

令和元年6月20日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2018

課題番号：26293261

研究課題名(和文)「心の理論」の脳基盤を介した自閉症の病態解明およびサル自閉症モデル動物の作成

研究課題名(英文) Elucidating the autism pathogenesis through brain networks of "theory of mind" and modeling autism in non-human primates

研究代表者

染矢 俊幸 (Someya, Toshiyuki)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：50187902

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：様々な誤信念課題を使用した自閉症患者の脳画像研究は、心の理論と内側前頭前野(mPFC)を含む脳回路との関連を示唆している。本研究では、マカクザルのmPFCの神経活動と誤信念ターゲットへの注視バイアスの間に因果関係があるかを調べた。我々は抑制性DREADDであるhM4DiをmPFCに注入し、hM4Diに対する特異的リガンドであるクロザピンN-オキシドを注射しmPFCを不活性化させた。その結果、サルにおけるmPFCの不活性化が、誤信念ターゲットに対する注視バイアスを特異的に変化させた。本研究結果はmPFCが心の理論における役割を果たしているという可能性を因果的に示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、マカクザルには心の理論がある可能性、及び内側前頭前野が心の理論の脳回路の一部である可能性が示唆された。本研究結果により妥当性の高いASDモデル動物を作成することが可能となり、分子遺伝的基盤や生物学的治療の研究が飛躍的に推進されると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Human neuroimaging studies using various false-belief (FB) attribution tasks have revealed relationships between theory of mind (ToM) and brain networks, including the medial prefrontal cortex (mPFC). In the present study, we examined whether there was causation between neuronal activity in the macaque mPFC and the spontaneous gaze bias to FB targets. We injected hM4Di, an inhibitory DREADD, into the mPFC. We chemogenetically inactivated the mPFC using clozapine N-oxide, a specific ligand to hM4Di. We found that chemogenetic deactivation of the mPFC with CNO injection in monkeys expressing hM4Di specifically altered the gaze bias to the FB target. Thus, our results indicate that neural activity in the macaque mPFC plays a causal role in ToM. These findings suggest the novel possibility that macaques implicitly attribute mental states to others via the operation of neural circuits that are shared with humans, in which the mPFC plays a pivotal role.

研究分野：発達精神医学

キーワード：心の理論 非言語的誤信念課題 DREADD マカクザル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症 (Autism Spectrum Disorder; ASD) は、社会的コミュニケーションの障害を中核症状とした神経発達障害であり、近年、虐待、いじめ、不登校、ひきこもりなどの社会問題との強い関連が指摘されている(杉山, 2008)。さらに大規模な疫学調査の結果によると、ASD の有病率は1~2%と非常に高頻度であり (Baron-Cohen et al., 2009; Kim et al., 2011)。その病態の解明と早期発見・介入は喫緊の課題である。ASD の中核症状である社会的コミュニケーションの障害を最もよく説明できるのは「心の理論」の障害と言われており、その脳基盤を明らかにすることは ASD の病態解明において最もインパクトが強い。「心の理論」とは「他者の心の動きを類推したり、他者が自分とは違う信念を持つことを理解する機能」と定義される。「サリーとアンの課題」に代表される「他者が事実とは異なる信念を持つことを理解する能力」を調べる「誤信念課題」を用いて「心の理論」の障害の有無が判定されてきた。同課題を半数が通過する言語発達年齢は定型発達児で約4歳、ASD 患児で約9歳と大きな差が認められ、これにより ASD と定型発達が判別されることが期待された (Frith, 2001 Neuron)。しかし、従来の誤信念課題通過には言語教示の理解や記憶、反応抑制などの認知能力を必要とするため、この課題を通過しないことが「心の理論」の障害の証明にならないこと、言語発達年齢が高い ASD 患者は従来の誤信念課題を通過するが、現実の社会的場面では困難さを示す、という問題点が指摘されている (Southgate et al., 2007)。以上の問題点を踏まえ、言語的教示は与えない、より自然な条件下で、誤信念場面の動画を提示し、自発的な視線の動きを眼球運動解析装置で計測する「非言語的」誤信念課題が考案され、幼児のみならず従来の誤信念課題を通過する成人においても ASD 者は他者の誤信念に基づいた予期的注視において定型発達者とは、大きく異なることが報告された (Senju et al., 2009 Science)。

