

## 95. モデル動物を用いた神経回路異常型てんかんの病態解明

星野 幹雄

Key words : てんかん, 発生, 脳神経系, 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

### 緒 言

高度な脳機能を司る複雑な神経ネットワークは、精巧な遺伝子プログラムの基に、様々な発生段階を経て創り上げられている。一方で、神経ネットワーク形成の過程で異常が生じると、てんかん、精神遅滞、自閉症などの様々な精神・神経疾患が惹起されると考えられている。本研究では、てんかんや各種精神疾患の原因となりうる AUTS2 遺伝子の神経ネットワーク形成に果たす役割を明らかにするとともに、その破綻によるてんかん・精神疾患の病理に迫ろうとしてきた。

### 方 法

先行研究では、AUTS2 が脳内の幅広い領域に分布し、神経細胞の細胞核の中に存在する、と報告されていた。それ故に、世界中の多くの科学者は長い間、この分子が「神経細胞の核内で働くであろう」と考えていた。今回の研究では、そのような先入観を排除し、厳密な細胞分画実験と免疫染色実験により、AUTS2 蛋白質が神経細胞の核だけでなく、細胞質領域、特に神経突起部分にも多く存在することを見いだした。

また、脳発達における AUTS2 の機能を調べるために、ノックダウン法やノックアウト法を用いて、マウス個体における AUTS2 遺伝子の機能を阻害した。胎児脳への子宮内エレクトロポレーション法による過剰発現実験、ノックダウン実験も行った。

### 結 果

まず、厳密な細胞分画実験と免疫染色実験により、AUTS2 蛋白質が神経細胞の核だけでなく、細胞質領域、特に神経突起部分にも多く存在することを見いだした。

次に、細胞生物学的、生化学的実験により、AUTS2 蛋白質が神経細胞の細胞質において、P-Rex1 および Elmo2/Dock180 複合体と相互作用することにより、低分子量 G 蛋白質の一つである Rac1 を活性化させ、ラメリポディアという特殊な網目状アクチン構造を誘導することを見いだした。また反対に AUTS2 蛋白質は、Intersectin 1 および 2 と相互作用することによって低分子量 G 蛋白質の一つである Cdc42 を不活性化し、フィロポディアという特殊な糸状アクチン構造の形成を妨げることがわかった。一般に、細胞が動いたり、変形したりする際には、網状のラメリポディアや糸状のフィロポディアというアクチン構造がダイナミックに再編成されることが知られている。そのため、AUTS2 は神経細胞内のアクチン構造を自在に操り、神経細胞の動きや形態変化を制御することによって、脳神経系の発達に関与しているのではないかと、という可能性が考えられた。

神経細胞は生み出された後、所定の位置まで移動する。さらに、胎児期から乳児期において、そこで神経突起を伸ばして枝分かれさせ、様々な神経細胞と神経ネットワークを構築し、正常な脳神経系が作りだされる。この過程がうまくいかないと、様々な精神疾患が惹起されると考えられている。

我々は、脳発達における AUTS2 の機能を調べるために、ノックダウン法やノックアウト法を用いて、マウス個体における AUTS2 遺伝子の機能を阻害した。すると神経細胞の移動が障害され、神経突起の伸長と分岐が妨げられることがわかった。すなわち、AUTS2 は、脳発達における神経細胞の移動と神経突起の伸長・分岐を促進することによって、

正常な脳神経ネットワークの構築に関わっていることが明らかになった。また、これらの異常は「細胞質にしか局在できないように改変した AUTS2 蛋白質」を導入することによって解消できたことから、これまでの定説とは異なり、「細胞質で働く AUTS2 蛋白質」こそが脳神経ネットワークの構築に重要であることが証明された (図 1) <sup>1)</sup>。

