

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H04813

研究課題名(和文) 自閉症ヒト脳オルガノイドの表現解析による病態の基礎的理解

研究課題名(英文) Basic understanding of pathophysiology by phenotypic analysis of autistic human brain organoids

研究代表者

内匠 透 (Takumi, Toru)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：00222092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,600,000円

研究成果の概要(和文)：自閉症は社会性の障害に代表される発達障害であり、その発症にはコピー数多型によるゲノム変異等の遺伝的寄与が示唆されている。我々は世界に先駆けて自閉症細胞モデルとして、次世代染色体工学を用いて網羅的マウス胚性幹(ES)細胞ライブラリーを構築した。その中の12種類のマウスES細胞モデルの解析では、とりわけ、シングルセルRNA-seqの解析により、翻訳系パスウェイの異常を見出した。さらに、1q21.1欠損及び重複のヒトES細胞モデルを用いて、神経系2次元培養並びに3次元オルガノイド脳培養を組み合わせ、分子、形態から機能に至る多面的な解析により、ヒト病態の総合的理解を得るためのデータを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症・統合失調症のモデルとしてヒト染色体1q21.1CNVのヒトES細胞モデルの構築に成功した。本モデルでは、形態、生理的な表現系において、ヒト臨床に近い表現系が見られただけでなく、病態メカニズムの基盤を明らかにすることができた。オルガノイドの更なる長期培養により、より生理的条件に近い3次元モデルとしてデータが期待できる。CNVは病気を起こす遺伝的浸透度が高く、病態理解のためのモデルとして適しており、今後の更なる発展が期待される。本成果は、自閉症を含む精神疾患の病態パスウェイやハブ遺伝子などの創薬シーズに繋がるだけでなく、CNVの発現制御機構の解明というゲノム異常の基盤的理解をもたらす。

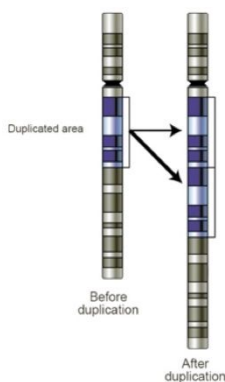
研究成果の概要(英文)：Autism is a developmental disorder represented by social disability, and genetic contributions such as genomic mutation due to copy number variation have been suggested to be responsible for its development. We were the first in the world to construct a comprehensive mouse embryonic stem (ES) cell library using next-generation chromosome engineering as an autism cell model (Autism in a dish). In the analysis of 12 mouse ES cell models among them, we found, among others, abnormalities in translational pathways by single-cell RNA-seq analysis. Furthermore, using human ES cell models with 1q21.1 deletions and duplications, we combined 2D nervous system cultures and 3D organoid brain cultures to obtain data for a comprehensive understanding of human pathology through multidimensional analysis from molecular, morphological, and functional aspects.

研究分野：脳科学

キーワード：自閉症 ES細胞 コピー数多型

## 1. 研究開始当初の背景

先進国、とりわけ日本の現代社会の最大の問題は少子化である。少子化がなければ高齢化に不安はない。少子化の中で子どもの健全な発達が必須の社会状況にもかかわらず、自閉スペクトラム症 (ASD, autism spectrum disorder、本報告書では自閉症と呼ぶ) をはじめとする発達障害 (神経発達症) は増え続け、米国の最新の報告では自閉症の発症は 36 人に 1 人という驚くべき数字がでていいる。自閉症は社会性 (社会行動、コミュニケーション) の障害及び興味、行動や活動の反復や偏りを主症状とする。後者にはしばしば感覚系の障害 (鈍麻あるいは過敏) を伴う。また随伴症として、てんかん、睡眠障害、胃腸障害が頻繁に見られる。典型例はこれらの症状により生後 3 歳くらいまでに診断がつくケースが多いが、境界型もあり健常児との差は連続的である。いずれにせよ、脳の発達障害と考えられる。自閉症は遺伝的寄与が他の精神疾患に比べて高く、ヒト遺伝学的解析から多数の自閉症リスク遺伝子 (主に神経シナプスや核内クロマチンに関わる遺伝子群) やコピー数多型 (CNV, copy number variation) と呼ばれるゲノム異常が原因として知られてきた。しかしながら、未だ自閉症の多くの症例は原因が不明であり、その病態の理解には程遠い状況で、治療薬は存在しない。



