

令和 2 年 4 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16409

研究課題名(和文) 自閉症モデル霊長類を用いた発達期大脳皮質シナプス形成・再編成異常の解析

研究課題名(英文) Verification of abnormality of postnatal synapse formation/pruning in a primate model of ASD

研究代表者

佐々木 哲也 (Sasaki, Tetsuya)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：10634066

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)：自閉症病態モデルマーモセット大脳皮質の第3層錐体細胞の樹状突起全体を可視化し、スパイン数が実際に増加しているのか調査を行った。VPAマーモセットは、定型発達個体と比較して大きな樹状突起展開面積を持ち、どの発達段階においても長い樹状突起をもっていることがわかった。また、定型発達個体と比較して、VPAマーモセットのスパイン密度は生後2ヶ月齢以降上昇していることが観察された。定型発達個体では、生後90日齢から成体にかけて約50%スパイン密度が低下する「刈り込み」が起こるのに対して、VPAマーモセットでは2-30%の低下となり、本モデルでASD患者のシナプス刈り込み不全を再現できていることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉スペクトラム症を含む精神疾患の病態解明、治療法の確立には、ヒトと相同な高次脳機能を示すモデル動物が必須であると考えられる。申請者らの先行研究から、マーモセットは明確な「オーバーシュート型」のシナプス形成を示すことがわかった。またマーモセット脳には、ヒトと進化的に相同な前頭前皮質背外側部が存在している。現在、精神疾患モデルとして広く使用されているげっ歯類は、領野の分化が不十分であり、シナプス増加後の刈り込み現象が観察されない。このため、「オーバーシュート型」のシナプス形成の異常によって引き起こされる精神疾患の研究を推進するためには、霊長類モデルを用いた研究が必要不可欠である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the process of synapse formation of cerebral cortex in an ASD model of marmosets. We visualized the dendrites of layer III pyramidal cells of VPA marmoset at 0, 2, 3, 6 months of age and adults. VPA marmosets had a larger dendritic area after 2M compared to the neurotypicals, and had longer dendrites at any stage of development. The spine density of VPA marmosets increased remarkably after 2M. Spine density was reduced by more than 50% from 3 months of age to adult in neurotypicals, whereas no significant change was observed in VPA marmosets.

研究分野：神経解剖学

キーワード：精神疾患 大脳皮質 シナプス 霊長類 前頭前皮質

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトの大脳皮質では、出生直後から興奮性シナプスが急速に増え、児童期に最大値に達した後減少する。シナプスの「刈り込み」は、機能的な神経回路を作り上げるために不可欠な過程とされるが、どのような仕組みで起こるかはわかっていない。このシナプス形成異常が、様々な精神疾患に関与していることが明らかになりつつある。例えば、自閉スペクトラム症(ASD)の脳では刈り込みが少ないため、過剰なシナプスが維持されていると考えられている。

本研究は、自閉症様行動を示す胎生期バルプロ酸曝露マーマセットを用いて、ヒト自閉症患者に見られる「オーバーシュート型」のシナプス形成の異常とその基盤となる分子メカニズムを明らかにしようとするものである。申請者はこれまでに、定型発達マーマセットの大脳皮質3領野(前頭連合野・側頭連合野・一次視覚野)の樹状突起の発達を調査し、どの領野でも生後90日齢でスパイン数が最大となり、成体にかけて減少するオーバーシュート型シナプス形成が見られることを明らかにした(Oga, Sasaki et al., 2013)。また ASD・統合失調症で異常が報告されている内側前頭前皮質の領野(area14r, area24)では、シナプス刈り込みの規模が小さいことを明らかにした(Sasaki et al., 2015)。刈り込みを制御する候補分子として軸索誘導因子、ミクログリア関連分子などを見出した(Sasaki et al., 2014a,b)。

### 2. 研究の目的

ASD病態モデル霊長類を用いて、大脳皮質のシナプス刈り込みの異常とその分子基盤を解明することを目的とする。胎生期バルプロ酸曝露マーマセットの樹状突起スパイン数と遺伝子発現の発達変化を経時的に調査し、定型発達マーマセットの発達プロファイルと比較する。この研究により、ヒトを含む霊長類特異的な神経回路形成の異常によって引き起こされると考えられるASDの生物学的基盤を明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究では、新しい霊長類モデル動物であるコモンマーマセット(*Callithrix jacchus*)を用いた。胎生期のマーマセットをバルプロ酸に曝露(200mg/kgを胚性60日から7日間連続投与)することにより、自閉症病態モデル霊長類(VPAマーマセット)を作出した。行動学的解析から、他個体への興味が少ない、特定の鳴き声が増加しているなどのDSM-5を満たす自閉症様症状を示すことが明らかになっている。本研究では、VPAマーマセットの大脳皮質領野(area12, V1)の第3層錐体細胞のスパイン密度・総数の発達変化を調査し、この病態モデルのシナプス刈り込みに不全が見られるか検証した。また、DNAマイクロアレイを用いて胎生期バルプロ酸曝露マーマセットの発達過程の網羅的な遺伝子発現解析を行った。

