

助成番号 27-3-2

自閉スペクトラム症の社会行動異常に関連する神経回路の同定と、動物—ヒト共通の検査モジュールを用いた橋渡し研究による治療法・治療効果判定方法の開発

Icahn School of Medicine at Mount Sinai

Departments of Psychiatry, Neuroscience, and Ophthalmology

岡村 和哉

1. 諸言

自閉スペクトラム症 (ASD) は、限定的かつ反復的な行動や興味とともに、社会的相互作用やコミュニケーションの障害を特徴とする神経発達障害の一群である¹⁾。自閉症は、生涯を通じて身体的および精神的な健康問題に関連しており²⁾、遺伝的、環境的、免疫的な異常など様々な要因によって引き起こされうる。これにより、症状や発達過程、治療効果において多様性をもっており、診断や治療など臨床的な困難を伴う。とりわけ、社会性の異常は社会生活において大きな支障を引き起こすが、その神経基盤についてはいまだ十分には解明されていない。これまでの研究において、機能的イメージング研究により前頭前皮質 (PFC) が社会的認知や機能に直接関与していることが明らかになっており^{3,4)}、特に内側前頭前皮質 (mPFC) の障害は社会機能の喪失や感情学習の障害を引き起こすことが明らかにされている^{5,6)}。また、ヒトを用いた研究では、ASD に強く関連する遺伝子が胎児期に PFC の 5 層と 6 層 (L5/6) の投射ニューロンで収束的に発現し、機能イメージングにより社会的課題中における ASD 患者の mPFC の活性が異常に低下していることも明らかにされている⁷⁾。上記から mPFC は社会機能を制御する重要な役割を担っており、その神経回路異常は ASD の社会機能障害にも関連していると考えられる。しかしながら、複数の ASD リスク遺伝子に共通する具体的な回路異常は、いまだ十分に解明されていない。

近年、われわれは後部視床室傍核 (pPVT) が皮質下における mPFC L5/6 ニューロンの主要な投射部位であり、かつ、社会的相互作用によって特異的に活性化されることを示した⁸⁾。さらに、幼若社会的隔離 (jSI) マウスモデルでは、成体になって社会的な環境にさらされると、pPVT へ投射する mPFC (mPFC→pPVT) ニューロンが活性化せず、化学遺伝学的あるいは光遺伝学的に mPFC→pPVT ニューロンの投射を抑制すると、社会性の障害が直接引き起こされ、逆に mPFC→pPVT ニューロンを刺激すると、社会的隔離による社会性の障害が回復することを報告した¹⁰⁾。これらの結果は mPFC→pPVT ニューロンが社会機能

を調節する特異的な可能性をもつことを示唆するが、このニューロンの異常と ASD の社会性障害との関連性はいまだ明らかになっていない。

そこで本研究では、複数の ASD リスク遺伝子モデルマウスにおいても jSI と同様に同神経回路の異常をきたしており、かつ、これらの異常が社会性の障害に関連しているという仮説のもと、whole cell patch-clamp recording や光遺伝学を用いた神経活動の操作技術を駆使して上記を明らかにすることを目的とする。

2.方法

2.1 mPFC→pPVT ニューロンの電気生理学的機能の評価

複数の ASD モデルマウス (Fmr1-KO マウス、Tsc2-Ht マウス、Pten-Ht マウス) と WT マウスにおける、mPFC→pPVT ニューロンの電気生理学的機能の評価を行う。具体的には、成体マウスの pPVT にレトロビーズを注入した後に、whole cell patch-clamp recording を用いて、蛍光標識された mPFC→pPVT ニューロンの活動電位や興奮性・抑制性シナプス電流を評価する (図 1A)。