2. 研究の目的

心の理論の背景となる脳基盤を明らかにすることは ASD の脳病態を解明するために必須と考えられ、心の理論の機構に関わる脳回路の探索が盛んに行われているが (Mundy et al., 2017; Molenberghs et al., 2016)、ASD の脳病態に迫る知見は乏しい。ASD の脳病態に迫る知見がこれまでの研究で得られていない理由として、主に機能的 MRI を用いたヒト対象の非侵襲的な研究のみでは、責任脳回路を特定するには空間分解能および時間分解能がともに不十分であること、責任脳回路の確定のために必要な神経回路操作によるがヒトにおいては現在の技術では非侵襲的に行うことが不可能であることが挙げられる。そこで脳回路操作が可能な実験動物の中で最もヒトに近い種であるマカクザルで確認することにより、の問題点を解消する。マカクザルを対象とする場合に、言語的教示を必要とする従来の「誤信念課題」は適用が不可能であるため、前述の「非言語的」誤信念課題 (Southgate et al., 2007) を用いる。以上により心の理論の脳基盤を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

10頭のマカクザルを対象に3種類の非言語的誤信念課題の動画を見せて視聴中の注視点を解析し、解析時間中の注視点を動画内の登場人物の誤信念を理解していると考えられる方向 (Target) とその逆方向 (Non-target) に分類し、どちらを最初に見たか (first look) と注視時間 (DLTS) を Repeated-measures ANOVA を用いて検討した。その後、非言語的誤信念課題中のヒトの脳活動を機能的 MRI で計測した研究のメタ解析 (Molenberghs et al., 2016) で責任脳領域と推定された内側前頭前野の Broadmann の9野に相当する部位を DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug) の手法を用いて神経回路操作を行った。具体的には、投射先の Broadmann の9野に逆行性レンチウイルスベクターを用いて、酸化クロザピン (CNO) のみに対して活性化する抑制性の人工受容体 (hM4Di) を注入した。この操作により微量注入装置で CNO を局所投与することで、hM4Di 受容体を活性化し、内側前頭前野への投射回路を可逆的に抑制できるようにした。そして、hM4Di 注入前に CNO を投与した状態 (hM4Di (-) CNO (+))、hM4Di 注入後に CNO を投与した状態 (hM4Di (+) CNO (+))、hM4Di 注入後に CNO を投与しない状態 (hM4Di (+) CNO (-)) の3つの状態で非言語的誤信念課題視聴中の注視点を解析した。

4. 研究成果

First look については有意に Target 側を注視することが明らかになった (Repeated-measures ANOVA; $p=0.047$, $N=20$)。また、DLTS についても有意に ± 0 よりも正の値であり、Target 側を長く注視していた (repeated-measures ANOVA; $p=0.003$, $N=30$)。これらの注視バイアスによりマカクザルには心の理論がある可能性が示唆された (図1)。

hM4Di による心の理論への影響を検証したところ、hM4Di (+) CNO (+) では同様の解析で first look ($p=0.573$) 及び DLTS ($p=0.609$) とともに有意差を認めず、hM4Di (-) CNO (+) (first look: $p=0.046$, DLTS: $p=0.0008$) および hM4Di (+) CNO (-) (first look: $p=0.016$, DLTS: $p=0.041$) の条件下ではいずれも有意差を認めた (図2)。

