

## バーチャル環境下の機能イメージングで解明する自閉症マウスの微小回路病態

佐藤正晃

埼玉大学大学院理工学研究科 脳末梢科学研究センター

### 【研究の背景】

精神・発達障害の背後に存在する神経回路機能の異常を理解するためには、行動中のモデル動物の回路活動を大規模かつ高解像度に計測することが不可欠である。我々はこれまで、学習行動中のマウスの海馬 CA1 野神経活動を可視化するために、蛍光カルシウムセンサータンパク質を発現するトランスジェニックマウス系統の作製、覚醒下のマウス深部脳カルシウムイメージング技術の確立、および頭部固定マウス用バーチャルリアリティシステムの構築などを行ってきた (Sato et al., 2015; Sato et al., 2017; Sato et al., 2018)。さらには、ヒトの自閉スペクトラム症 (ASD) で見られる変異を模倣した Shank2 欠損マウス (Berkel et al., 2010; Won et al., 2012) が、海馬依存的なバーチャル空間記憶の形成に障害を示すことを明らかにした (Sato et al., 2017)。Shank2 はグルタミン酸作動性シナプス後肥厚部のタンパク質複合体に含まれる足場タンパク質の一つである。Shank2 欠損マウスは、海馬の NMDA 型グルタミン酸受容体機能の低下とシナプス可塑性の異常、および社会行動や発声コミュニケーションの低下などの異常を示す (Won et al., 2012)。本研究は、このような特徴をもつ Shank2 に着目することで、シナプス機能の基本メカニズムに根ざした ASD の微小神経回路病態の理解を目指した。

### 【目 的】

本研究は、Shank2 欠損マウスが顕微鏡周囲に作り出されたバーチャルリアリティ環境下で空間学習するときの海馬神経回路活動を、単一細胞解像度の二光子カルシウムイメージングで可視化し、その微小な機能回路異常を同定することを目的とした。

### 【方 法】

Thy1-G-CaMP7 トランスジェニックマウスのホモ体と Shank2 ヘテロ欠損マウスの交配で得られる G-CaMP7 発現 Shank2 ヘテロ欠損マウスを、通常の Shank2 ヘテロ欠損マウスと交配し、海馬 CA1 錐体細胞に G-CaMP7 を発現した Shank2 ホモ欠損マウスを得た。マウスの頭蓋骨にステンレス製のヘッドプレートに歯科用セメントで接着し、底部にカバースリップを接着したステンレス製リングからなる海馬イメージング用のウインドウを脳に埋め込んだ。実験では、二光子レーザー顕微鏡下のフレームにヘッドプレートを介して頭部固定したマウスを、報酬と視覚的手がかりが別々の場所に提示されたバーチャル直線路課題で訓練した (Sato et al., bioRxiv, 2018)。この課題を遂行中の Shank2 欠損マウスの海馬 CA1 野の神経回路活動を、二光子レーザー顕微鏡を用いたカルシウムイメージングで画像化した。得られた画像データを解析ソフトウェアで処理し、細胞形態と活動時系列の抽出を行った。以後のデータ解析は、直線路の各場所で活動する「場所細胞」の割合などに注目して行った。

### 【結 果】

Shank2 欠損マウスは、バーチャル直線路を走った時間の割合と得た報酬の回数、およびイメージングされた全細胞数に対する場所細胞の割合が正常マウスに比べ高かった。一般に、ある環境内の個々の場所をコードする場所細胞の割合は、

報酬や視覚的手がかりなどの行動上重要な特徴の存在する場所で増加することが知られている。正常マウスでは、訓練が進むに従い視覚的手がかりの場所をコードする場所細胞の割合が次第に増加したが、Shank2 欠損マウスではこの増加が起らなかった。また正常マウスでは、報酬場所をコードする場所細胞の割合が訓練初期から増加したが、Shank2 欠損マウスでは、それらの場所細胞の割合が、正常マウスよりもさらに増加していた。

## 【考 察】

Shank2 欠損マウスの海馬の場所細胞地図では、視覚的手がかりの場所表現が障害されていた一方で、報酬場所の表現はむしろ亢進していたことから、これらの 2 つの情報の海馬における表現は、単一のメカニズムで起こるのではなく、異なる Shank2 依存性をもつ別々の分子メカニズムによって起こることが考えられる。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

ヒトの ASD の原因と症状には幅広い多様性が認められる。ASD 患者のナビゲーション行動の研究の報告はまだ少ないが、本研究の成果は、ASD の一部の症例では、海馬における外界の特徴の情報表現に異常が生じている可能性を示唆する。

## 【参考・引用文献】

Berkel, S., Marshall, C.R., Weiss, B., Howe, J., Roeth, R., Moog, U., Endris, V., Roberts, W., Szatmari, P., Pinto, D., Bonin, M., Riess, A., Engels, H., Sprengel, R., Scherer, S.W., Rappold, G.A.

Mutations in the SHANK2 synaptic scaffolding gene in autism spectrum disorder and mental retardation.  
*Nat. Genet.* 42, 489-491, 2010

Sato, M\*, Kawano, M., Ohkura, M., Gengyo-Ando, K., Nakai, J. Hayashi, Y. (\*corresponding author)  
Generation and imaging of transgenic mice that express G-CaMP7 under a tetracycline response element  
*PLOS ONE*, 10(5), e0125354, 2015

Sato, M\*, Kawano, M, Mizuta, K., Islam, T., Lee, M. G., Hayashi, Y. (\*corresponding author)  
Hippocampus-dependent goal localization by head-fixed mice in virtual reality  
*eNeuro*, 4 (3) e0369-16.2017, 2017

Sato, M\*, Mizuta, K., Islam, T., Kawano, M., Takekawa, T., Gomez-Dominguez, D., Kim, K., Yamakawa, H., Ohkura, M., Fukai, T., Nakai, J., Hayashi, Y\*. (\*corresponding authors)  
Dynamic embedding of salience coding in hippocampal spatial maps  
*bioRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/266767>, 2018

Won, H., Lee, H.R., Gee, H.Y., Mah, W., Kim, J.I., Lee, J., Ha, S., Chung, C., Jung, E.S., Cho, Y.S., Park, S.G., Lee, J.S., Lee, K., Kim, D., Bae, Y.C., Kaang, B.K., Lee, M.G., Kim, E.  
Autistic-like social behaviour in Shank2-mutant mice improved by restoring NMDA receptor function.  
*Nature* 486, 261-265, 2012