CNV は 2005、6 年頃から使われ始めた比較的新しい概念で、ゲノム上のキロベース (Kb) からメガベース (Mb) の長さの重複、欠失等を示す (左図)。ゲノム解析技術の進歩で現在では短いものの存在が知られるようになったが、従来は顕微鏡で観察できる長いもので「染色体異常」と呼ばれていた。また CNV はヒトの多様性に寄与するだけでなく、自閉症を含む精神疾患の他、癌や生活習慣病等の様々な疾患の原因として知られている。自閉症に関連する CNV は多数報告され、病的 CNV は自閉症のみならず知的障害、統合失調症、双極性障害等の他の精神神経疾患ともオーバーラップすることがわかってきた。自閉症の原因は未だ未知のものが多数を占めるが、原因として知られているものの中で、CNV は病気を起こす遺伝的浸透度が高く、病態理解のためのモデルとして適している。

## 2. 研究の目的

自閉スペクトラム症 (自閉症) は社会性の障害に代表される発達障害であり、その発症には CNV 等の遺伝的寄与が示唆されている。CNV を含む稀な遺伝例のモデルの解析が病態解明の一つのアプローチであるが、一方で複数のモデルから共通の病態メカニズムや病態パスウェイを見出す事が期待されている。内匠は独自に開発した次世代染色体工学を用いて、これまでに 65 種類の ES (胚性幹) 細胞モデルからなる網羅的自閉症細胞モデルライブラリーを構築した (Nomura *J et al*, in revision)。本成果は自閉症細胞モデル (autism in a dish) として新しい研究概念を提案しただけでなく、広く精神疾患のマウスモデルも構築できるバイオリソースとして、科学コミュニティに貢献するものである。

本研究では、その成果をヒト ES 細胞に展開し、脳オルガノイド技術を導入した。具体的には、マウス ES 細胞モデルライブラリーで得られた成果をもとに、代表的病態 CNV のヒト ES 細胞モデル及びオルガノイドを作製し、多面的解析により病態を統合的に理解することを目的とする。

## 3. 研究の方法

ヒト胚性幹細胞 (hESC) ソース: ヒト ES 細胞株 KhES-1 は、京都大学再生医科学研究所から提供された。ES 細胞の核型は、提供前に同研究所によって確認されている。これらの細胞は、Cellartis DEF-CS 100 Culture System (DEF-CS 培地; タカラ) を用いて、フィーダーフリー条件下で培養した。培地は毎日交換し、コンフルエントになった細胞は 4-5 日ごとに手で継代した。多能性の状態は、ゲノム編集実験前後のアルカリホスファターゼ染色および RT-qPCR 解析によって確認した。すべての実験は、施設内の倫理委員会の承認を受け、日本政府の hES 細胞ガイドラインに従って行われた。

CRISPR/Cas9 システムを用いた 1q21.1 欠失および重複 CNV の作製: 標的 CNV を作製するために、2 つの Cas9-sgRNA 発現ベクターをデザインした。1 つは 5' 末端上流用 (PRKAB2) もう 1 つは 3' 末端下流用 (GPR89B) である。pX330-U6-Chimeric\_BB-CBh-hSpCas9 (Addgene プラスミド #42230) を使用し、ガイド RNA (gRNA) は CRISPR direct (<http://crispr.dbcls.jp/>) と CRISPR design (<http://crispr.mit.edu:8079/>) ソフトウェアを使用して設計し、オフターゲット効果を回避した。各 gRNA は BbsI 制限部位を用いてベクターにクローニングした。各 gRNA の配列は以下の通りである。

5' gRNA: 5'-AAATCTCTGGTATGGGGTCC-3', 3' gRNA: 5'-TCTAGGTATGACTAGAAGTC-3'

gRNA\_クローニングベクター (各 1  $\mu$ g) と pSpCas9(BB)-2A-Puro プラスミド (1  $\mu$ g) を、lipofectamine 3000 試薬 (Thermo Fisher Scientific) を用いて、共導入した。トランスフェクションの 2 日後に、ピューロマイシン選択を 48 時間行った。トランスフェクション後 5 日目に、合計 384 ウェル (96 ウェルプレート 4 枚) を用いて、限界希釈法による単一細胞クローニングを行った。すべてのウェルを倒立顕微鏡 (Axio Vert A1 FL-LED, Zeiss 社製) で毎日観察し、増殖しているコロニーが単一細胞由来かどうかをチェックした。ほとんどの増殖コロニーが少なくとも 50~60% のコンフルエントになった後、各プレートを 2 枚のプレートに分け、1 枚をその後のスクリーニングに使用した。

