

平成30年6月25日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21651

研究課題名(和文) 時間遅延鏡デバイスを用いた自閉症モデル霊長類における同調行動の解析

研究課題名(英文) Synchronized behavior analysis with delayed-mirror system in ASD model primate

研究代表者

三村 喬生(Mimura, Koki)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・研究員(任常)

研究者番号：60747377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、(1)非ヒト小型霊長類コモン・マーモセットにおいて自閉症モデル動物を作出し、(2)空間走査技術に基づく行動測定技術を基に、(3)同調行動に着目した行動表現の異常を定量する事を目指した。
結果、(1)胎生期バロプロ酸暴露法による自閉症モデルの作出し、発生初期における脳構造異常と離乳期に顕在化する家族性音声異常の検出に成功した。(2)深度カメラを用いた空間走査技術と機械学習アルゴリズムを組み合わせる事により、非接触・非マーカの自由行動下において頭・胴・腰および顔の向きの測定に成功した。このデータにより、(3)について自然言語処理の解析手法の応用における基礎を作った。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on synchronized behavior, one of the significant part of social ability. First, we developed new autism spectrum disorder (ASD) model animal in common marmoset (*Callithrix jacchus*) with exposed valproate in utero. These animals represented significant atypical brain structure in neonate and confused familial vocalization (Mimura et al., in press). Then, to quantify free moving synchronized behavior, we developed a new motion tracking system by using multi-depth cameras and machine learning algorithm. As a result, we succeeded to track head, body, hip, and face direction of 3D free moving common marmoset without any kind of body markers. These high resolution free movement database could be the basis of mutual interaction analysis with statistical contextual segmentation techniques.

研究分野：行動神経科学、脳イメージング

キーワード：社会性 同調 霊長類 自閉症 空間測定 自由行動

1. 研究開始当初の背景

同調は、模倣(imitation)や共同注意(joint attention)などを含む概念であり、重要な社会的コミュニケーションスキルの1つであることから、顕著な社会性機能の障害を伴う自閉症スペクトラム(ASD)において、治療ターゲットとなっている(Warreyn,2014)。同調の発達は、生後初期から始まり(Ingersoll,2008)、成人になっても明確に観察される。例えば、笑顔・嫌悪などの他者の表情に対して、それと同調的な表情を無意識かつ反射的に取る事が知られている(自発的顔面模倣, Hatfield,1992)。また、発話スピードが自らと同様である話者に対して、より有能で魅力的だと感じる傾向が報告されている(Feldstein, 2001)。同調を積極的に利用した ASD の早期介入治療は多く試みられているが、技術や言語の学習を模倣により補佐するアプローチに留まり(Bogin, 2008)、社会的機能の獲得・改善をサポートするには至っていない(Ingersoll, 2008)。その要因には、社会的機能の獲得と同調の発達にどのような関係性があるか、未だに不明である事が挙げられる。

ヒトと類縁関係の深い霊長類を対象とした社会的行動の観察結果は、多く報告されている。小型新世界ザルのコモン・マーモセット(*Callithrix jacchus*)は、父母共に子育てに参加し、多様な音声コミュニケーションを行うなど、豊かな社会構造を持つ事から研究が進み、また、遺伝子改変技術が確立される(岡野,2012)など、社会性機能の検証に用いるモデル動物として着目されている。

マーモセットにおける、同種他個体に対する同調行動については、摂餌行動の模倣(Huber, 2009)、鏡を利用した摂餌行動(Heschl, 2006)など、模倣学習に関する報告がある。しかし、出会わせ場面のような社会的状況における同調現象についての解析は進んでいない。研究代表者らは、過去に社会的状況における同調的な接近行動を報告した(Koshiha,2011)が、自由行動下では、マーモセットの振る舞いを制御する事が困難であるため、偶発的な同調行動の観察に留まり、その文脈依存性や生後発達過程における変化の解析には至らなかった。

2. 研究の目的

自閉症モデル霊長類を作出し、モーション・キャプチャーによる身体情報の測定・解析を行い、同調性に着目した行動表現系の生後発達プロセスを解析する事を目的とした。

3. 研究の方法

マーモセットを対象に、(1) 胎生期バロプロ酸暴露法による自閉症モデルの作出を行い、(2) モデル動物としての妥当性および発症リスク評価のため発達最初期における神経構造における表現系を評価した。(3) 並行して空間走査と機械学習を組み合わせた3次元モーション・トラッキング技術を開発し、行動評価を行った。

(1)について、当該手法は妊娠中の母体に対して抗てんかん薬バルプロ酸(VPA)を経口投与する事で胎生期 VPA 暴露個体を作成する手法である。ヒト臨床研究から同様の状況は出生児のASDリスクを8-10倍程度増加させる事が知られている。そのため、げっ歯類においては広く用いられており社会性行動機能の異常が報告されている。霊長類における当該手法の適用は、当グループが世界に先駆けて実施している。

(2)について、ヒトにおける社会性機能障害の顕在化は2-3歳時点とされており、モデル動物を用いることでより早い出生直後におけるリスク評価を行うために、新生仔を用いた核磁気共鳴画像法(MRI)および拡散テンソル画像法(DTI)を用いた神経構造イメージングを実施した(放射線医学総合研究所と共同で実施)。これらの脳イメージング手法から得られる全脳情報と、凍結切片標本における面英気組織学的検証の結果を統合するためのフレームワークとして、切片標本画像の3次元再構築による神経繊維走行の可視化手法の開発を行った。

(3)について、同調行動が観察できる高度に制約のない自由運動状況を対象とするためには、接触式のマーカーを用いずに身体運動を数値化する必要がある。このため、深度カメラによる空間走査データに対し、物理シミュレーションを用いた骨格モデル推定を行い、身体パーツ(頭/首/胴/腰)の三次元配置を推定した。更に、同調行動に重要な寄与を与えると推察される視線方向について、機械学習による顔検出技術を用いることで、上述の条件を満たす高分解能測定を試みた(富山大学と共同で実施)。