### 4. 研究成果

ASD患者では頭周囲長が増加し、灰白質組織が厚くなっていることが報告されている。これは自閉症患者のシナプス刈り込み不全を反映しているものと考えられる。VPA群では、生後180日齢・成体で顕著な脳重量が増加していた。また生後90日齢、180日齢個体の灰白質組織が厚くなっており、本モデル動物の脳形態の特徴は自閉症患者の特徴と類似していることが明らかになりつつある。前頭前皮質のニューロンの細胞体の大きさは変化がなく、密度は減少していた。灰白質組織の体積の過半をニューロン突起(樹状突起・軸索)が占めていることと本研究のマイクロアレイ解析の結果から、本モデル動物では樹状突起スパイン、軸索が増加していることが示唆された。

VPAマーマセットの前頭前皮質(12野)と一次視覚野(V1)の第3層錐体細胞に蛍光色素ルシファーイエローを注入して基底樹状突起全体を可視化し、スパインの密度・総数が実際に増加しているのか調査を行った。VPAマーマセットは、定型発達個体と比較して生後2か月齢以降大きな樹状突起展開面積を持ち、どの発達段階においても長い樹状突起をもっていることがわかった。また、定型発達個体と比較して、VPAマーマセットのスパイン密度は生後2ヶ月齢以降上昇していることが観察された。定型発達個体では、生後90日齢から180日齢にかけて約30%スパイン密度が低下する「刈り込み」が起こるのに対して、VPAマーマセットでは統計的に有意な変化は観察されず、この霊長類モデル動物でASD患者のシナプス刈り込み不全を再現できていることが分かった。

VPAマーマセットと定型発達個体の発達期大脳皮質の遺伝子発現解析を比較・解析を行った。先行研究と同じ6領野(area9, 12, 14r, 24, TE, V1)、5段階の発達段階(新生仔、生後60, 90, 180日齢、成体)の灰白質組織を採取した。マーマセット特異的DNAマイクロアレイを用いて遺伝子発現を調査した。VPA群では、新生仔で長距離神経結合形成に重要な分子の発現低下が認められた。生後60-180日齢で興奮性シナプスのマーカー遺伝子の発現量が上昇しており、この病態モデルでシナプス数が異常に増加していることが推定された。代謝型グルタミン酸受容体関連分子の発現変化も観察され、シナプス特性に異常が生じている可能性がある。また生後90-180日齢で補体分子や免疫関連分子の発現量が顕著に増加していることがわかった。脳内免疫担当細胞であるミクログリアが特徴的な形態(突起内にIba1染色性が弱い箇所が存在している)を示すことがわかった。