図1. 非言語的誤信念課題中の注視点計測

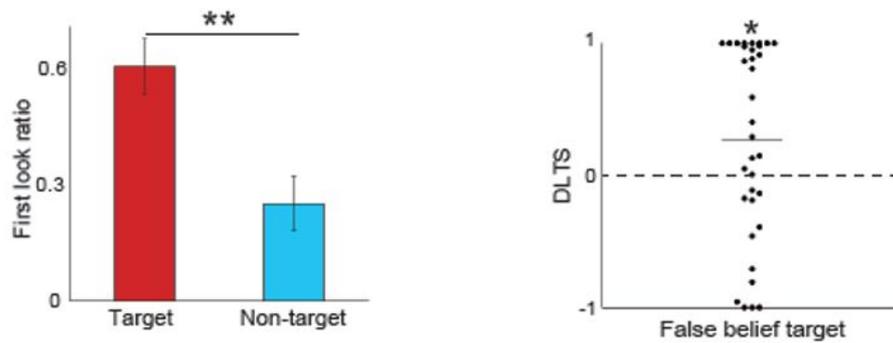
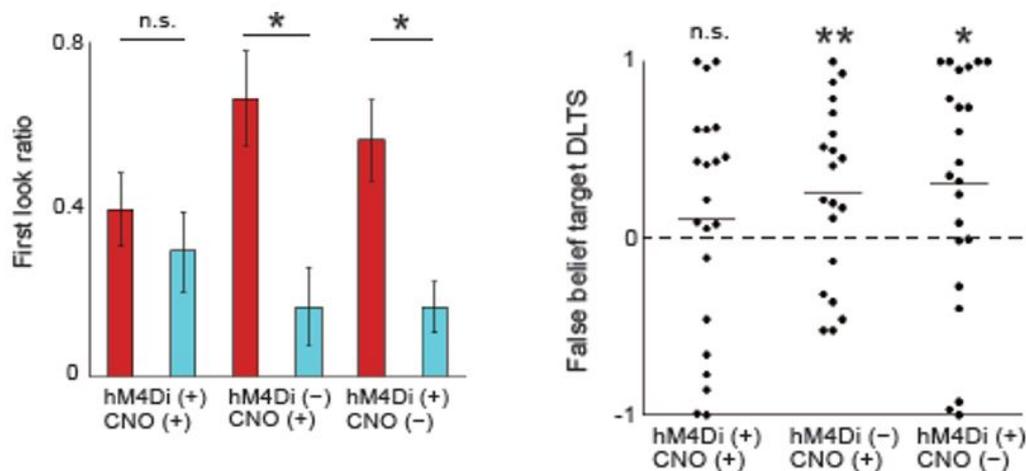


図2. 内側前頭前野への投射回路遮断中の行動実験



以上よりマカクザルには心の理論がある可能性、及び内側前頭前野が心の理論の脳回路の一部である可能性が示唆された。本研究成果が他のグループの追試などにより確認されれば、妥当性の高い ASD モデル動物を作成することが可能となり、分子遺伝的基盤や生物学的治療の研究が飛躍的に推進されると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