2.2 mPFC→pPVT ニューロンへ入力する抑制性シナプス電流の評価

光遺伝学を用いて mPFC の介入ニューロンを刺激し、mPFC→pPVT ニューロンへ入力する抑制性シナプス電流を測定する。具体的には、GAD-cre マウス、SST-cre マウス、PV-cre マウスに、Fmr1-KO マウスもしくは WT マウスをそれぞれ掛け合わせる。生後 7 週のマウスの mPFC に Cre 依存性の ChR2 を、pPVT に逆行性 AAV を注入して mPFC→pPVT ニューロンを GFP で標識させた後に、whole cell patch-clamp recording を用いて青色光にて刺激された抑制性シナプス電流を測定する (図 3A)。

3.結果

3.1 mPFC→pPVT ニューロンの電気生理学的機能の評価

Fmr1-KO マウス、Tsc2-Ht マウスにおいて、活動電位の頻度が WT よりも共通して低かった (図 1B、1C)。さらに Fmr1-KO においては、活動電位の閾値が WT より有意に高く、mPFC→pPVT ニューロンの興奮性は低下していることが明らかとなった (図 1D)。また、興奮性シナプス電流には ASD モデルマウスと WT マウスとの差は認めなかったが、抑制性シナプス電流においては、すべての ASD モデルマウス (Fmr1-KO マウス、Tsc2-Ht マウス、Pten-Ht マウス) において抑制性シナプス電流の頻度は増加しており (図 2A)、Pten-Ht マウスにおいてはさらに振幅も有意に増加していた (図 2B)。これにより、興奮性/抑制性バランスはすべての ASD モデルマウスにおいて WT マウスより有意に低下していることが明らかとなった (図 2A)。

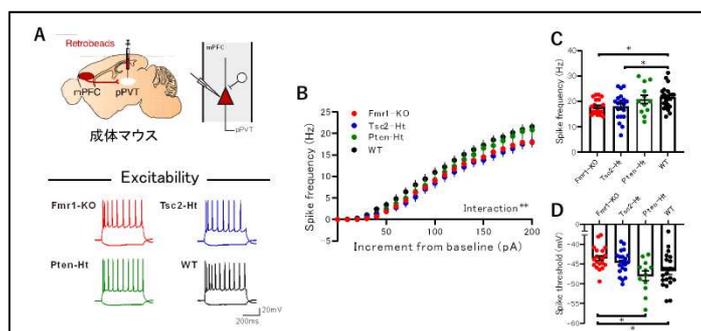


図1 複数の ASD モデルマウスにおける mPFC→pPVT ニューロンの電気生理学的特徴（興奮性）

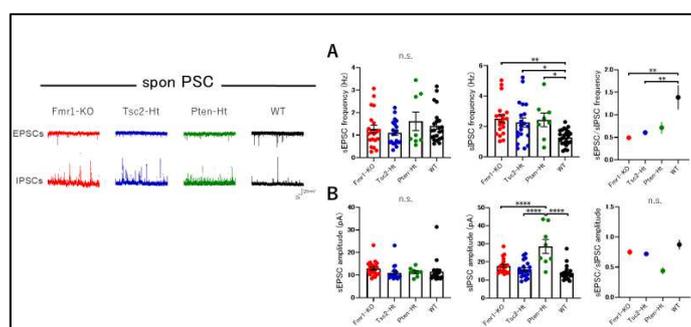


図2 複数の ASD モデルマウスにおける mPFC→pPVT ニューロンの電気生理学的特徴（抑制性／興奮性入力）

3.2 mPFC→pPVT ニューロンへ入力する抑制性シナプス電流の評価

青色光により GAD 陽性抑制性介在ニューロン、SST 陽性抑制性介在ニューロン、PV 陽性抑制性介在ニューロンを刺激して生じた、mPFC→pPVT ニューロンに入力する抑制性シナプス電流を計測した。その結果、GAD2 陽性ニューロンでは Fmr1-KO マウスで抑制性シナプス電流が増加傾向であり（図 3C）、SST 陽性ニューロンや PV 陽性ニューロンにおいても、有意に増加していた（図 3D、3E）。