皮質オルガノイド培養: オルガノイド培養のための 3 つのプロトコルを参照し、若干の修正を加えて組み合わせた (Trujillo ら、2019; Pasca ら、2015; Lancaster & Knoblich、2014)。すなわち、hESC をフィーダーフリー条件下で DEF-CS 培地で培養した。次に、これらの細胞を TrypLE select を用いて解離し、10  $\mu$ M SB431542 と 1  $\mu$ M dorsomorphin を含む DEF-CS 培地を含む STEP1 培地に再懸濁した。約  $4 \times 10^6$  個の細胞を Ultra-Low attachment 6 ウェルプレート (コーニング社製) の 1 ウェルに移し、90rpm の回転下で懸濁状態に保った。0 日目のみ、培地に Y-27632 を添加し、7 日間毎日交換した後、2% MACS NeuroBrew-21 w/o Vitamin A (Miltenyi Biotec) を添加した Neurobasal 培地 (Gibco) を含む STEP2 培地に代えた、1X Glutamax (Gibco)、20 ng/ml Recombinant human FGF basic (PEPROTECH)、20 ng/ml EGF (Gibco)、100 U/ml penicillin 100  $\mu$ g/ml streptomycin (Nacalai)。培地は 21 日間毎日交換した。28 日目に、神経前駆細胞の各オルガノイド (NPC オルガノイド) を、PARAFILM シート (Bemis) 上の各マトリゲル液滴 (Corning) に移した。37  $^{\circ}$ C で 30 分間インキュベートした後、これらの液滴を、DMEM/F12 (Invitrogen) と Neurobasal の 1:1 混合液に 0.5X N2 サプリメント (Invitrogen)、1X Glutamax、0.5X NEAA (Gibco)、2.65  $\mu$ g/ml インスリン、0.1 mM 2-メルカプトエタノール (Sigma-Aldrich)、100 U/ml ペニシリンおよび 100  $\mu$ g/ml ストレプトマイシンを含む DMEM/F12 (Invitrogen) と Neurobasal の 1:1 混合培地に滴下した。STEP3 培地にビタミン A を含まない 1% MACS NeuroBrew-21 を添加し、細胞を 4 日間回転させずに懸濁状態に保った。その後、STEP3 培地に 1% MACS NeuroBrew-21 を添加し、細胞を 80 rpm 回転下で培養した。培地は 3 日ごとに交換した。

NPC オルガノイドによるシングルセル RNA シークエンシング (scRNA-Seq): 27 日目に、遺伝子型

ごとに 1,500 個以上の NPC オルガノイドを集め、TrypLE Select を用いて 37 °C で 5 分間解離させた。20  $\mu$ m のストレーナーを通した後、細胞を STEP2 培地で再懸濁し、4 °C で保存した。細胞濃度と生存率は、TC20 Automated Cell Counter (Bio-Rad) を用いて評価した。

Chromium Single Cell 3' Gel Bead, Chip, and Library Kits v3.1 を用いて、単一細胞を処理した (10X Genomics)。各遺伝子型につき合計 25,000 個の細胞を個々のチャンネルに加え、直ちに Chromium Controller を用いてエマルジョン中の 3' ゲルビーズにロードし、分割した。バーコードによる逆転写後、cDNA 分子を含む乳剤中ゲルビーズ (GEM) を破碎、精製し、PCR 増幅した。増幅された cDNA が断片化された後、5' アダプターおよびサンプルインデックスが最終ライブラリーとして組み込まれた。増幅された cDNA の濃度と最終ライブラリーのサイズプロファイルは、高感度 DNA チップ (Agilent) を用いて Agilent Bioanalyzer 2100 で調べた。最終ライブラリーは KAPA ライブラリー定量キット (Roche) を用いて定量した。ライブラリーは 10 nM の濃度でロードし、NovaSeq 6000 システム (Illumina) で以下の条件でシーケンスした：ペアエンド、シングルインデキシング、リード 1、28 サイクル、i7 インデックス、8 サイクル、リード 2、91 サイクル。

