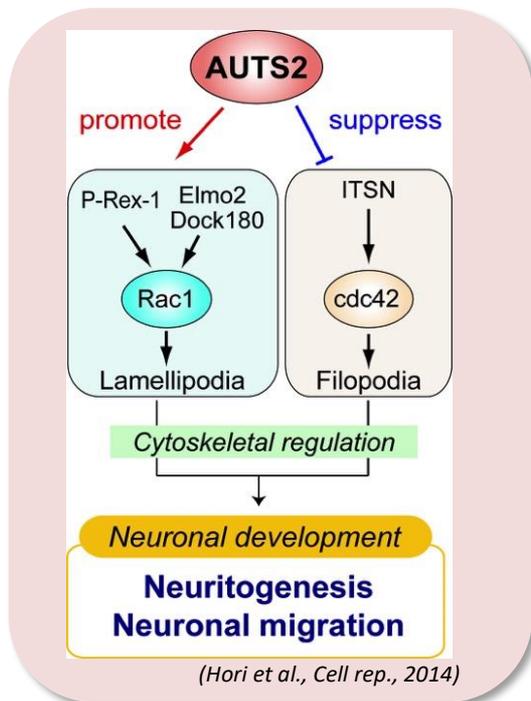
# AUTS2の細胞質での機能



# 細胞内での役割 細胞質 vs 細胞核



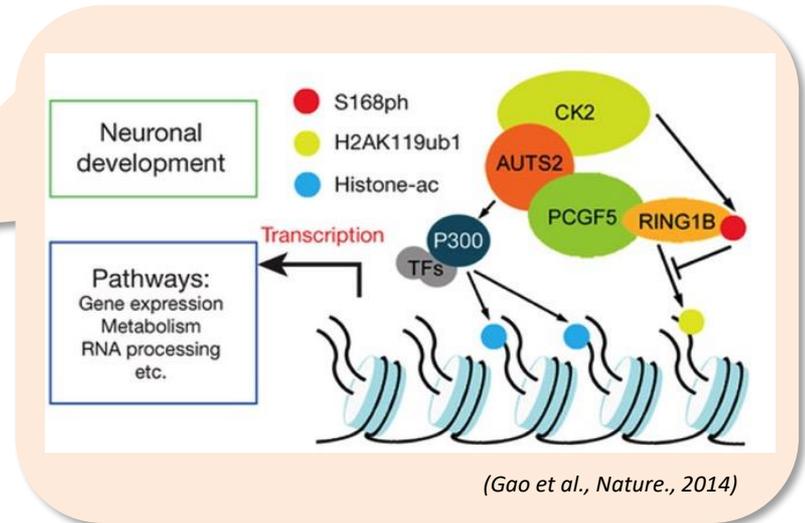
## 細胞質



細胞骨格系を制御する

## 細胞核

### 細胞内での役割



転写を制御する因子として働く  
 (PRC複合体1の構成因子として)