胎生期バルプロ酸曝露マウモセットは自閉症脳解剖学的特徴を反映すること、これを形成する遺伝子発現に変化が起きていることが示されつつあり、今後新たな自閉症病態モデル動物として治療法の開発に貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koki Mimura; Tomofumi Oga; Tetsuya Sasaki; Keiko Nakagaki; Chika Sato; Kayo Sumida; Kohei Hoshino; Koichi Saito; Izuru Miyawaki; Tetsuya Suhara; Ichio Aoki; Noritaka Ichinohe	4. 巻 195(15)
2. 論文標題 Abnormal axon guidance signals and reduced interhemispheric connection via anterior commissure in neonates of marmoset ASD model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroimage	6. 最初と最後の頁 243-251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.04.006">https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.04.006</a>	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 Tetsuya Sasaki (Corresponding Author), Yusuke Komatsu, Tetsuo Yamamori	4. 巻 30(2)
2. 論文標題 Prefrontal-Enriched SLIT1 Expression in Primate Cortex and its Alteration during Cortical Development (Review)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 81-85
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.11249/jsbjpp.30.2_81">https://doi.org/10.11249/jsbjpp.30.2_81</a>	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 佐々木 哲也、小松 勇介、渡我部 昭哉、山森 哲雄	4. 巻 124
2. 論文標題 霊長類前頭前皮質に特異的に発現する遺伝子の解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本解剖学会総会・全国学術集会講演プログラム・抄録集	6. 最初と最後の頁 140-140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 佐々木哲也, 真鍋朋子, 中垣慶子, 一戸紀孝	4. 巻 123
2. 論文標題 胎生期バルプロ酸曝露によるASDモデルマーマーモセットの作成と大脳皮質シナプスの異常	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本解剖学会総会・全国学術集会講演プログラム・抄録集	6. 最初と最後の頁 141-141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Yosuke Takei, Saki Tome, Tetsuya Sasaki	4. 巻 30 (3)
2. 論文標題 Intracellular transport of NMDA type glutamate receptors and Schizophrenia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Biological Psychiatry	6. 最初と最後の頁 101-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.11249/jsbpjpp.30.3_101">https://doi.org/10.11249/jsbpjpp.30.3_101</a>	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 Tetsuya Sasaki and Yosuke Takei	4. 巻 31
2. 論文標題 Localization Mechanism of Myosin Id, an ASD Risk Gene Product in Dendritic Spines	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Biological 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) Unissued	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 Tome Saki, Sasaki Tetsuya, Takahashi Satoru, Takei Yosuke	4. 巻 68
2. 論文標題 Elevated maternal retinoic acid-related orphan receptor- t enhances the effect of polyinosinic-polycytidylic acid in inducing fetal loss	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 491 ~ 497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1538/expanim.19-0038">https://doi.org/10.1538/expanim.19-0038</a>	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 Sanagi Tomomi, Sasaki Tetsuya, Nakagaki Keiko, Minamimoto Takafumi, Kohsaka Shinichi, Ichinohe Noritaka	4. 巻 13
2. 論文標題 Segmented Iba1-Positive Processes of Microglia in Autism Model Marmosets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00344">https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00344</a>	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 -

