

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15235

研究課題名（和文）視床前頭前野投射が精神疾患の認知障害に果たす役割の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the role of the thalamo-prefrontal projections for cognitive dysfunction in psychiatric disorders

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） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、新規活動依存的トレーシング法により、遅延付きGo/No-Goタスク学習により視床前頭連合野投射が機能的に再編成されることを世界に先駆けて示した。また、技術的に困難である視床前頭連合野投射軸索の2光子カルシウムイメージングの技術を確立した。自閉スペクトラム症モデルマウスChd8 hKO系統を用いた解析では、視床前頭連合野投射が野生型と解剖学的に異なることを発見した。本研究ではChd8 hKO系統における視床前頭連合野投射の機能的な異常は明らかではなかったが、今後の研究で認知タスク学習後に機能投射に差が出るかを検討する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、認知学習により視床前頭連合野投射が機能的に再編成されることを世界に先駆けて示した。また、技術的に困難である視床前頭連合野投射軸索の2光子カルシウムイメージングの技術を確立した。自閉スペクトラム症モデルマウスChd8 hKO系統を用いた解析では、視床前頭連合野投射が解剖学的に異なることを発見した。本研究ではChd8 hKO系統における視床前頭連合野投射の機能的な違いは明らかではなかったが、今後の研究で、認知障害の原因となりうる視床前頭連合野投射の異常が特定されれば、新たな診断・治療方針に向けた基盤的な知見となりうる。

研究成果の概要（英文）：By using a novel activity-dependent tracing method, this study revealed a functional reconfiguration of thalamus-frontal association cortex (FrA) projections after learning a cognitive task; from a preferential activation of VL (motor-related) thalamus to FrA projections to that of VM/Po (sensorimotor or associative) thalamus to FrA projections. We also established a technically challenging, two-photon calcium imaging of thalamus-FrA axons. In autism spectrum disorder model mice (Chd8 hKO), we found anatomical difference in thalamus-FrA projections. We failed to find functional differences in thalamus-FrA projections in Chd8 hKO mice at baseline, however, future study could reveal the difference in functional projections after the cognitive learning.

研究分野：神経科学

キーワード：自閉スペクトラム症 神経活動依存的トレーシング 視床前頭連合野 機能的再編成 認知タスク 2光子イメージング

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

統合失調症における認知障害は、前頭野など高次脳領域におけるシナプス異常 (Nagahama *et al.*, *Cell Rep*, 2020) と、それに伴う複数脳領域間での協調活動の異常 (Brady *et al.*, *Am J Psychiatr*, 2019) によると考えられている。特に、Phencyclidine などの向精神薬や、NMDA 脳症など、NMDA レセプター阻害によって発症する統合失調症においては、視床の抑制性制御を司る視床網様核の機能が阻害されることで視床活動が亢進し、大脳皮質過活動を引き起こすことで症状が発現することが示唆されている (Santana *et al.*, *Biol Psychiatr*, 2011)。一方、小脳からの出力を受ける視床背外側核は、内側前頭前野皮質のデルタ周波数 (1~4 Hz) 振動に重要であり、これが失われると時間間隔の見積りに異常を来たすことが知られる (Parker *et al.*, *Mol Psychiatr*, 2017)。自閉スペクトラム症においても、疾患モデル動物を用いた研究により、前頭前野のシナプス機能の異常 (Sacai *et al.*, *Nat Comm*, 2020) や、興奮・抑制バランスの変調が示されており (Yizhar *et al.*, *Nature*, 2011)、近年、視床を介した小脳 - 前頭前野機能連関の異常と、社会性障害や繰り返し行動との関連が示された (Kelly *et al.*, *Nat Neurosci*, 2020)。従って、視床 - 前頭前野投射は複数の精神疾患において障害されており、認知機能障害の共通経路として重要だと考えられるが、その入出力関係を細胞・シナプスレベルで解像した研究はなく、病態の理解を阻んでいる。

2. 研究の目的

本研究は世界的にもほとんど行われていない神経活動依存的なトレーシング法を用いて認知機能に重要な視床 - 前頭連合野投射を可視化し、その同定された投射の 2 光子カルシウムイメージングを行う。この研究により、今まで漠然としか分かっていなかった、認知機能に重要な視床核が明らかになり、その核から前頭連合野に投射する情報を詳細に解析することが可能になる。さらに本研究では、統合失調症および自閉スペクトラム症の責任因子としてそれぞれゲノムワイドの有意性が再現されている唯一の遺伝子である、*Setd1a* (Nagahama *et al.*, *Cell Rep*, 2020) および *Chd8* (Katayama *et al.*, *Nature*, 2016) のヘテロノックアウトシステムを用いる。従って本研究は、遺伝的に蓋然性の高い精神疾患モデル動物と、最先端のイメージング技術を融合する、独自かつ創造的な研究課題である。