Gao et al, Nature. 2014

Hori et al, Cell Rep. 2014

神経発達にはどのような役割があるのか？

# AUTS2はどの段階で働いているのか？

実は…**全て**に関わってました  
重要なはずです。。。

神経細胞の産生



細胞核のAUTS2

Shimaoka et al, 論文準備中



神経細胞の移動



細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



神経突起の伸長



細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



シナプスの形成



細胞核のAUTS2

Hori et al, iScience 2020  
Yamashiro et al, iScience 2020

# AUTS2はどの段階で働いているのか？

神経細胞の産生

細胞核のAUTS2

Shimaoka et al, 論文準備中



神経細胞の移動

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



神経突起の伸長

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



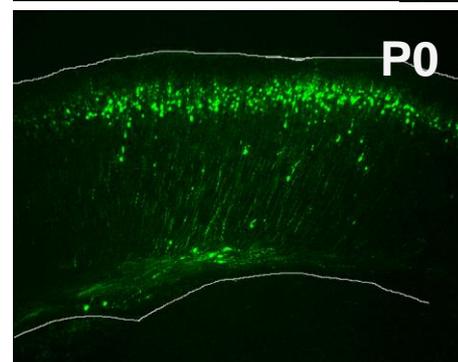
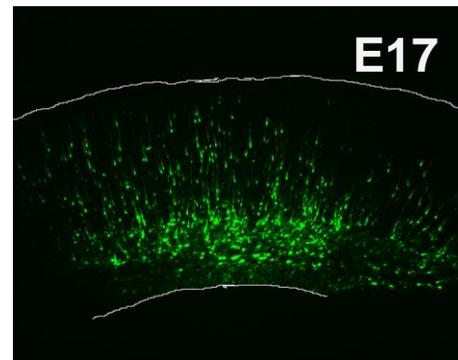
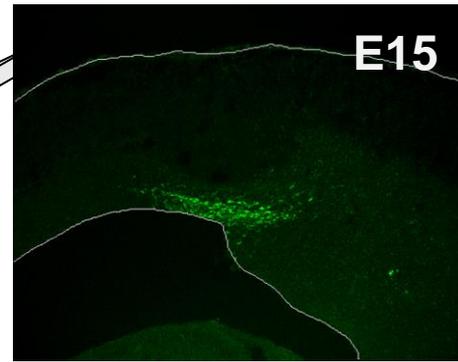
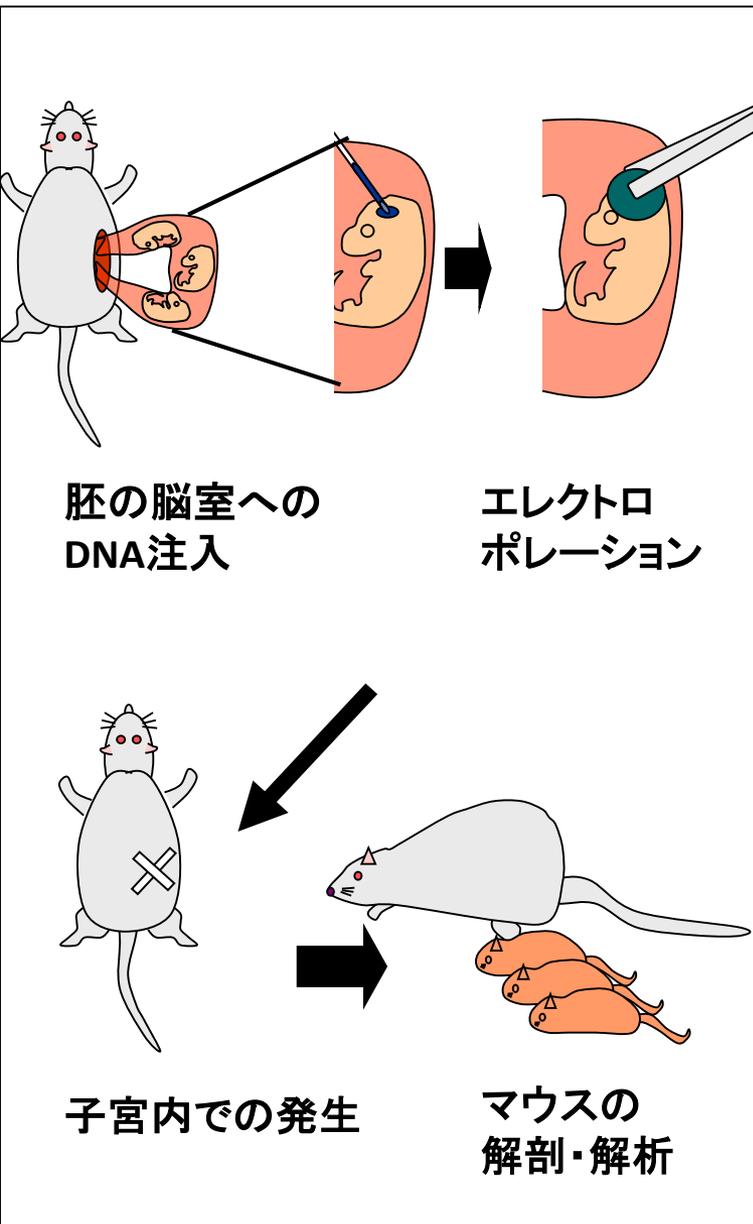
シナプスの形成