〔学会発表〕 計30件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Yusuke Komatsu, Akiya Watakabe, Tetsuo Yamamori
2. 発表標題 Prefrontal-Enriched SLIT1 Expression in Primate Cortex Established during the Postnatal Development
3. 学会等名 the 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木 哲也、権田裕子、小松 勇介、渡我部 昭哉、山森 哲雄
2. 発表標題 霊長類前頭前皮質に特異的に発現する遺伝子の解析
3. 学会等名 第124回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 當銘 幸貴、佐々木 哲也、武井 陽介
2. 発表標題 ROR $\gamma$ t過剰発現マウスにおけるpoly(i:c)誘導性流産率の上昇
3. 学会等名 124回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Li Jinmin、佐々木 哲也、首藤 文洋、武井 陽介
2. 発表標題 免疫活性化母体から産まれたマウスにおけるセロトニン神経発達異常
3. 学会等名 124回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saki Tome, Rei Nataga, Tetsuya Sasaki, Satoru Takahashi, Yosuke Takei
2. 発表標題 Increased level of maternal ROR t enhances effect of poly(I:C) to induce fetal loss
3. 学会等名 4th Annual Anatomy Group Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木 哲也、小松 勇介、渡我部 昭哉、山森 哲雄
2. 発表標題 霊長類前頭前皮質に特異的に発現する分子の解析-霊長類特有の前頭前皮質機能の分子基盤とは？-
3. 学会等名 2018年度 次世代脳 冬のワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐々木 哲也
2. 発表標題 自閉症様モデル霊長類の発達期神経回路再編成の異常
3. 学会等名 第245回つくばブレインサイエンス・セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 哲也、小松 勇介、渡我部 昭哉、山森 哲雄
2. 発表標題 霊長類前頭前皮質特異的に発現するSLITの解析
3. 学会等名 第106回関東支部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 哲也
2. 発表標題 バルプロ酸曝露による新規自閉症モデル霊長類の作出と大脳皮質シナプス発達異常の解明
3. 学会等名 北海道大学大学院医学研究科 生殖・発達医学講座 小児科学分野 月曜集談会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木哲也、真鍋朋子、中垣慶子、武井陽介、一戸紀孝
2. 発表標題 Abnormality of postnatal synapse formation/pruning in cerebral cortex of a primate model of ASD
3. 学会等名 第41回 日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 哲也
2. 発表標題 自閉症様モデル霊長類の発達期神経回路再編成の異常
3. 学会等名 第7回 自閉症学研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木哲也、真鍋朋子、中垣慶子、一戸紀孝
2. 発表標題 胎生期バルプロ酸曝露によるASDモデルマーマーモセットの作成と大脳皮質シナプスの発達異常
3. 学会等名 第123回 日本解剖学会総会 全国学術集会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 佐々木哲也、真鍋朋子、中垣慶子、一戸紀孝
2. 発表標題 胎生期バルプロ酸曝露によるASDモデルマーモセットの作成と大脳皮質シナプスの異常
3. 学会等名 日本解剖学会総会・全国学術集会 第122回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 郷康広、佐々木哲也、小賀智文、中垣慶子、辰本将司、石川裕恵、臼井千夏、一戸紀孝
2. 発表標題 自閉症モデルマーモセット脳における時空間遺伝子発現解析
3. 学会等名 第7回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Tomomi Sanagi, Tomoko Manabe, Shinichi Kohsaka, Noritaka Ichinohe
2. 発表標題 Immune-related Factors Influenced Postnatal Synapse Remodeling in the Primate Cerebral Cortex
3. 学会等名 第22回 グリア研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐々木 哲也、山森哲雄、一戸紀孝
2. 発表標題 霊長類前頭皮質錐体細胞の樹状突起スパイン形態の特異性
3. 学会等名 第105回 日本解剖学会 関東支部学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Tomoko Manabe, Keiko Nakagaki, Noritaka Ichinohe
2. 発表標題 Abnormality of Postnatal Synapse Formation/Pruning in a Primate Model of ASD
3. 学会等名 国際自閉症カンファレンス東京2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐々木 哲也、佐柳友規、真鍋朋子、高坂新一、一戸紀孝
2. 発表標題 免疫系因子が生後発達期の霊長類大脳皮質のシナプス再編成過程に及ぼす影響
3. 学会等名 第60回 日本神経化学学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐柳友規、佐々木哲也、真鍋朋子、中垣慶子、高坂新一、一戸紀孝
2. 発表標題 胎生期バルプロ酸暴露自閉症モデル霊長類の前頭前皮質におけるミクログリアの異常
3. 学会等名 第60回 日本神経化学学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 佐々木哲也、真鍋朋子、中垣慶子、高坂新一、一戸紀孝
2. 発表標題 胎生期バルプロ酸暴露自閉症モデルマウスのシナプス形成・再編成(刈り込み)の異常
3. 学会等名 第60回 日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Yusuke Komatsu, Yosuke Takei, Tetsuo Yamaori.
2. 発表標題 SLIT2 is preferentially expressed in the the higher-order association areas in primates.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jinmin Li, Tetsuya Sasaki, Fumihiro Shutoh, Yosuke Takei.
2. 発表標題 The developmental defect of Serotonergic neuron induced by maternal immune activation.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saki Tome, Rei Nagata, Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei.
2. 発表標題 Analysis of the effect of IL17A increase on neurodevelopment in RORgt-overexpression transgenic mice.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Saki Tome, Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei.
2. 発表標題 Elucidation of abnormal formation cerebral cortex by interleukin 17A.
3. 学会等名 第107回日本解剖学会関東支部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Yusuke Komatsu, Yosuke Takei, Tetsuo Yamamori.
2. 発表標題 Analysis of genes that characterize the higher association area of the cerebral cortex.
3. 学会等名 The 125th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yosuke Takei, Saki Tome, Takuya Takada, Peiryi Bao, Tetsuya Sasaki
2. 発表標題 Molecular Genetic Analysis of the Role of IL-17A in the Central Nervous System.
3. 学会等名 The 125th Annual Meeting of The Japanese Association of Anatomists
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Saki Tome, Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei.
2. 発表標題 Molecular genetic analysis of the role of interleukin 17A in CNS.
3. 学会等名 Tsukuba Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jinmin Li, Fumihiro Shutoh, Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei.
2. 発表標題 Developmental defects of serotonergic neurons induced by maternal immune activation.
3. 学会等名 Tsukuba Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tetsuya Sasaki, Yusuke Komatsu, Tetsuo Yamamori.
2. 発表標題 Slit2 is preferentially expressed in the higher-order association area of primate cortex.
3. 学会等名 annual meeting of society for neuroscience 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jinmin Li, Fumihiro Shutoh, Tetsuya Sasaki, Yosuke Takei.
2. 発表標題 The Developmental Defect of Serotonin Neuron Induced by Maternal immune activation.
3. 学会等名 5th Anatomy Group Meeting (招待講演)
4. 発表年 2020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