生シーケンスデータは、Cell Ranger ソフトウェア (バージョン 3.1.0、10X Genomics) で前処理した。バイナリーベースコール (BCL) ファイルを変換し、cellranger mkfastq パイプラインでデマルチプレックスした後、リードを hg19 ヒトリファレンスゲノムにアライメントした。cellranger の count パイプラインで feature-barcode マトリックスを生成した。全リード数、推定細胞数、細胞あたりの平均リード数、細胞あたりの中央値遺伝子数、細胞あたりの中央値ユニーク分子識別子 (UMI) 数、細胞内のフラクショナルリードの割合などの主要メトリクスに関する情報も、このパイプラインを介して得られた。

全 3 サンプルのデータの結合と、結合前のリード深度の正規化は、cell ranger agg pipeline で行った。統合されたデータセットは、Loupe Cell Browser ソフトウェア (バージョン 4.0、10X genomics) を用いてデータの可視化とさらなる解析を行った。データは cell ranger reanalyzed pipeline で再解析され、TOP20 発現遺伝子の 50% 以上がミトコンドリア遺伝子 (接頭辞に 'MT-' を持つ) であるクラスターを除去した。Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) プロットは、このファイルから Loupe Cell Browser ソフトウェアを介して表示され、統合されたデータセットを探索するために使用された。K-means クラスタリングにおける最適なクラスタ数の検証は、stats v3.6.2 package (R Core team, 2020) を用いた主成分分析 (PCA) による次元削減後、cluster v2.1.0 package (Martin et al., 2019) を用いた clusGap 関数により行った。合計 10 個のクラスターが生成され、マーカー遺伝子の発現パターンに基づいて最終的に 8 個のクラスターに統合された。マーカー遺伝子は主に Allen Human Brain Atlas の Transcriptomic Explorer と発表論文 (Trujillo et al.) による。遺伝子濃縮解析のために、各 CNV 対 CTRL 間の差次発現遺伝子 (DEG) は、以下の条件を満たす場合に抽出された； $p < 0.05$  および  $|\log_2FC| > 1.2$  により、バルクおよび NSC クラスタの両方の DEG の総数が中程度 (約 100~1000) になるようにした。遺伝子オントロジー (GO) 解析は、Metascape (Zhou ら、2019) と ToppGene Suite (Chen ら、2009a) を用いて行った。各遺伝子の機能的役割と関連疾患は、GeneCards データベース (Stelzer ら、2016) を用いて調べた。

#### 4 . 研究成果

ヒト染色体 1q21.1CNV を持つヒト ES 細胞モデルの作製：ゲノム編集技術を利用した次世代染色体工学的手法を用いて、1q21.1 欠失、重複 CNV を有するヒト ES 細胞モデルを作製した。CNV 上の遺伝子コピー数を ddPCR (droplet digital PCR) により評価した。また、aCGH (array

comparative genomic hybridization) アッセイを行い、オン及びオフターゲット CNV を解析した。さらに、定量的 PCR (RT-qPCR) により、1q21.1CNV 上遺伝子の mRNA レベルも評価した。並行して、sgRNA を含まない CRISPR/Cas9 ベクターを導入したコントロール細胞 (CTRL) を用意した。

皮質オルガノイドの形態変化：ヒト ES 細胞を NPC (neural precursor cell) オルガノイドに分化させ、形態的特徴を観察した。培養 27 日目には、1q 欠失及び重複 NPC オルガノイドは、CTRL と比較して、それぞれ有意に小さくまたは大きくなり、臨床データ (小頭症、大頭症) と一致する結果が得られた。また凍結切片を作成し、各細胞の長軸を測定したところ、それらの間に有意差は認められなかった。以上より、NPC オルガノイドにおける重複・欠損のサイズ差は、各細胞のサイズではなく、オルガノイド内の細胞数に起因するものであった。

ヒト ES 細胞由来皮質オルガノイドは成熟レベルを示す：1q21.1CNV が分化パターンと遺伝子発現プロファイルに影響を与えるかどうかを、免疫組織化学及び RT-qPCR によって調べた。NPC オルガノイド培養 27 日目に、1q 欠失オルガノイドは TBR2 (中間前駆細胞マーカー) 及び TUBB (神経細胞マーカー) のシグナル強度が最も高かったが、1q 重複はいずれもほとんどシグナルを示さなかった。58 日目には、TBR2 と CTIP2 (皮質下層マーカー) の両方の発現が 1q 重複で低くなっていた。これらから、1q 欠失では神経細胞の成熟が促進され、1q 重複では NPC 段階から成熟が減速していることがわかった。