細胞核のAUTS2

Hori et al, iScience 2021

Yamashiro et al, iScience 2021

# 子宮内エレクトロポレーションによる脳室帯への遺伝子導入 (GFP)



## E14に electroporation

利点

簡便に効率良く  
遺伝子を導入  
できる

遺伝子導入細胞の  
形態を詳細に  
観察できる

# Auts2 ノックアウト(KO)マウス - 神経細胞移動の障害

**Auts2 KO**

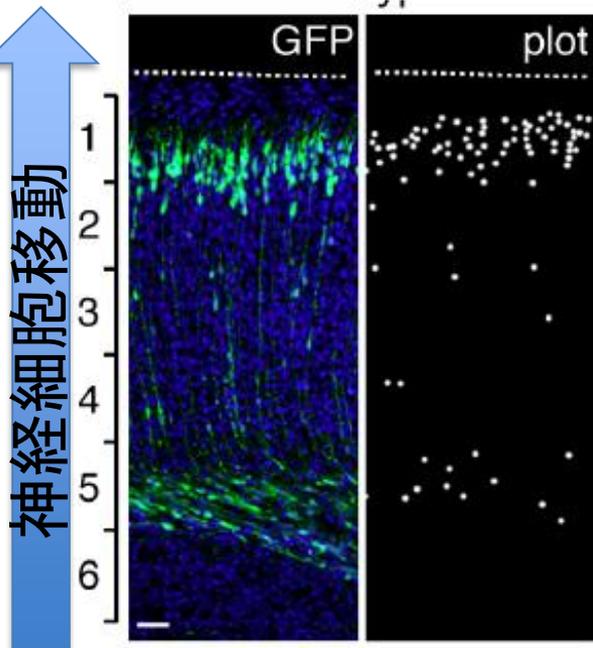
GFP EP

組織固定

胎生14日

胎生18日

正常マウス



ノックアウトマウスでは、神経細胞の移動に障害。

→ AUTS2が神経細胞移動に関与している。

→ 患者さんでも同様の脳発達障害がある可能性

細胞質なんです。

Data 出せないですけど

# AUTS2はどの段階で働いているのか？

神経細胞の産生

細胞核のAUTS2

Shimaoka et al, 論文準備中



神経細胞の移動

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



神経突起の伸長

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



シナプスの形成

細胞核のAUTS2

Hori et al, iScience 2021  
Yamashiro et al, iScience 2021

# 神経軸索の伸長の評価

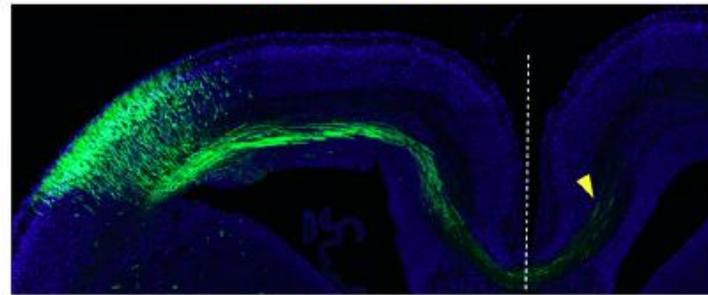
マウス



GFP / DAPI

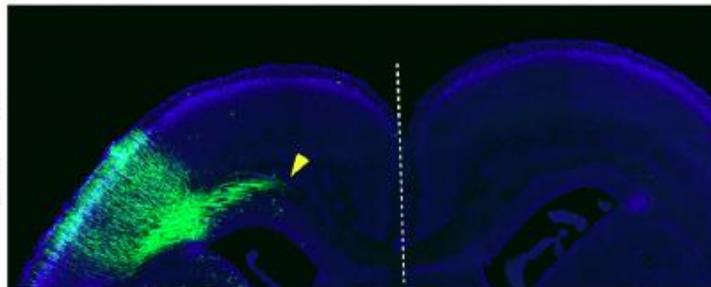
正常マウス

GFP



ノックアウト

vector



ノックアウトでは、神経軸索の伸長に障害。

→ AUTS2が神経軸索伸長に関与している。

→ 患者さんでも同様の脳発達異常がある可能性

細胞質なんです。

Data 出せないですけど

# AUTS2はどの段階で働いているのか？

神経細胞の産生

細胞核のAUTS2

Shimaoka et al, 論文準備中



神経細胞の移動

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



神経突起の伸長

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



シナプスの形成

細胞核のAUTS2

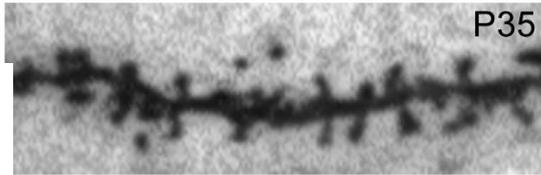
Hori et al, iScience 2020  
(Yamashiro et al, iScience 2020)