1. Yukawa T, Iwakura Y, Takei N, Saito M, Watanabe Y, Toyooka K, Igarashi M, Niizato K, Oshima K, Kunii Y, Yabe H, Matsumoto J, Wada A, Hino M, Iritani S, Niwa SI, Takeuchi R, Takahashi H, Kakita A, Someya T, Nawa H. Pathological alterations of chondroitin sulfate moiety in postmortem hippocampus of patients with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2018 Dec;270:940-946.
2. Ikeda M, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Saito T, Kondo K, Shimasaki A, Kawase K, Sakusabe T, Iwayama Y, Toyota T, Wakuda T, Kikuchi M, Kanahara N, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Hoya S, Aleksic B, Kushima I, Arai H, Takaki M, Hattori K, Kunugi H, Okahisa Y, Ohnuma T, Ozaki N, Someya T, Hashimoto R, Yoshikawa T, Kubo M, Iwata N. Genome-Wide Association Study Detected Novel Susceptibility Genes for Schizophrenia and Shared Trans-Populations/Diseases Genetic Effect. *Schizophr Bull.* 2018 Oct 3. [Epub ahead of print]
3. Hoya S, Watanabe Y, Shibuya M, Someya T. Updated meta-analysis of CMYA5 rs3828611 and rs4704591 with schizophrenia in Asian populations. *Early Interv Psychiatry.* 2018 Oct;12(5):938-941.
4. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Okada T, Uno Y, Morikawa M, Ishizuka K, Shiino T, Kimura H, Arioka Y, Yoshimi A, Takasaki Y, Yu Y, Nakamura Y, Yamamoto M, Iidaka T, Iritani S, Inada T, Ogawa N, Shishido E, Torii Y, Kawano N, Omura Y, Yoshikawa T, Uchiyama T, Yamamoto T, Ikeda M, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Someya T, Watanabe Y, Egawa J, Nunokawa A, Itokawa M, Arai M, Miyashita M, Kobori A, Suzuki M, Takahashi T, Usami M, Kodaira M, Watanabe K, Sasaki T, Kuwabara H, Tochigi M, Nishimura F, Yamasue H, Eriguchi Y, Benner S, Kojima M, Yassin W, Munesue T, Yokoyama S, Kimura R, Funabiki Y, Kosaka H, Ishitobi M, Ohmori T, Numata S, Yoshikawa T, Toyota T, Yamakawa K, Suzuki T, Inoue Y, Nakaoka K, Goto YI, Inagaki M, Hashimoto N,

- Kusumi I, Son S, Murai T, Ikegame T, Okada N, Kasai K, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki N. Comparative Analyses of Copy-Number Variation in Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia Reveal Etiological Overlap and Biological Insights. *Cell Rep*. 2018 Sep 11;24(11):2838-2856.
5. Zhang Y, Hishimoto A, Otsuka I, Watanabe Y, Numata S, Yamamori H, Boku S, Horai T, Someya T, Ohmori T, Hashimoto R, Sora I. Longer telomeres in elderly schizophrenia are associated with long-term hospitalization in the Japanese population. *J Psychiatr Res*. 2018 Aug;103:161-166.
 6. Tajiri M, Suzuki Y, Sugai T, Tsuneyama N, Someya T. Effects of olanzapine on resting heart rate in Japanese patients with schizophrenia. *PLoS One*. 2018 Jul 17;13(7):e0199922.
 7. Ono S, Sugai T, Suzuki Y, Yamazaki M, Shimoda K, Mori T, Ozeki Y, Matsuda H, Sugawara N, Yasui-Furukori N, Okamoto K, Sagae T, Someya T. High-density lipoprotein-cholesterol and antipsychotic medication in overweight inpatients with schizophrenia: post-hoc analysis of a Japanese nationwide survey. *BMC Psychiatry*. 2018 Jun 8;18(1):180.
 8. Sugawara N, Maruo K, Sugai T, Suzuki Y, Ozeki Y, Shimoda K, Someya T, Yasui-Furukori N. Prevalence of underweight in patients with schizophrenia: A meta-analysis. *Schizophr Res*. 2018 May;195:67-73.
 9. Okazaki S, Hishimoto A, Otsuka I, Watanabe Y, Numata S, Boku S, Shimmyo N, Kinoshita M, Inoue E, Ohmori T, Someya T, Sora I. Increased serum levels and promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2018 Apr 20;83:33-41.
 10. Toda H, Kawasaki K, Sato S, Horie M, Nakahara K, Bepari AK, Sawahata H, Suzuki T, Okado H, Takebayashi H, Hasegawa I. Locally induced neuronal synchrony precisely propagates to specific cortical areas without rhythm distortion. *Sci Rep*. 2018 May 16;8(1):7678.
 11. Miyakawa N, Majima K, Sawahata H, Kawasaki K, Matsuo T, Kotake N, Suzuki T, Kamitani Y, Hasegawa I. Heterogeneous Redistribution of Facial Subcategory Information Within and Outside the Face-Selective Domain in Primate Inferior Temporal Cortex. *Cereb Cortex*. 2018 Apr 1;28(4):1416-1431.

