

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19335

研究課題名(和文)全脳神経活動マッピングを用いた単一細胞イメージング薬理学による自閉症の病態研究

研究課題名(英文) Pathophysiological study of autism spectrum disorders using whole brain activity mapping

研究代表者

橋本 均 (Hashimoto, Hitoshi)

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：30240849

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、全脳全細胞イメージング法を用いて、妥当性の高いヒトの3q29領域欠失部分に相当する染色体領域を欠失した3q29欠失マウスを用いて、社会性行動異常を引き起こす分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。その結果、オキシトシンシグナルの障害により社会性行動異常が引き起こされることを見出した。また、聴覚野を含む過剰な活性化がその背景にあることを見出した。これらの成果は、我々が推進してきたバイアスをかけない脳全体のシングル細胞レベルの神経活動マッピングを用いたイメージング薬理学が、脳高次機能異常の分子基盤を明らかにするうえで有用であることを示した。

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の中核症状である社会性障害の「治療薬の開発に直結する」分子病態をシングル細胞レベルで明らかにした本研究の成果は、神経発達障害である自閉スペクトラム症の病態を「大人になった後でも」治療を可能にする薬物・戦略の開発に資するものであり、社会的急務の中核疾患の解決を加速する点で学術的・社会的意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to elucidate the molecular mechanisms underlying social behavioral deficits caused by the microdeletion of the human chromosome 3q29 region. Using whole-brain imaging system, we discovered that disruption of oxytocin signaling leads to social behavioral deficits in 3q29 deletion mice. furthermore, excessive activation in the auditory cortex was found to be implicated in these abnormalities of 3q29 deletion mice. These findings demonstrate the utility of imaging pharmacology using unbiased brain-wide activity mapping in elucidating the molecular basis of brain dysfunctions.

研究分野：神経薬理学

キーワード：自閉スペクトラム症 3q29

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症 (ASD) は、社会性行動等に障害が認められる頻度が高い神経発達障害の1つである。病態の分子メカニズムはほとんど不明であり、多数の患者を説明できる明確な分子病因は同定されておらず、また中核症状に対する治療薬は存在しない。本研究では、独自に開発した「妥当性の高い」ヒト型ASDモデルマウス群の薬物投与によるASD様行動異常の回復という知見に基づき、独自に開発した高速・高精細のバイアスをかけない脳全体の単一細胞レベルの神経活動マッピングを用いて、社会性行動の制御に関わる個々の神経細胞を薬理的に同定、分類および解析するというこれまでにない「単一細胞レベル」のイメージング薬理学を推進する。

ASDの理解には、病態に直結すると考えられる変異の解析が重要であると考えており、疾患に対するオッズ比 (病気への罹りやすさ) が60以上と、精神疾患分野ではほぼ最大であり、疾患と強く関連していると考えられる3q29領域微小欠失モデルなどを用いた分子病態解析を推進してきた。最近では、ヒトの3q29領域欠失部分に相当する染色体領域を欠失した3q29欠失マウス (Df (h3q29)/+マウス) を作出し、3q29相同領域の欠失により、社会性行動異常などのASD様行動異常が引き起こされることを世界に先駆けて見出してきた。

2. 研究の目的

本研究では、妥当性の高いヒトの3q29領域欠失部分に相当する染色体領域を欠失したDf (h3q29)/+マウスを用いて、体性感覚皮質の社会性行動時に過剰に活性化する神経細胞の特性に注目し、社会性行動に関与する神経回路を同定・操作すること、およびDf (h3q29)/+マウスの社会性行動異常を引き起こす分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。この際、これまでに実施してきた高速・高精細のバイアスをかけない脳全体の単一細胞レベルの神経マッピングにより、Df (h3q29)/+マウスでは、聴覚野の活動が過剰になっていることを見出していることから、聴覚野に注目した研究も推進する。

3. 研究の方法

ヒト 3q29 領域に相当するマウス染色体 16B2 部位から 16B3 部位までの領域を欠失させたC57BL/6J を遺伝的背景とする雄性の Df (h3q29)/+マウス、並びに雌性の野生型マウスより得られた雄性の産仔を用いた。マウスは室温 ; 22 ± 1 °C、照明時間 ; 1日 12時間 (8:00 - 20:00) の環境下で飼育し、水、並びに固形飼料は自由に摂取させた。全ての動物実験は大阪大学大学院薬学研究科動物実験規定に準拠して倫理的に行った。

社会性行動試験は、12週齢の被験マウスをテストケージに入れ、60分間順化させた。順化を開始した30分後にオキシトシンあるいは生理食塩水を1mL/10g mice-bodyweight 投与した。順化終了後、被験マウスとの交流経験のない7週齢の雄性野生型マウスを、新奇侵入マウスとしてテストケージに入れ、自由行動させた。20分間の試験における各被験マウスの新奇侵入マウスに対する匂い嗅ぎ行動、毛づくろい行動、追いかけて行動、潜り込み行動の時間を測定し、その総和を社会的相互作用時間とした。