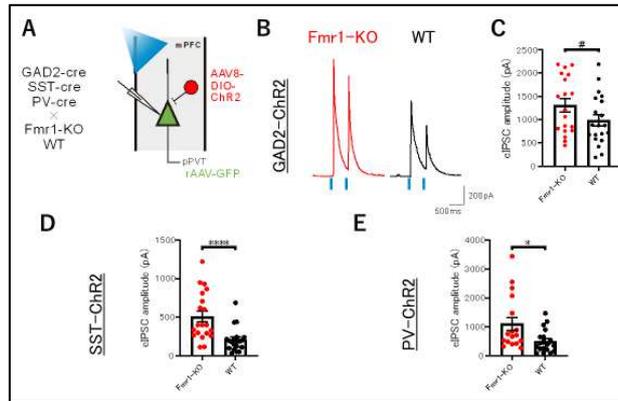


図3 mPFC→pPVT ニューロンへ入力する
抑制性介在ニューロン

4.考察

本研究において、複数の ASD モデルマウスの mPFC→pPVT ニューロンにおいて共通した電気生理学的変化（興奮性の低下、抑制性シナプス電流の増加）をきたしていることが明らかとなった（図 1、2）。これらの結果は、以前われわれが報告した jSI での変化に一致するものであった⁸⁾。さらにわれわれは、光遺伝学を用いて抑制性シナプス電流増加の原因の検索を行ったが、mPFC における主要な抑制性介在ニューロンすべてにおいてその機能が亢進していた（図 3）。これらにより、複数の ASD モデルマウスに共通して mPFC→pPVT 神経回路の脆弱性を有していることが示唆された。

今後は、発達に伴う mPFC→pPVT ニューロンの機能変化の観察や、社会行動中の神経活動の測定などを行っていく予定である。

5.結語

複数の ASD モデルマウスに共通して、mPFC→pPVT ニューロンの興奮性の低下、抑制性シナプス電流の増加をきたしており、mPFC 局所回路においても主要な抑制性介在ニューロンの機能の亢進を認めた。

6.文献

- 1) Faras, Hadeel et al. "Autism spectrum disorders." *Annals of Saudi medicine*. 2010;30(4):295-300.
- 2) "Autism Spectrum Disorder (ASD)." National Institute of Mental Health, U.S. Department of Health and Human Services, <https://www.nimh.nih.gov/health/statistics/autism-spectrum-disorder-asd>.
- 3) Baron-Cohen S, Ring H, Moriarty J, Schmitz B, Costa D, Ell P. Recognition of mental state terms. Clinical findings in children with autism and a functional neuroimaging study of normal adults. *Br J*

Psychiatry. 1994;165:640-649.

4) Castelli F, Frith C, Happé F, Frith U. Autism, Asperger syndrome and brain mechanisms for the attribution of mental states to animated shapes. *Brain*. 2002;125:1839-1849.

5) Bachevalier J, Mishkin M. Visual recognition impairment follows ventromedial but not dorsolateral prefrontal lesions in monkeys. *Behav Brain Res*. 1986;20:249-61.

6) Morgan MA, Romanski LM, LeDoux JE. Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett*. 1993;163:109-13.

7) Willsey AJ, Sanders SJ, Li M, Dong S, Tebbenkamp AT, Muhle RA et al. Coexpression networks implicate human midfetal deep cortical projection neurons in the pathogenesis of autism. *Cell*. 2013;155:997-1007.

8) Yamamuro K, et al. A prefrontal-paraventricular thalamus circuit requires juvenile social experience to regulate adult sociability in mice. *Nature neuroscience*. 2020;23(10):1240-1252.

7.成果発表

学会発表

・ Okamura K, Lidoski A, Stevens B, Yamamuro K, Leventhal M, Morishita H. Role of autism risk genes in frontal-thalamic projections underlying social processing in mice. Neuroscience 2022 SOCIETY for NEUROCIENCE, San Diego, USA.