

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15924

研究課題名（和文）自閉症スペクトラム障害の病態に関わる小脳神経回路基盤

研究課題名（英文）Role of the cerebellar circuit deficits in the pathological basis for autism spectrum disorder

研究代表者

堤 新一郎 (Tsutsumi, Shinichiro)

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・副チームリーダー

研究者番号：20862676

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では小脳外側部を含む神経回路の異常が自閉症スペクトラム障害の中核となる病態や行動レベルでの障害に關する可能性について、動物モデルを用いて検討した。自閉症スペクトラム障害モデルマウスに感覚運動連関タスクを行わせ、行動障害を定量するとともに、タスク中の小脳神経細胞活動を二光子イメージングにより記録した。疾患モデルマウスでは感覚運動連関の学習に遅れが見られ、それに対応し、小脳細胞集団の同期構造やその活動に乱れが見られた。これらの結果は小脳神経回路の同期構造とその機能異常が精神疾患における学習・行動異常に關わっている可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、動物モデルを用いて自閉症スペクトラム障害における感覚統合異常の定量、小脳外側部の機能障害の解明を目標とした。結果として、自閉症スペクトラム障害モデル動物において、感覚運動連関の学習異常が見られ、それが小脳同期構造とその活動の異常と關連することが示唆された。本研究で使用したタスクはヒトにも応用可能であり、将来的には、自閉症スペクトラム障害の発症と深く關連する小脳外側部の機能障害の臨床的評価と、早期診断に貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：This research project aimed to clarify whether the dysfunction in neural circuits involving the lateral cerebellum contributes to the core behavioral deficits and pathological basis of the autism spectrum disorder by using psychiatric disease model mice. Behavioral deficits in the disease model mice were quantified by a sensorimotor association task during the two-photon imaging of the cerebellar neurons. We found that the learning of sensorimotor association was delayed in the disease model mice, which corresponded to the disorganization of the synchrony bands and their activity in the cerebellar cortex. These results suggest that the deficits in the synchronous activity in the cerebellum is related to the behavioral and learning deficits in psychiatric disorders.

研究分野：神経科学

キーワード：小脳 自閉症スペクトラム障害 二光子イメージング 感覚運動連関 登上線維 同期性

1. 研究開始当初の背景

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、若年での罹患率が高く(1-2%)、社会的影響が大きい一方、病態の中核が明らかとなっておらず、有効な治療法の創出が阻まれている。特に自閉症スペクトラム障害では小脳の先天的な低形成が発症に関連する二番目の危険因子である。小脳は一般的に運動機能や運動学習に関与するとされ、中でも小脳外側部は、自閉症スペクトラム障害と関連する前頭前野や前帯状皮質、内側側頭葉などの高次脳領域と密接な連絡を持ち、高度な感覚処理と、正確なタイミングでの行動制御に重要であることが示唆されている。自閉症スペクトラム障害の症例および多数の関連遺伝子の変異導入マウスにおいて、小脳依存的な感覚運動連関(瞬目反射条件付け)の障害が報告されており、小脳における感覚運動処理と自閉症スペクトラム障害の関連が議論されている。一方で小脳特異的な結節性硬化症の原因遺伝子の改変マウス(Tsc1+/-)において、繰り返し行動や社会性障害などの自閉症様行動が引き起こされることが明らかになった。さらにこのマウスの小脳外側部の一部である Crus 1 領域のプルキンエ細胞活動を操作することで、社会行動を改善できることが報告された。この研究は小脳外側部刺激による自閉症スペクトラム障害の治療可能性を示している。以上の背景を踏まえ、小脳外側部の局所神経回路のどのような活動が自閉症スペクトラム障害の病態および行動障害に関連しているのか?という問いに対し、小脳局所神経回路活動を二光子イメージングや高密度電気記録法で記録し、光遺伝学的にその活動に介入を行うことで検討することを目標とした。

2. 研究の目的

本研究では、自閉症スペクトラム障害における感覚統合異常の定量、小脳外側部の機能障害の解明と、その適切な介入による機能補填を目標とした。研究代表者は小脳外側部局所回路における感覚処理と、それに基づく正確な行動制御における役割を調べるため、小脳外側部依存的な多感覚運動連関タスクをデザインし、タスク行動中のマウス小脳の二光子イメージング・光遺伝学的介入・高密度電気記録を実現した。本研究ではこの手法を自閉症スペクトラム障害モデルマウスに適用することで神経回路障害の解明と介入法の検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1)疾患モデルマウスの感覚運動連関の異常の定量化