# Auts2ノックアウトマウスではシナプス(spine)の数が増加する

## 大脳皮質

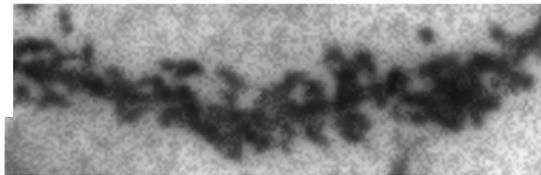
L2/3 pyramidal cells at mPFC

正常



P35

KOホモ



Emx1-Cre:Auts2-flox

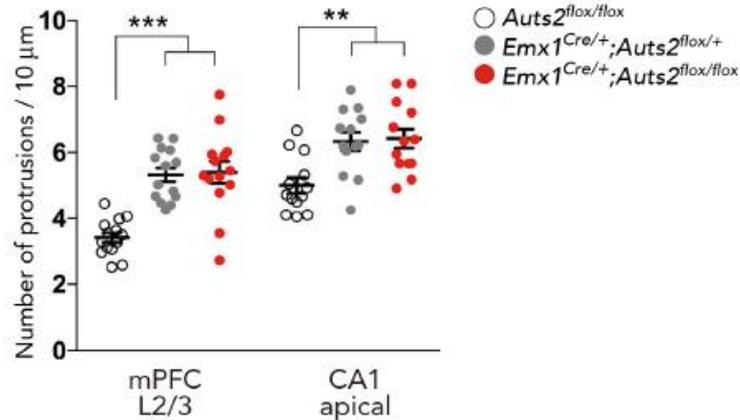
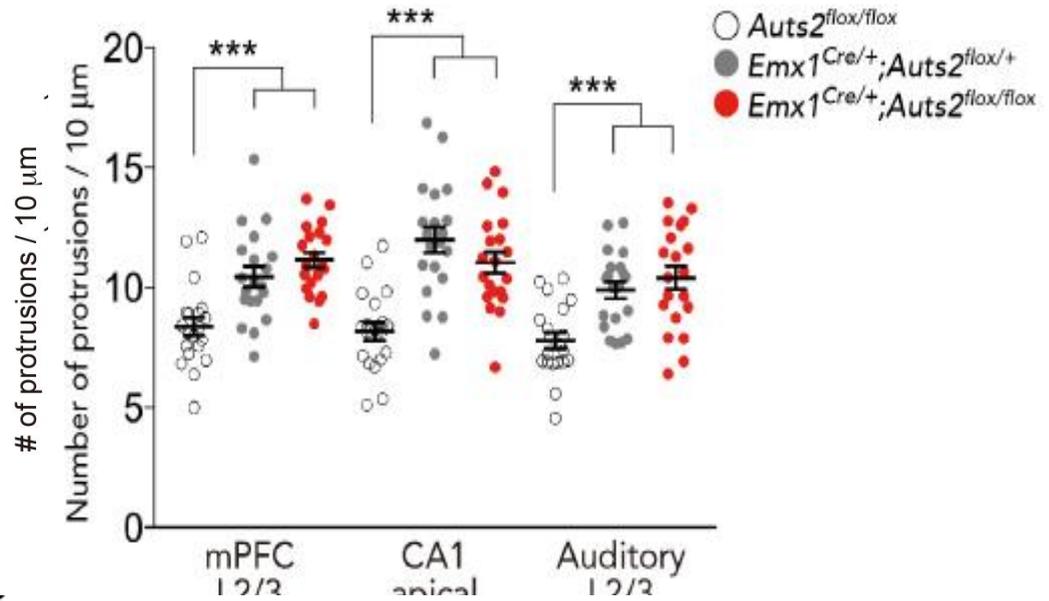
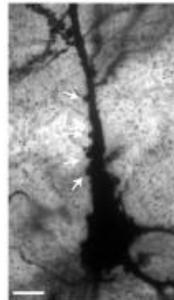
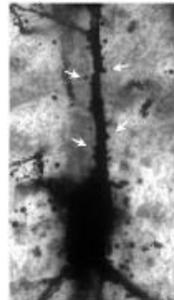
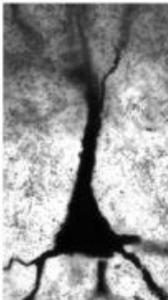
## 海馬

