

自閉的行動基盤を形成する神経回路形成・再編成機構の解明

佐々木哲也

国立大学法人 筑波大学 医学医療系 解剖学・神経科学研究室

【研究の背景】

ヒトの脳皮質では、出生直後から興奮性シナプスが急速に増え、児童期に最大値に達した後減少する(オーバーシュート型シナプス形成)。シナプスの「刈り込み」は、機能的な神経回路を作り上げるために不可欠な過程とされるが、どのような仕組みで起こるかはわかっていない。このシナプス形成異常が、様々な精神疾患に関与していることが明らかになりつつある。例えば、自閉症スペクトラム障害者の脳では刈り込みが少ないため、過剰なシナプスが維持されていると考えられている。

本研究は、自閉症様行動を示す霊長類(胎生期バルプロ酸曝露マーマモセット)を用いて、ヒト自閉症患者に見られる「オーバーシュート型」のシナプス形成の異常とその基盤となる分子メカニズムを明らかにしようと試みるものである。

【目 的】

本研究では、自閉症病態モデル霊長類を用いて、脳皮質のシナプス刈り込みの異常とその分子基盤を解明することを目的とする。胎生期バルプロ酸曝露マーマモセットの樹状突起スパイン数と遺伝子発現の発達変化を経時的に調査し、定型発達マーマモセットの発達プロファイルと比較する。この研究により、霊長類特異的な神経回路再編成の異常によって引き起こされると考えられる自閉症の生物学的基盤を明らかにする。

【方 法】

本研究にはコモンマーマモセットを用いた。Valproic Acid (VPA)に曝露することにより、自閉症様モデル霊長類(VPA マーマモセット)を作出した。行動学的解析から、他個体への興味が少ない、特定の鳴き声が増加しているなどの DSM-5 を満たす自閉症様症状を示すことが明らかになっている。本研究では、VPA マーマモセットの脳皮質領野(area12, V1)の第3層錐体細胞のスパイン密度の発達変化を調査し、この病態モデルのシナプス刈り込みに不全が見られるか検証した。また VPA マーマモセットの発達過程の網羅的な遺伝子発現解析を行った。

【結 果】

申請者はこれまでに、定型発達マーマモセットの脳皮質3領野の樹状突起の発達を調査し、どの領野でも生後90日齢でスパイン数が最大となり、成体にかけて減少するオーバーシュート型シナプス形成が見られることを明らかにした(Oga, Sasaki et al., 2013)。刈り込みを制御する候補分子として軸索誘導因子、ミクログリア関連分子などを見出した(Sasaki et al., 2014a,b)。

VPA マーマモセットと定型発達個体の発達期脳皮質の遺伝子発現解析を比較・解析を行った。VPA群では、新生仔で長距離神経結合形成に重要な分子の発現低下が認められた。また生後60日齢においてタンパク合成に関与する分子群の発現が上昇、オートファジーシグナリング経路に含まれる分子群の発現変動が顕著であることを見出した。生後60-180日齢で興奮性シナプスのマーカー遺伝子の発現量が上昇しており、この病態モデルでシナプス数が異常に増加していることが推

定された。代謝型グルタミン酸受容体関連分子の発現変化も観察され、シナプス特性に異常が生じている可能性がある。

VPA マーモセットの腹側前頭前皮質(12野)と一次視覚野(V1)の第3層錐体細胞に蛍光色素を注入して基底樹状突起全体を可視化し、スパインの密度・総数が実際に増加しているのか調査を行った。VPA マーモセットは、定型発達個体と比較して大きな樹状突起展開面積を持ち、どの発達段階においても長い樹状突起をもっていることがわかった。また、定型発達個体と比較して、VPA マーモセットのスパイン密度は生後2ヶ月齢以降上昇していることが観察された。定型発達個体では、生後90日齢から成体にかけて約50%スパイン密度が低下する「刈り込み」が起こるのに対して、VPA マーモセットでは2-30%の低下となり、この霊長類モデルでASD患者のシナプス刈り込み不全を再現できていることが分かった。スクリーニングされた遺伝子3個(遺伝子A, B, C)のオーソログのsiRNAをマウス大脳皮質II/III層の錐体細胞に導入した結果、遺伝子Aにおいて尖上樹状突起の分岐過剰、基底樹状突起の顕著な退縮とスパイン低形成が認められた。霊長類の嗅内皮質と海馬体において遺伝子Bの特徴的な発現パターンを発見した。薬剤曝露群で発現上昇する自閉症関連遺伝子Cが樹状突起スパインに局在することが明らかになり、解析を続けている。母体免疫活性化精神疾患モデル動物において、サイトカイン類が上昇していることを見出している。マウス脳室内にサイトカインの組換えタンパクを直接投与し、ニューロン・グリア発生過程への影響を検討した。胚性後期でミクログリアは食食能が上昇しており、帯状回皮質脳室面に局在していた。

【考 察】

本モデル動物は、自閉症脳の解剖学的特徴を反映すること、これを形成する遺伝子発現に変化が起きていることが示されつつあり、今後新たな自閉症病態モデル動物として治療法の開発に貢献することが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

「オーバーシュート型」のシナプス発達の素過程とその異常に関する回路・分子レベルの知見は、自閉症のみならず、多くの精神疾患の原因理解と治療に新たな展開をもたらすことができると期待される。

【参考・引用文献】

- 1) Sasaki T. Postnatal development of dendritic structure of layer III pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex of marmoset. *Brain Struct and Func.* 220(6): 3245-58. 2015.
- 2) Sasaki T. Developmental expression profiles of axon guidance signaling and the immune system in the marmoset cortex: Potential molecular mechanisms of pruning of dendritic spines during primate synapse formation in late infancy and prepuberty (I). *Biochem Biophys Res Commun.* 444(3): 302-306. 2014.
- 3) Sasaki T. Developmental genetic profiles of glutamate receptor system, neuromodulator system, protector of normal tissue and mitochondria, and reelin in marmoset cortex: potential molecular mechanisms of pruning phase of spines in primate synaptic formation process during the end of infancy and prepuberty (II). *Biochem Biophys Res Commun.* 444(3): 307-310. 2014.
- 4) Sasaki T* Effects of ROR γ t overexpression on the murine central nervous system. *Neuropsychopharma Rep.* 2021. 41(1): 102-110.
- 5) Sasaki T* Expression patterns of *SLIT/ROBO* mRNAs reveal a characteristic feature in the entorhinal-hippocampal area of macaque monkeys.” *BMC Res Notes.* 262(13): 1-6. 2020.
- 6) Sasaki T*. Constitutive increase of IL-17A in serum affects microglial activity in the hippocampal dentate gyrus.” *Japanese Journal of Biological Psychiatry.* 2021. 32(2) 154-160.