[学会発表](計9件)

1. <第115回日本精神神経学会 2019.6.20-22. 神戸> ○林剛丞, 江川純, 秋川諒太, 川崎圭祐, 長谷川功, 飯島淳彦, 染矢俊幸: マカクザルにおける心の理論の検討および内側前頭前野の不活性化によるその関連性について。
2. <第115回日本精神神経学会 2019.6.20-22. 神戸> ○江川純, 杉本篤言, 吉永清宏, 林剛丞, 染矢俊幸: 拡散テンソル画像を用いた脳機能結合と自閉スペクトラム症との関連解析。
3. <WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018.9.9. Kobe> ○Hoya S, Igeta H, Watanabe Y, Nunokawa A, Inoue E, Shibuya M, Egawa J, Someya T: Resequencing of the SETD1A gene in Japanese patients with schizophrenia.
4. <WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018.9.9. Kobe> ○Watanabe Y, Hoya S, Hishimoto A, Nunokawa A, Inoue E, Igeta H, Otsuka I, Shibuya M, Sora I, Someya T: Rare FBXO18 variations and risk of schizophrenia.
5. <WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018.9.9. Kobe> ○Igeta H, Watanabe Y, Hoya S, Ikeda M, Hishimoto A, Nunokawa A, Inoue E, Sora I, Iwata N, Someya T: Whole-exome sequencing in a consanguineous multiplex family with schizophrenia and a case-control study.
6. <WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018.9.9. Kobe> ○Okazaki S, Otsuka I, Watanabe Y, Numata S, Boku S, Shimmyo N, Ohmori T, Someya T, Sora I, Hishimoto A. Increased serum levels and promoter polymorphisms of macrophage migration inhibitory factor in schizophrenia.
7. <WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry 2018.9.7. Kobe> ○Sugimoto A, Suzuki Y, Yoshinaga K, Orime N, Hayashi T, Egawa J, Ono S, Sugai T, Someya T: Relationship between prefrontal cortex activity during task execution and ADHD symptoms of adult patients, and their changes by atomoxetine.
8. <第41回日本神経科学大会 2018.7.26. 神戸> ○Hayashi T, Kawasaki K, Akikawa R, Hasegawa I, Egawa J, Someya T, Iijima A: Anticipating of other's behavior on the basis of understanding other's false beliefs in rhesus monkeys (*Macaca fuscata*).
9. <The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 2018.7.5. Kyoto> ○Sugai T, Suzuki Y, Yamazaki M, Shimoda K, Mori T, Ozeki Y, Matsuda H, Sugawara N, Furukori N, Okamoto K, Sagae T, Someya T: Physical risks in Japanese patients with schizophrenia:

From a nationwide survey.

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：長谷川 功

ローマ字氏名：Isao Hasegawa

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系

職名：教授

研究者番号(8桁)：60282620

研究分担者氏名：飯島 淳彦

ローマ字氏名：Atsuhiko Iijima

所属研究機関名：新潟大学

部局名：自然科学系

職名：教授

研究者番号(8桁)：00377186

研究分担者氏名：川崎 圭祐

ローマ字氏名：Keisuke Kawasaki

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系

職名：准教授

研究者番号(8桁)：60511178

研究分担者氏名：江川 純

ローマ字氏名：Jun Egawa

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学総合研究科

職名：特任准教授

研究者番号(8桁)：80648527

研究分担者氏名：北村 秀明

ローマ字氏名：Hideaki Kitamura

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学総合研究科

職名：非常勤講師

研究者番号(8桁)：00361923

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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、研究者個人に帰属されます。