正常

KOヘテロ

KOホモ

CA1 pyramidal neurons



Hori et al,  
*iScience*, 2020

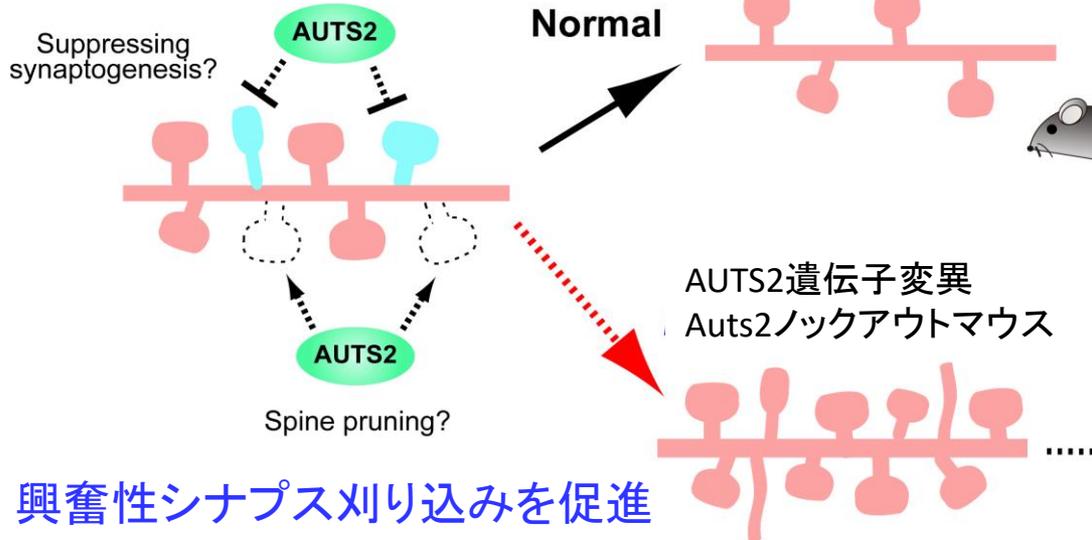
**AUTS2は、シナプスの数を制限する(ができすぎないようにする)機能があるのかも**

# AUTS2によるシナプス数の制御と、病理

興奮性シナプス新生を抑制

興奮性シナプスの数を適正に保つ

Suppressing synaptogenesis?

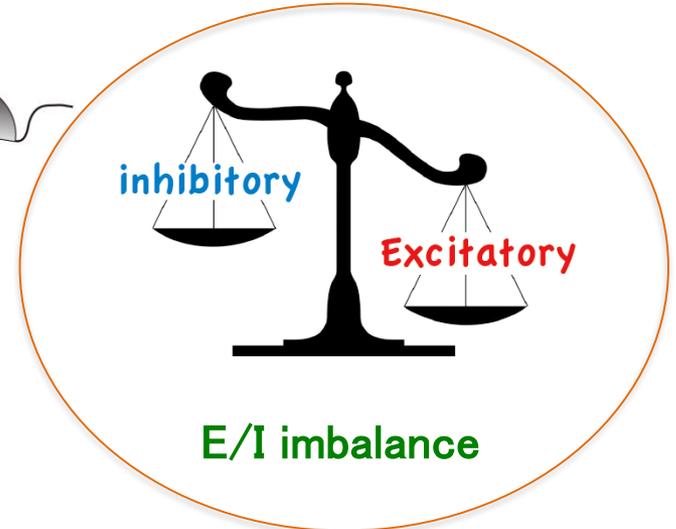


Spine pruning?