3. 研究の方法

(1) 認知機能に関わる視床 - 前頭前野投射の同定

本研究ではまず、神経活動依存的なトレーシング法を用いて認知機能に重要な視床 - 前頭連合野投射を同定する。神経活動マーカーとして、活動依存的に発現する遺伝子である *E-SARE* (Kawashima *et al.*, *Nat Meth*, 2013) を用いる。具体的には、前頭連合野 (frontal association cortex, FrA) 皮質に逆行性ウイルスベクターである *AAVrg.E-SARE.Cre* を導入し、視床神経細胞に *Cre* 依存的に赤色蛍光タンパクを発現するウイルスベクター *AAV5.DIO.tdTomato* および非特異的に緑色蛍光タンパクを発現するウイルスベクター *AAV5.hSyn.mClover* を発現させる。これにより、視床から FrA への解剖学的投射と、その中で特定の条件で強く活動した投射を同時に可視化できる。前頭野の認知機能として代表的な作業記憶を定量するため、遅延付き *Go/No-Go* 音弁別タスク (Kamigaki and Dan, *Nat Neurosci*, 2017 より改変) を、2 光子イメージングが可能な頭部固定マウスに学習させる。遅延付き *Go/No-Go* タスクでは、高音と低音の 2 音どちらかの後に 5 秒の遅延を挟んで中間音が提示され、高音の後の中間音でリックすると水の報酬が与えられるが、低音の後の中間音でリックするとタイムアウトが与えられる。従ってマウスは遅延時間中に音情報を保持し (作業記憶) 中間音が提示された後に適切に反応する必要がある。このタスクを学習させた群と学習させない群の両方で上記の神経活動依存的なトレーシングを行い、両者を比較することで、認知機能や学習に重要な視床核 (便宜上 X 核とする) を同定する。

(2) 前頭前野に投射する視床軸索の 2 光子カルシウムイメージング

上記 1 で同定した視床の X 核を狙って、緑色カルシウムセンサー *GCaMP6f* (Chen *et al.*, *Nature*, 2013) をウイルスベクターで導入する。その上で、上記の遅延付き *Go/No-Go* 音弁別タスクを遂行中のマウス FrA において、2 光子カルシウムイメージングを行うことで、作業記憶保持中の視床 X 核神経細胞の投射軸索の活動が可視化できる。特に、先行研究で電気記録により確認されている、視床神経細胞の漸増・漸減活動 (Guo *et al.*, *Nature*, 2017) が解像できるかを確認し、入力空間的分布に注目して解析を行う。また、視床 X 核の神経細胞に特定の薬剤 (CNO など) に反応するレセプターをウイルスベクターにより遺伝的に発現させ、その薬剤を投与することでその細胞集団の活動を興奮もしくは抑制する薬理遺伝学的手法 (DREADD) を用いて視床活動に介入することで、視床 - 前頭連合野皮質間の入出力と認知行動との因果関係を調べる。

(3) 精神疾患モデルにおける視床 - 前頭前野投射異常の同定

上記1および2の実験を **Setd1a** および **Chd8** のヘテロノックアウトマウス系統において行い、正常同腹仔と比較することで、精神疾患に特有かつ、2疾患に共通する視床 - 前頭前野機能投射およびその活動の異常を同定し、**DREADD** により活動異常を是正することで認知障害を改善しうるか検討する。

4. 研究成果

(1) 認知機能に関わる視床 - 前頭前野投射の同定

視床 - 前頭野 (**FrA**) 投射に対し、神経活動依存的に発現する **E-SARE** プローブを用いた機能的トレーシングを行った。ホームケージコントロール群では視床 **VL** 核 (運動関連視床核) - **FrA** 投射が主に活性化していたのに対し、認知タスクを学習した群では、視床 **VM** 核・**Po** 核 (連合視床核) - **FrA** 投射がより活性化していた。この結果は、認知学習により視床 - 前頭野機能回路が再編成されることを示唆する。**E-SARE** プローブに改良を加え、実験を追加した。

(2) 前頭前野に投射する視床軸索の2光子カルシウムイメージング

遅延付き **Go/No-Go** タスク試行中のマウスに対し、**FrA** 領域における視床軸索活動の2光子カルシウムイメージングを行った。視床軸索活動の検出アルゴリズムはまだ確立していないが、予備的な解析では、主に音刺激や報酬に対して視床入力が入ることが示唆された。現状、視床軸索活動を効率良く検出できていないため、今後の研究でアルゴリズムに改良を加える予定である。

(3) 精神疾患モデルにおける視床 - 前頭前野投射異常の同定

自閉スペクトラム症モデルマウス **Chd8 hKO** 系統マウスについて、視床軸索の2光子カルシウムイメージングおよび機能的トレーシングに着手した。野生型同腹仔では視床 **VM** 核から前頭連合野 **FrA** への解剖学的投射が主に見られたのに対し、**Chd8 hKO** 系統マウスでは視床 **AM** 核から前頭連合野 **FrA** への解剖学的投射が主に見られた。機能的な投射については、ジェノタイプ間では差が見られなかった。今後の研究で、遅延付き **Go/No-Go** タスク学習後の視床 - 前頭連合野投射の機能的再編成について、ジェノタイプ間で違いがあるかどうかを検討する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Cerebello-thalamo-prefrontal circuits responsible for cognitive dysfunction in psychiatric disorders
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Thalamo-prefrontal circuit mechanisms responsible for cognitive dysfunction in psychiatric disorders.
3. 学会等名 4th Japan-UK Neuroscience Symposium 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Thalamo-cortical circuit mechanisms responsible for cognitive dysfunctions in psychiatric disorders
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Thalamo-frontal cortex circuit mechanisms responsible for cognitive dysfunctions in psychiatric disorders
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Thalamo-frontal circuit mechanisms of autism spectrum disorder
3. 学会等名 The 2nd RIKEN CBS Co-Creation International Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shinichiro Tsutsumi and Akiko Hayashi-Takagi
2. 発表標題 Thalamo-frontal circuit mechanisms for cognitive dysfunctions in psychiatric disorders
3. 学会等名 Gordon Research Conference Thalamo-cortical Interactions (国際学会)
4. 発表年 2024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