自閉症スペクトラム障害モデルマウス(patDp/+)に頭部金具を取り付け、頭部を固定した状態で多感覚運動連関タスクを覚えさせた。2-3日の水分摂取制限を行った上記のマウスに、感覚刺激として、ヒゲ領域への空気圧刺激(5-6 psi)と、音刺激(3,300 Hz、ともに0.5秒)を使用し、二感覚同時刺激の提示中に舌舐め運動を開始した場合、サッカリン水 2 μL を報酬として与えた。単感覚刺激(空気圧刺激または音刺激)の提示中に舌舐め運動を開始した場合、白色ノイズ(90 dB、0.5秒)を罰として与えた。それぞれのマウスを1日1回300-600トライアル、2-3週間トレーニングさせ、多感覚刺激と単感覚刺激の弁別の度合い・学習の速さ、多感覚刺激に対する舌舐め運動開始の早さとタイミングの正確性を比較した。

(2)疾患モデルマウスの小脳神経回路活動異常の定量化

自閉症スペクトラム障害モデルマウス(patDp/+)の左小脳半球 Crus 1 に、遺伝的にコードされたカルシウムインジケーター(jGCaMP7)をウイルスベクター(adeno-associated virus: AAV)を用いて導入した。次に、多感覚運動連関タスク中の上記マウス小脳において2光子カルシウムイメージングを行った。小脳プルキンエ細胞の樹状突起における大きなカルシウム上昇は下オリブ核からの登上線維入力に特異的であることが知られている。研究代表者がこれまでに明らかにした登上線維入力の縞状の同期構造と、一つおきの縞状構造に特異的な感覚応答や、感覚運動連関に特異的な登上線維入力の同期性の上昇が、自閉症モデルマウスと正常マウスでどのように異なるかを検証した。

4. 研究成果

(1)疾患モデルマウスの感覚運動連関の異常の定量化

自閉症スペクトラム障害モデルマウス(patDp/+)において、小脳外側部の機能と考えられている感覚処理とそれに基づく正確なタイミングでの運動制御を定量可能な多感覚運動連関タスク(Tsutsumi et al., Cell Rep (2020))を行わせた。patDp/+マウスでは正常マウスに比して、多感覚刺激に対してリック運動を行う感覚運動連関の学習が遅れた一方、その後の単感覚刺激に対しての反応抑制の学習には違いがなかった。また、多感覚刺激に対するリック運動開始のタイミングは正常マウスに比べて遅いことが観察された。さらに、異なる自閉症スペクトラム障害モデルマウス系統(CHD8 hKO)において、感覚運動連関タスクに加え、新たに立ち上げた短期記憶の障害を定量できるタスク(遅延付き go/no-go タスク)を行わせた。CHD8 hKO 系統では、感覚運動連関自体は障害されないが、短期記憶が障害されるという予備的な結果を得た。

(2)疾患モデルマウスの小脳神経回路活動異常の定量化

多感覚運動連関タスク中の patDp/+マウス小脳外側部 Crus 1 の広い領域でのプルキンエ細胞

の二光子カルシウムイメージングを実施し、プルキンエ細胞への登上線維入力の集団活動を記録した。patDp/+マウス小脳外側部 Crus I では、登上線維入力の同期で定義される縞状構造が一部崩れ、極端に細いバンドが見られた。さらに、タスク下での登上線維入力は正常マウスに比べて少ないか、あったとしても遅く、時間的なバラつきが大きかった。

以上の結果から、自閉症スペクトラム障害モデルマウス(patDp/+)において、小脳神経回路の同期構造とその機能に異常があり、それがこのモデルマウスにおける運動タイミングの遅れと感覚運動連関学習速度の低下に関わっている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shinichiro Tsutsumi, Oscar Chadney, Tin-Long Yiu, Edgar Baumler, Lavinia Farragiana, Beau Maxime, and Michael Hausser	4. 巻 33
2. 論文標題 Purkinje Cell Activity Determines the Timing of Sensory-Evoked Motor Initiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108537 ~ 108537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108537	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 堤新一郎	4. 巻 72号
2. 論文標題 小脳研究の未来 III. システム・運動制御 小脳の縞状構造と高次機能	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 52-56
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi, Oscar Chadney, Tin-Long Yiu, Lavinia Farragiana, Beau Maxime, and Michael Hausser
2. 発表標題 Cerebellar Purkinje cell activity determines the latency and precision of sensory-driven motor initiation
3. 学会等名 50th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi, Oscar Chadney, Tin-Long Yiu, Lavinia Farragiana, Beau Maxime, and Michael Hausser
2. 発表標題 Cerebellar circuit basis for rapid sensorimotor associations
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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