興奮性シナプス刈り込みを促進

AUTS2遺伝子変異  
Auts2ノックアウトマウス

興奮性シナプスの数が増える



脳内での興奮性/抑制性のバランスが崩れる

病態につながる

# AUTS2の機能が損なわれると、脳の機能はどうなるのか？

神経細胞の産生

細胞核のAUTS2

Shimaoka et al, 論文準備中



神経細胞の移動

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



神経突起の伸長

細胞質のAUTS2

Hori et al, Cell Rep 2014



シナプスの形成

細胞核のAUTS2

Hori et al, iScience 2021

Yamashiro et al, iScience 2021

ノックアウトマウスを使った行動解析

# AUTS2ノックアウトマウスの行動解析

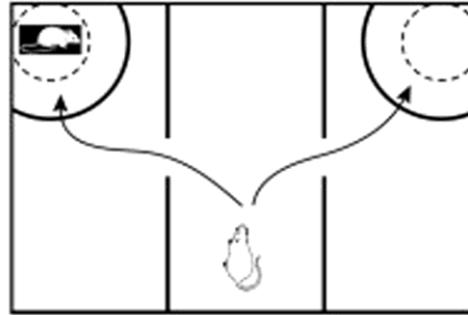
## オープンフィールドテスト



## 高架十字迷路テスト



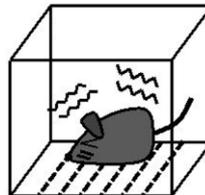
## 3チャンバーテスト



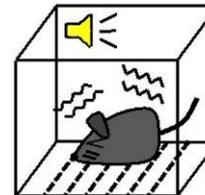
Conditioning

恐怖条件付け  
テスト

24 hrs



Context

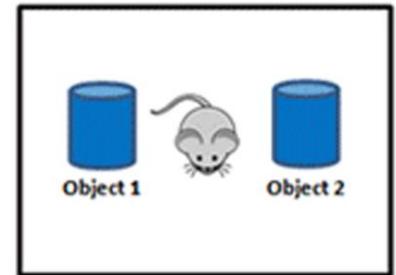


Tone

名古屋大学医学部  
山田先生、永井先生  
との共同研究

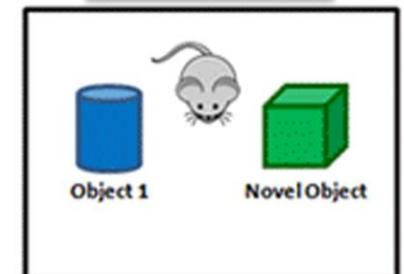
## 新規物体認識テスト

### Training



24 hrs

### Retention



# Auts2 KOマウスの行動異常

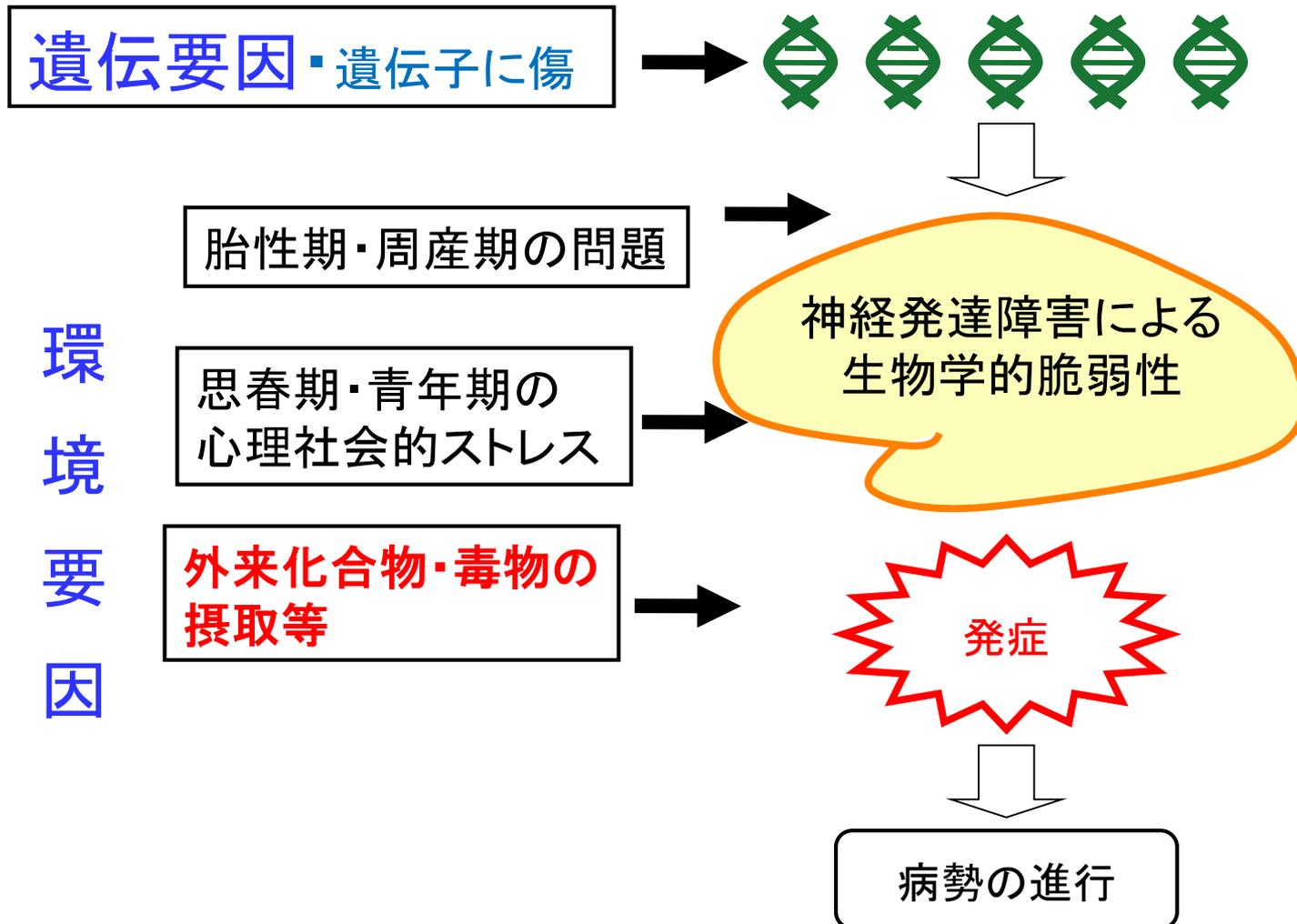
行動解析試験	何を調べるのか	KOマウス (A型)	KO マウス (B型)
運動活動テスト	運動機能	Decreased	No change (60 min) or decreased (first 15min)
オープンフィールドテスト	不安関連テスト	不安の低下 Increased	No change
Time spent in inner sector		Increased	No change
Distance traveled ratio		Increased	No change
Total distance traveled		Decreased	Decreased
高架十字迷路テスト	不安関連行動	不安の低下 Increased (p < 0.01)	不安の低下 No change
% Open arm time		Increased (p < 0.01)	No change
% Closed arm time		No change	No change
Total arm entry		No change	No change
3チャンバーテスト	社会性行動	No change	社会性の低下
Sociability		No change	Decreased
Social novelty		No change	Decreased
新規物体認識テスト	記憶力	記憶の低下 Decreased	記憶の低下 Decreased
Exploratory index		Decreased	Decreased
Total exploration time		No change	No change
恐怖条件付けテスト	記憶・学習	記憶の低下 Decreased	No change
Tone-dependent		Decreased	No change
Context-dependent		皮膚感覚過敏	皮膚感覚過敏
Nociceptive threshold	皮膚感覚	Decreased	Decreased
プレパルス驚愕反応抑制(PPI)	Sensorimotor gating	No change	Decreased 統合失調症様
PPI		No change	Decreased
Startle reflex at 120 dB	聴覚過敏	Increased	Increased 聴覚過敏