ヒト ES 細胞由来神経細胞は興奮性を示す：1q21.1 両 CNV は、てんかんなどの共通の臨床症状も有している。ヒト ES 細胞モデル由来の 2 次元神経細胞の自発的な電気活動を、多電極アレイ (MEA) を用いて検討した。培養 61 日目では、1q21.1CNV 両神経細胞ともに CTRL よりも有意に高い自発スパイクの頻度を示した。さらに、68 日目では 1q 欠失神経細胞は CTRL と比較して有意に多くのバーストを示した。以上より、1q21.1CNV 神経細胞は、興奮性の高い電気的特性を示した。

細胞プロファイルは、細胞分化の速度と方向性に明確な違いを示す：27 日目の NPC オルガノイドを用いて単一細胞 RNA 配列解析 (scRNA-seq) を行った。32,171 個の細胞 (1q 欠失; 10,682, 1q 重複; 11,987, CTRL; 9,502) 対して、マーカー遺伝子の発現パターンに基づき、8 つのクラスターを設定し、細胞の分布パターンを、Uniform Manifold Approximation and Projection (UMAP) で示した。GABA 作動性細胞がほぼ 1q 欠失由来であったことは、成熟レベルの違いを示していると考えられ、以下の遺伝子発現解析データと一致していた。

NPC オルガノイドにおける遺伝子発現データセットのエンリッチメント解析：各 CNV と CTRL の間で発現量の異なる遺伝子 (DEGs) を抽出し、バイオインフォマティクス解析を行った。

(1) 疾患オントロジー解析：1q21.1CNV は、精神神経疾患だけでなく、末梢臓器の様々な疾患で見られる症状を示すが、それらと一致した疾患用語が見出された。

(2) NSC クラスター別のジーンオントロジー (GO) 解析：分子機能、細胞成分、生物学的プロセスの解析を行った。1q 欠失の up-DEG の中には、3 カテゴリー全てに GABA 関連の用語が見いだされた。また、パスウェイ解析から 1q 欠失はこの時期すでに神経細胞への分化が始まっており、1q 重複はまだ幹細胞の状態を維持していることが示唆された。

(3) GABA 及びグルタミン酸作動性神経伝達関連遺伝子の解析：GABA 関連遺伝子の多くは 1q 欠失で濃縮されていた。グルタミン酸作動性遺伝子に関しては、1q21.1 両 CNV ともに CTRL と同様の発現変化を示した。これらの結果は、1q 欠失細胞はより成熟した状態で GABA 作動性成分が多く、1q 重複細胞はより未分化・増殖性状態でグルタミン酸作動性成分が多いことを示唆している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yoshitane H, Imamura K, Okubo T, Otobe Y, Kawakami S, Ito S, Takumi T, Hattori K, Naguro I, Ichijo H, Fukada Y	4. 巻 37
2. 論文標題 mTOR-AKT Signaling in Cellular Clock Resetting Triggered by Osmotic Stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxid Redox Signal	6. 最初と最後の頁 631-646
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/ars.2021.0059	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 Lin CW, Septyaningtrias DE, Chao HW, Konda M, Atarashi K, Takeshita K, Tamada K, Nomura J, Sasagawa Y, Tanaka K, Nikaido I, Honda K, McHugh TJ, Takumi T	4. 巻 27
2. 論文標題 A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Psychiatry	6. 最初と最後の頁 3343-3354
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41380-022-01566-y	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 該当する
1. 著者名 Yamada A, Toya H, Tanahashi M, Kurihara M, Mito M, Iwasaki S, Kurosaka S, Takumi T, Fox A, Kawamura Y, Miura K, Nakagawa S	4. 巻 28
2. 論文標題 Species-specific formation of paraspeckles in intestinal epithelium revealed by characterization of NEAT1 in naked mole-rat.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RNA	6. 最初と最後の頁 1128-1143
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1261/rna.079135.122	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 Narihara I, Yokoyama H, Namba H, Sotoyama H, Inaba H, Kitayama E, Tamada K, Takumi T, Nawa H	4. 巻 12
2. 論文標題 Increased self-triggered vocalizations in an epidermal growth factor-induced rat model for schizophrenia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 129017
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-17174-3	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 -