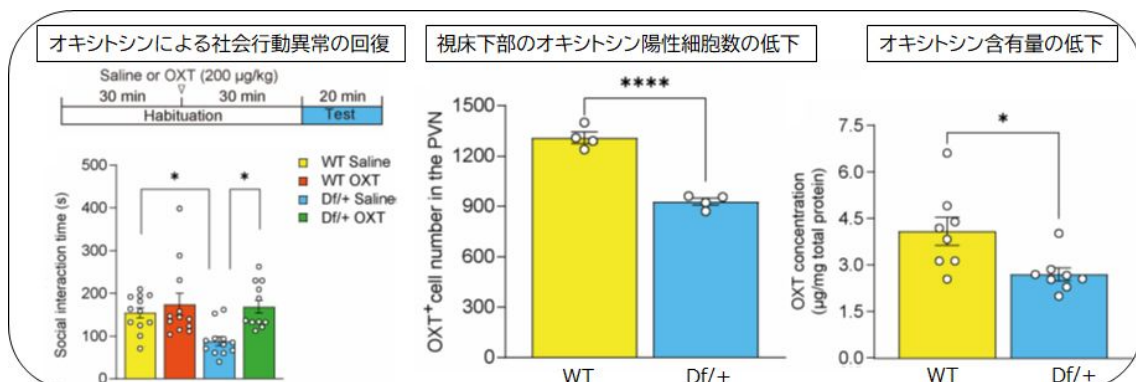
4. 研究成果

(1) オキシトシンによる Df (h3q29)/+マウスの社会性行動障害の回復

これまでに Df (h3q29)/+マウスが、新奇侵入マウスに対する社会的相互作用時間が低下することを見出している。そこで、Df (h3q29)/+マウスの社会行動の異常がオキシトシンシグナルによ

り回復するかを調べた。12週齢の野生型マウスと Df(h3q29)/+マウスそれぞれに、生理食塩水または、オキシトシン 200 µg/kg を投与し、投与の30分後に新奇侵入マウスとの相互作用時間を測定した。これまでの研究と同様に、生理食塩水を投与した野生型マウスと比較し、生理食塩水処置した Df(h3q29)/+マウスの社会的相互作用時間は有意に低下していた。オキシトシンは、野生型マウスの社会的相互作用時間に影響を与えない一方で、Df(h3q29)/+マウスの社会的相互作用時間を有意に回復させた(図、左)。

次に、Df(h3q29)/+マウスにおいてオキシトシン産生量に変化しているのかを明らかにするため、視床下部のオキシトシン陽性細胞数を定量化した。その結果、Df(h3q29)/+マウスのオキシトシン陽性細胞数は、野生型マウスよりも有意に低下していた(図、中)。またELISA法を用いて、大脳皮質におけるオキシトシン量を測定した結果、Df(h3q29)/+マウスの大脳皮質におけるオキシトシン量は野生型よりも有意に低下していた(図、右)。一方で、視床下部におけるオキシトシン mRNA の発現量は、Df(h3q29)/+マウスと野生型マウスの間で有意な差は認められなかった。これらの結果から、Df(h3q29)/+マウスにおけるオキシトシン陽性細胞数の低下は、オキシトシン mRNA からの翻訳過程に異常があることが示唆された。この結果は、3q29 欠失マウスの社会性行動異常が、発達段階のオキシトシンシグナルの障害により引き起こされることを示しており、本研究の目的である体性感覚皮質の社会性行動時に過剰に活性化する神経細胞の特性解析には、成熟マウスのみならず発達段階のマウスを用いることが重要であることを示唆するものである(Takemoto et al., Mol Brain, 2022)。



(2) Df(h3q29)/+マウスの聴覚野を中心とした神経回路レベルの解析

これまでに、高速・高精細のバイアスをかけない脳全体の単一細胞レベルの神経マッピングにより、Df(h3q29)/+マウスでは、聴覚野の活動が過剰になっていることを見出している。そこで、社会行動刺激を施した後の聴覚野における活性化神経細胞が形成する神経回路の投射パターンを調べた。その結果、Df(h3q29)/+マウスの聴覚野 扁桃体、聴覚野 線条体といった神経回路の投射パターンは、野生型マウスと比較して、明らかな異常がないことが示唆された(未発表)。この結果は、Df(h3q29)/+マウスでは、聴覚野の社会活動中に活性化する神経細胞が形成する神経回路の活性化パターンに異常があることを示唆している。これまでの我々の研究から(Kitagawa et al., Mol Brain, 2021)、オキシトシンの投与により、大脳皮質の神経活動が抑制されることを見出している。(1)の結果から、聴覚野の過剰な活動がオキシトシンにより抑制された結果、Df(h3q29)/+マウスの社会性行動障害が回復したことが示唆された。

本研究成果は、我々が推進してきた高速・高精細のバイアスをかけない脳全体の単一細胞レベルの神経活動マッピングを用いたイメージング薬理学が、疾患モデルマウスの脳高次機能異常の分子基盤を明らかにする上で有用であることを端的に示すものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Yamamoto K et al.	4. 巻 11
2. 論文標題 Multiple alterations in glutamatergic transmission and dopamine D2 receptor splicing in induced pluripotent stem cell-derived neurons from patients with familial schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 548
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41398-021-01676-1	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 Hayata-Takano A et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 PACAP-PAC1 Signaling Regulates Serotonin 2A Receptor Internalization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 732456
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fendo.2021.732456	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 Niu et al.	4. 巻 8
2. 論文標題 Clastrum mediates bidirectional and reversible control of stress-induced anxiety responses.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabi6375
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 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 Takemoto T et al.	4. 巻 15
2. 論文標題 Oxytocin ameliorates impaired social behavior in a mouse model of 3q29 deletion syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13041-022-00915-w	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0件

〔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
---------	---------