疾患モデル動物として、十分に役立ちそう

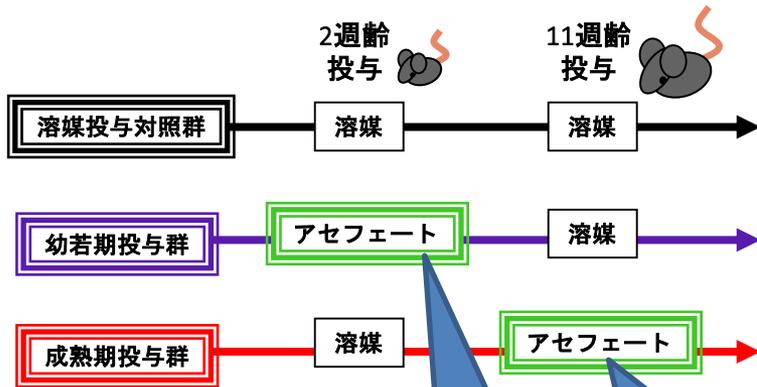
# 遺伝要因と環境要因

精神疾患・てんかん等の病態モデル

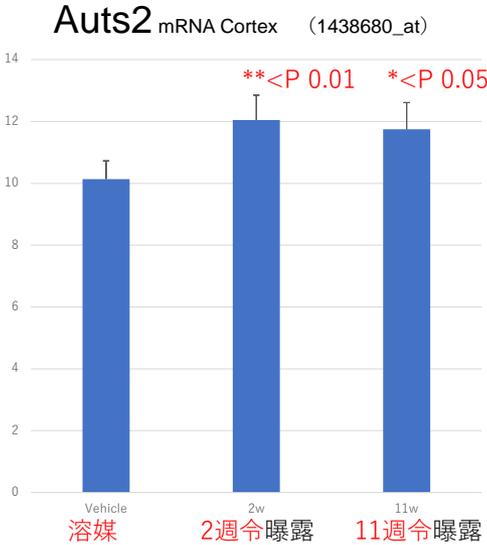
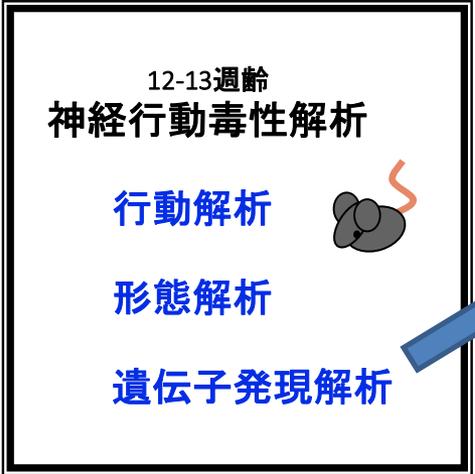
## AUTS2遺伝子をモデルとして