1. 著者名 Imamura K, Takumi T	4. 巻 13
2. 論文標題 Mood phenotypes in rodent models with circadian disturbances	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurobiol Sleep Circadian Rhythms	6. 最初と最後の頁 100083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbscr.2022.100083	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 -

1. 著者名 Lin CW, Ellegood J, Tamada K, Miura I, Konda M, Takeshita K, Atarashi K, Lerch JP, Wakana S, McHugh TJ, Takumi T	4. 巻 in press
2. 論文標題 An old model with new insights: endogenous retroviruses drive the evolvement toward ASD susceptibility and hijack transcription machinery during development	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Mol Psychiatry	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41380-023-01999-z	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 Nakai N, Sato M, Yamashita O, Sekine Y, Fu X, Nakai J, Zalesky A	4. 巻 42
2. 論文標題 Virtual reality-based real-time imaging reveals abnormal cortical dynamics during behavioral transitions in a mouse model of autism	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 112258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112258	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 Awasthi JR, Tamada K, Overton ETN, Takumi T	4. 巻 529
2. 論文標題 Comprehensive topographical map of the serotonergic fibers in the male mouse brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Comp Neurol	6. 最初と最後の頁 1391-1429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cne.25027.	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 Nakai N, Overton ETN, Takumi T	4. 巻 1293
2. 論文標題 Optogenetic approaches to understand the neural circuit mechanism of social deficits seen in autism spectrum disorders.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol.	6. 最初と最後の頁 523-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-15-8763-4_36.	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 Nomura Y, Nomura J, Kamiguchi H, Nishikawa T, Takumi T	4. 巻 171
2. 論文標題 Transcriptome analysis of human neural cells derived from isogenic embryonic stem cells with 16p11.2 deletion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 114-123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2021.03.005	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 Imada Y, Takumi T, Aoyama H, Sadatomo T, Kurisu K.	4. 巻 61
2. 論文標題 Morphological classification of the medial frontal cortex based on cadaver dissections: A guide for interhemispheric approach.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurol Med Chir	6. 最初と最後の頁 302-311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2176/nmc.oa.2020-0192.	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 Tsurugizawa T, Tamada K, Debacker C, Zalesky A, Takumi T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Cranioplastic surgery and acclimation training for awake mouse fMRI	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bio Protoc	6. 最初と最後の頁 e3972
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.3972	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 該当する



1. 著者名 Tamada K, Fukumoto K, Toya T, Nakai N, Awasthi JR, Tanaka S, Okabe S, Spitz F, Saitow F, Suzuki H, Takumi T	4. 巻 12
2. 論文標題 Genetic dissection identifies Necdin as a driver gene in a mouse model of paternal 15q duplications	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 4056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-24359-3	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 Nomura J, Mardo M, Takumi T	4. 巻 159
2. 論文標題 Molecular signatures from multi-omics of autism spectrum disorders and schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 647-659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jnc.15514	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 Ono D, Honma KI, Schmal C, Takumi T, Kawamoto T, Fujimoto K, Kato Y, Honma S	4. 巻 11
2. 論文標題 CHRONO and DEC1/DEC2 compensate for lack of CRY1/CRY2 in expression of coherent circadian rhythm but not in generation of circadian oscillation in the neonatal mouse SCN	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 19240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98532-5	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 -

1. 著者名 Qian K, Koike T, Tamada K, Takumi T, Schuller BW, Yamamoto Y	4. 巻 2021
2. 論文標題 Sensing the Sounds of Silence: A Pilot Study on the Detection of Model Mice of Autism Spectrum Disorder from Ultrasonic Vocalisations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc	6. 最初と最後の頁 68-71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/EMBC46164.2021.9630793	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 該当する

1. 著者名 Yoshitane H, Imamura K, Okubo T, Otohe Y, Kawakami S, Ito S, Takumi T, Hattori K, Naguro I, Ichijo H, Fukada Y	4. 巻 in press
2. 論文標題 mTOR-AKT Signaling in Cellular Clock Resetting Triggered by Osmotic Stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxid Redox Signal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2021.0059	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 Lin C-W, Septyaningtrias DE, Chao H-W, Konda M, Atarashi K, Takeshita K, Tamada K, Nomura J, Sassa-gawa Y, Tanaka K, Nikaido I, Honda K, McHugh TL, Takumi T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 A common pathologic mechanism across cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Psychiatry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41380-022-01566-y.	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 該当する