4. 研究成果

(1) 母体の妊娠日を血中ホルモン動態に元づいて算出し、胎生期を標的として60-66日にVPAを経口投与(200mg/kg/day)した。結果得られた産出仔を以下の検討に用いた。

(2) 一般に、新生仔期では神経繊維発達が未熟でありMRIシグナルを得ることは困難であるが、7-Tesla MRI(BioSpec AVANCE-III, Bruker Biospin, Ettlingen, Germany)を用い、撮像シーケンス(未発表)を最適化することで、field of view (FOV) = 32.0 × 32.0 mm; matrix size = 192 × 192 の高分解能DTI撮像を実現した。このデータに基づき、Cannyエッジ検出技術を用いて長距離神経繊維の発達度合いを評価した結果、生後2日齢の脳において、前交連繊維の発達がVPA暴露群で顕著に減弱している事が見出された。

更に、薄切片における組織学的検討と、これらの全脳イメージング情報を重ね合わせるために、薄切片を最適な3次元構造に再構築する手法を開発し結果を論文にまとめて出版した。

(3) マーモセットはげっ歯類に比べ、空間的に自由度の高い運動を行う。これを個体標識なしに数値化する手法としてモーション・ト

ラッキング・システムを開発した。本手法では、4台の深度カメラの情報を統合した空間走査データに対し、マーモセットの骨格の概形を力学的シミュレーションを用いてフィッティングすることで、身体部位(頭/首/胴/腰)の空間位置を高精度で推定し、時系列データとして数値化する事に成功した。更に、4方向からの2D-RGB画像におけるマーモセットの顔検出技術を深層学習アルゴリズムを最適化することにより開発した。これらを組み合わせることで、非接触・非標識の自由行動条件において、マーモセットの視線方向をトラッキングする事に成功した。

以上、(1)-(4)を総合すると、豊かな社会性行動が報告されている小型霊長類コモン・マーモセットにおいて、ASD臨床知見と結びつけられたモデル動物を作出し、その発達最初期における神経構造表現系を検出するとともに、状況を問わずに使用できる高い汎用性を持つ行動追跡システムを開発した。社会的状況における運動情報の時系列パターンを詳細に解析することで、個体間の同調を含む社会的相互作用を数値ベースで評価可能となり、診断・治療に結びつく知見が得られると期待される。

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 1件)

1. Abe Hiroshi, Tani Toshiki, Mashiko Hiromi, Kitamura Naohito, Miyakawa Naohisa, Mimura Koki, Sakai Kazuhisa, Suzuki Wataru, Kurotani Tohru, Mizukami Hiroaki, Watakabe Akiya, Yamamori Tetsuo, Ichinohe Noritaka, "3D reconstruction of brain section images for creating axonal projection maps in marmosets", Journal of Neuroscience Methods, 286, 2017, 102-113, 査読あり
doi: 10.1016/j.jneumeth.2017.04.016.

[学会発表](計 7件)

1. Koki Mimura, Keiko Nakagaki, Noritaka Ichinohe, "Disturbed Vocal Communication in Common Marmoset Family with an Autism-Model Child", 24th International "Stress and Behavior" Conference, 2017, 招待講演
2. Koki Mimura, Chika Sato, Jumpei Matsumoto, Ichio Aoki, Noritaka Ichinohe, Suhara Testuya, Takafumi Minamimoto, "Atypical Behavioral and Neural Phenotypes in a Common Marmoset Model of Autism Spectrum Disorder", 12th International "Stress and Behavior" Society Regional Conference (Asia), 2017, 招待講演
3. J. Matsumoto, H. Nishimaru, Y. Takamura, K. Mimura, A. Asaba, W.

Suzuki, N. Ichinohe, T. Minamimoto, T. Ono, H. Nishijo, "3D-Tracker, an open-source 3D video based behavioral analysis system for laboratory animals for neuroscience", Neuroscience 2017, 2017, 査読あり

4. 三村 喬生, 永井 裕司, 井上 謙一, 須原 哲也, 高田 昌彦, 南本 敬史, "化学遺伝学とPETイメージングの融合による黒質線条体ドーパミン神経活動制御", 第七回日本マーモセット研究会大会, 2017年, 査読あり
5. 三村 喬生, 松本 淳平, 西条 寿夫, 須原 哲也, 南本 敬史, "機械学習を用いた自由行動下における頭部方向測定法の開発", 第七回日本マーモセット研究会大会, 2017, 査読あり
6. 松本淳平, 西丸広史, 高村雄策, 三村 喬生, 浅場明莉, 鈴木航, 一戸紀孝, 南本敬史, 小野武年, 西条寿夫, "げっ歯類とサルのためのオープンソース3次元ビデオ行動解析システムの開発と神経科学への応用", 2017年度生命科学系学会合同年次大会, 2017年, 査読あり
7. K. MIMURA, C. SATO, K. NAKAGAKI, I. AOKI, T. MINAMIMOTO, N. ICHINOHE, "Atypical behavioral and neural phenotypes in a non-human primate model of autism spectrum disorders", Society for Neuroscience 46th Annual Meeting, 2016, 査読あり

[図書](計 0件)

[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 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

<http://3dtracker.org/index.html>

本研究の一環として共同研究で開発された

実験動物のモーションキャプチャシステムは主たる開発者である松本惇平助教(富山大学)の手でオープンソースソフトウェアとして公開された。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三村 喬生 (Mimura Koki)

量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・脳機能イメージング研究部・研究員

研究者番号：60747377

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()