# アセフェート投与によるAut2遺伝子の発現変化

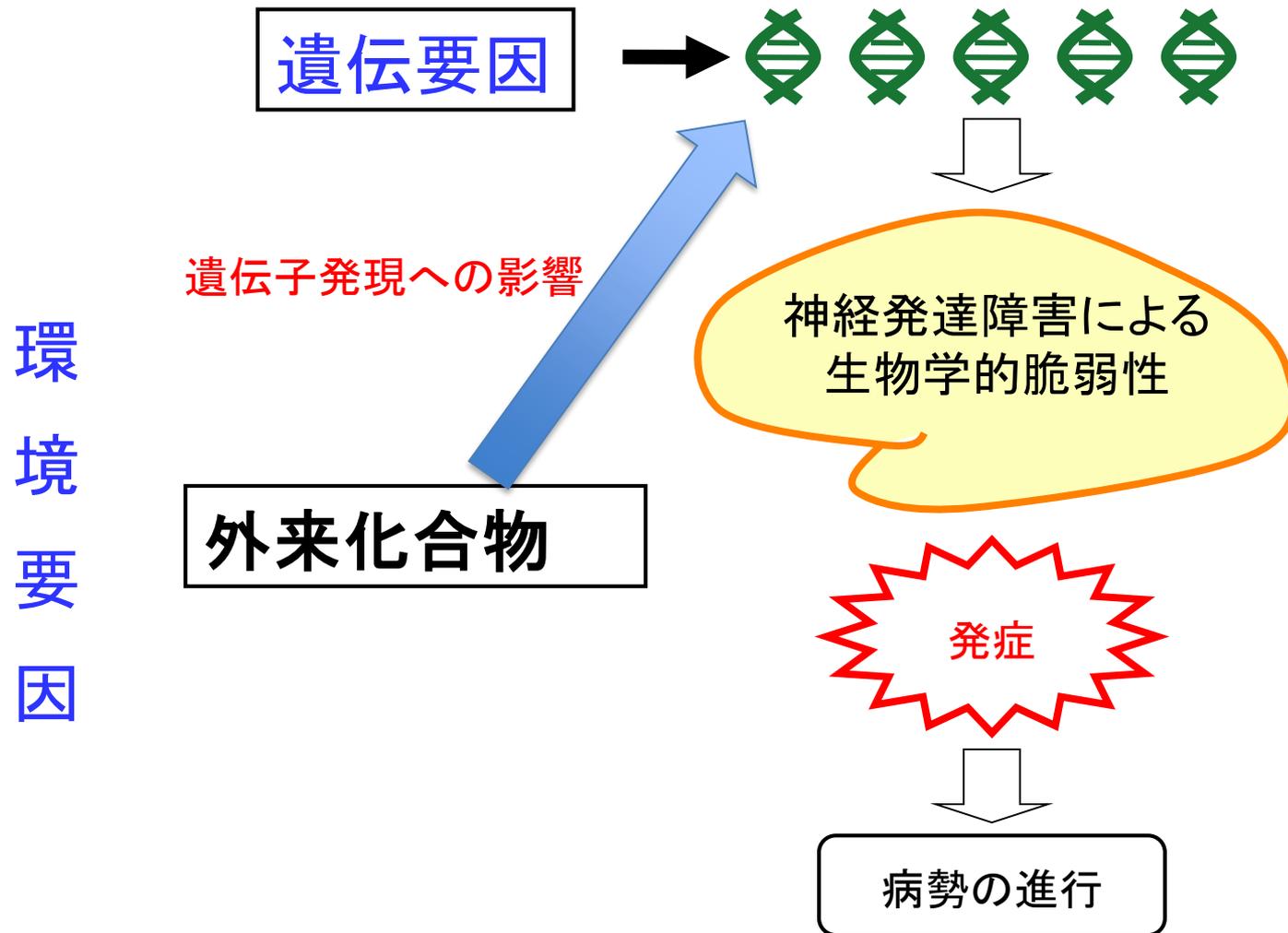


アセフェート  
(7、20、70 mg/kg)  
単回強制経口投与



種村先生・菅野先生  
のデータ

# 遺伝要因と環境要因の相互作用



AUTS2は外来化合物によって影響を受ける一つの例かもしれない

# Contributors

## Hoshino Lab (NCNP)

Kei Hori

Kazumi Shimaoka

Kunihiro

Saki Egusa

Reika Shiraishi

Kouta Kanno (現・鹿児島大)

Shinichiro Taya

Ryoya Hashimoto

Takeshi Hayashi

Asami Sakamoto

Satoshi Miyashita

Mikio Hoshino

## Behavior analysis

Nagoya Univ. Grad. Sch. of Med

Wei Shan

Kiyofumi Yamada

Taku Nagai

## Conditional KO mouse

Niigata Univ., Brain Res Inst.

Manabu Abe

Maya Yamazaki

Kenji Sakimura

## Program of Bio. Sci., Hiroshima Univ.

Takuya Imamura