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Towards understanding the pathophysiology of autism using models
3. 学会等名 KSBNS2022 The 25th Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Towards understanding the pathophysiology of autism
3. 学会等名 ISN-APSN Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内匠透
2. 発表標題 自閉症の生物学的理解
3. 学会等名 日本睡眠学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Modeling Autism
3. 学会等名 EMBO Workshop（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内匠透
2. 発表標題 細胞・動物モデルを用いた精神疾患の病態解明
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会、第44回日本生物学的精神医学会年会、第32回日本臨床精神神経薬理学会年会、第52回日本神経精神薬理学会年会、第6回日本精神薬学会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村淳、内匠透
2. 発表標題 シングルセル解析による自閉症リスク因子の同定
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会、第44回日本生物学的精神医学会年会、第32回日本臨床精神神経薬理学会年会、第52回日本神経精神薬理学会年会、第6回日本精神薬学会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村芳子、野村淳、内匠透
2. 発表標題 神経発達症・統合失調症の関連領域である1q21.1コピー数多型がヒト細胞由来神経オルガノイドの細胞表現型に与える影響
3. 学会等名 BPCNPNPP4学会合同年会、第44回日本生物学的精神医学会年会、第32回日本臨床精神神経薬理学会年会、第52回日本神経精神薬理学会年会、第6回日本精神薬学会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内匠透
2. 発表標題 神経発達症の脳科学
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Neurobiology of social behavior
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chia-Wen Lin, Toru Takumi
2. 発表標題 A prenatal epigenetic fluctuation underlies systemic immune dysregulation in autism
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chia-wen Lin, Toru Takumi
2. 発表標題 A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内匠透
2. 発表標題 自閉症学 細胞・マウスモデルから病態に迫るー
3. 学会等名 第63回日本小児神経学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Isamu Miura, Masaaki Sato, Eric T N Overton, Nobuo Kunori, Nobuhiro Nakai, Junichi Nakai, Takakazu Kawamata, Toru Takumi
2. 発表標題 Encoding of social exploration by neural ensembles in the insular cortex.
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nobuhiro Nakai, Masaaki Sato, Toru Takumi
2. 発表標題 Network dynamics of cortical function during social exploration in VR environments
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toru Takumi
2. 発表標題 Towards understanding of the pathophysiology of autism
3. 学会等名 1st KULOS symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nobuhiro Nakai, Masaaki Sato, Toru Takumi
2. 発表標題 Abnormality of cortical network dynamics in behaving state of an ASD model mouse under VR environments
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kota Tamada, Keita Fukumoto, Tsuyoshi Toya, Nobuhiro Nakai, Janak Awasthi, Shinji Tanaka, Shigeo Okabe, Francois Spitz, Toru Takumi
2. 発表標題 Genetic dissection identifies Necdin as a driver gene in 15q duplication syndrome
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Nomura, Amila Zuko, Keiko Kishimoto, Hiroaki Mutsumine, Kazumi Fukatsu, Yoshiko Nomura, Xiaoxi Liu, Nobuhiro Nakai, Takashi Arai, Eiki Takahashi, Tsukasa Kouno, Jay Shin, Toru Takumi
2. 発表標題 Comprehensive analysis identified CNV- and cell type specific vulnerability of autism spectrum disorder
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshihisa Tachibana, Natsumi Tsuji, Fumihiko Sato, Toru Takumi
2. 発表標題 Therapeutic effect and underlying mechanism of oral splint for ameliorating tic syndrome in patients with Tourette syndrome
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takehiro Ajioka, Nobuhiro Nakai, Toru Takumi
2. 発表標題 Prediction of mouse behavior with deep learning
3. 学会等名 第44回日本神経科学学会大会・CJK第1回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideo Hagihara, Hirotaka Shoji, International Brain pH Project Consortium, and Tsuyoshi Miyakawa
2. 発表標題 Systematic analysis of brain lactate and pH levels in 73 animal models related to neuropsychiatric conditions
3. 学会等名 ACNP 60th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------