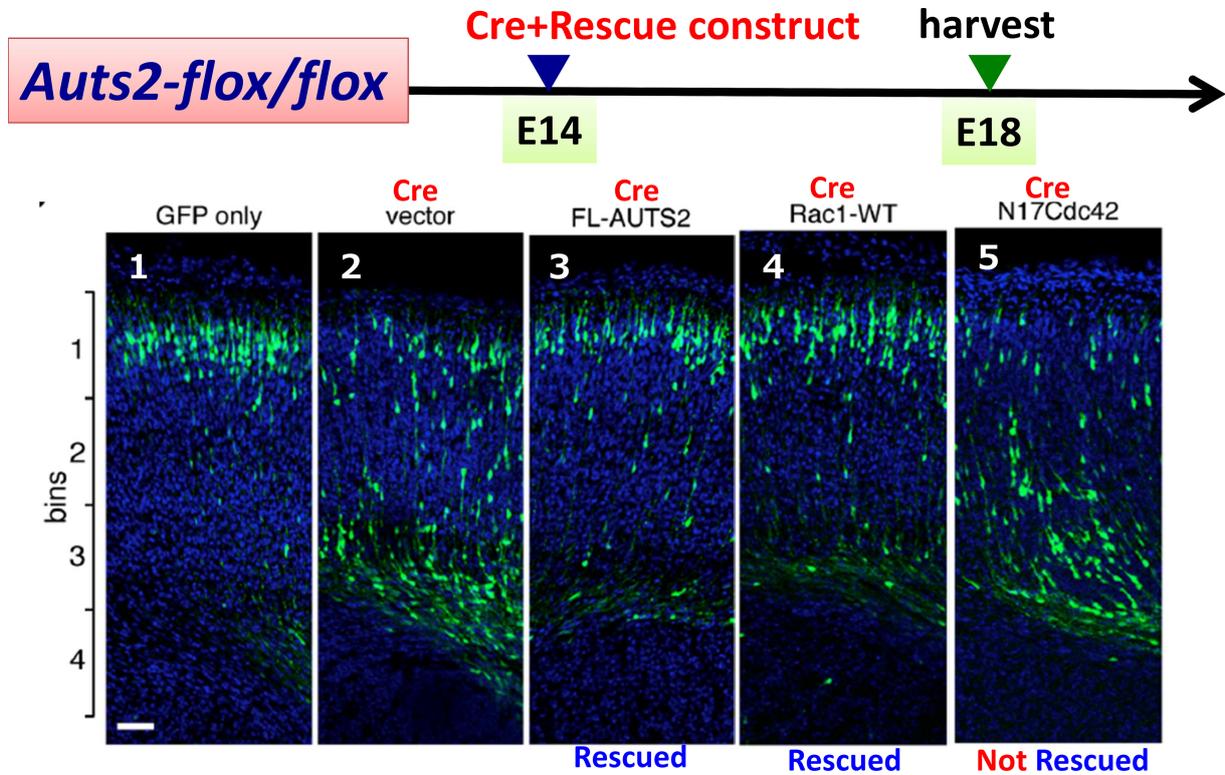


図 1. AUTS2 ノックアウトマウスにおける神経細胞移動の異常。

AUTS2 遺伝子の flox マウスの胎児に対して、子宮内エレクトロポレーション法によって GFP や Cre 発現ベクター、レスキューベクターを遺伝子導入することによって、神経細胞移動について評価した実験。胎生 14 日に遺伝子導入し、胎生 18 日に解析している。(1) GFP のみを導入した場合には、正常に上方 (皮質板側) へと神経細胞が移動している。(2) Cre ベクター導入により AUTS2 遺伝子をノックアウトすると、上方への神経細胞移動が著しく障害される。しかしこうした表現型は、(3) 全長 AUTS2 遺伝子導入や (4) Rac1 の導入により回復される。(5) 一方、機能喪失型 Cdc42 では回復されない。

## 考 察

これまで、自閉症スペクトラム障害や統合失調症などの精神疾患は、その臨床症状があまりにも異なるために、脳神経系の異なる種類の障害によってもたらされると考えられてきていた。しかし、同じ AUTS2 という遺伝子の変異によって、それらの異なる精神疾患が惹起されるということは、実は様々な精神疾患において広く共通の病理が存在するというを示唆している。

また、我々の作製した AUTS2 遺伝子破壊マウス (ノックアウトマウス) と同様な神経ネットワークの障害が、精神疾患患者でも引き起こされていると考えられることから、この動物モデルをさらに解析することによって、AUTS2 遺伝子異常による人の精神疾患の病理をより一層明らかにし、有効な治療法の開発につなげることができると期待される。

実は、我々の論文が発表されるのと同日に、この蛋白質の細胞核での転写制御における働きについての論文も発表された。我々が見つけた細胞質での働きと、別グループが報告した細胞核における働きの、両者がともに精神疾患の病理と関連があるのか、あるいはより片方が重要なのかについては、今後明らかになるであろう。また、ネアンデルター

ル人ゲノムとの比較研究から、AUTS2 遺伝子とヒト進化との関連が示唆されている。今後はヒトの進化という側面からも研究を進めて行きたいと考えている。

また、我々はその他にも神経回路網形成の分子機構について、複数の論文を報告した<sup>2-10)</sup>。

### 共同研究者

本研究の共同研究者は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・室長の堀 啓である。

### 文 献

- 1) Hori, K., Nagai, T., Shan, W., Sakamoto, A., Taya, S., Hashimoto, R., Hayashi, T., Abe, M., Yamazaki, M., Nakao, K., Nishioka, T., Sakimura, K., Yamada, K., Kaibuchi, K. & Hoshino, M. : Cytoskeletal regulation of AUTS2 in neuronal migration and neuritogenesis. *Cell Reports*, **9** : 2166-2179, 2014.
- 2) Ito, H., Shiwaku, H., Yoshida, C., Homma, H., Luo, H., Chen, X., Musante, L., Fischer, U., Frints, S. G. M., Romano, C., Ikeuchi, Y., Shimamura, T., Imoto, S., Miyano, S., Kawachi, T., Hoshino, M., Sudol, M., Arumughan, A., Wanker, E. E., Rich, T., Schwartz, C., Matsuzaki, F., Bonni, A., Kalscheuer, V. M. & Okazawa, H. : In utero gene therapy rescues microcephaly caused by Pqbp1-hypofunction in neural stem progenitor cells. *Molecular Psychiatry*, **20** : 459-471, 2015.
- 3) Ruffault, P-L., D'Autreaux, F., Hayes, J.A., Nomaksteinsky, M., Autran, S., Fujiyama, T., Hoshino, M., Hagglund, M., Kiehn, O., Brunet, J-F., Fortin, G. & Goriadis, C. : The retrotrapezoid nucleus neurons expressing Atoh1 and Phox2b are essential for the respiratory response to CO<sub>2</sub>. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.07051, 2015.
- 4) Seto, Y., Nakatani, T., Masuyama, N., Taya, S., Kumai, M., Minaki, Y., Hamaguchi, A., Inoue, Y. U., Inoue, T., Miyashita, S., Fujiyama, T., Yamada, M., Chapman, H., Campbell, K. J., Magnuson, M. A., Wright, C. V., Kawaguchi, Y., Ikenaka, K., Takebayashi, H., Ishiwata, S., Ono, Y. & Hoshino, M. : Temporal identity transition from Purkinje cell progenitors to GABAergic interneuron progenitors in the cerebellum. *Nature Communications*, **5** : 3337, 2014.
- 5) Wright, M. C., Reed-Geaghan, E. G., Bolock, A. M., Fujiyama, T., Hoshino, M. & Maricich, S. M. : Unipotent Atoh1<sup>+</sup> progenitors maintain the Merkel cell population in embryonic and adult mice. *J. Cell Biol.*, **208** : 367-377, 2015.
- 6) Yamada, M., Seto, Y., Taya, S., Owa, T., Inoue, Y. U., Inoue, T., Kawaguchi, Y., Nabeshima, Y. & Hoshino, M. : Specification of spatial identities of cerebellar neuronal progenitors by Ptf1a and Atoh1 for proper production of GABAergic and glutamatergic neurons. *J. Neurosci.*, **34** : 4786-4800, 2014.
- 7) Worzfeld, T., Swiercz, J. M., Senturk, A., Genz, B., Korostylev, A., Deng, S., Xia, J., Hoshino, M., Epstein, J. A., Chang, A. M., Vollmar, B., Acker-Palmer, A., Kuner, R. & Offermanns, S. : Genetic dissection of plexin signalling in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **111** : 2194-2199, 2014.
- 8) Seto, Y., Ishiwata, S. & Hoshino, M. : Characterization of Olig2 expression during cerebellar development. *Gene Expr. Patterns*, **15** : 1-7, 2014.
- 9) Nishimura, Y. V., Shikanai, M., Hoshino, M., Ohshima, T., Nabeshima, Y., Mizutani, K., Nagata, K., Nakajima, K. & Kawachi, T. : Cdk5 and its substrates, DCX and p27-kip1, regulate cytoplasmic dilation formation and nuclear elongation in migrating neurons. *Development*, **141** : 3540-3550, 2014.
- 10) Esposito, G., Yoshida, S., Ohnishi, R., Tsuneoka, Y., Rostagno, Mdel, C., Yokota, S., Okabe, S., Kamiya, K., Hoshino, M., Shimizu, M., Venuti, P., Kikusui, T., Kato, T. & Kuroda, K. O. : Infant calming responses during maternal carrying in humans and mice. *Current Biology*, **23** : 739-745, 2013.