

研究終了報告書

「自閉症の病態解明を目指した樹状突起スパインの光操作」

研究期間：2018年4月～2021年3月（コロナ延長支援：2021年9月まで継続）

研究者：奥山 輝大

1. 研究のねらい

自閉症が先天的な発達障害である点より、大規模遺伝子スクリーニングが精力的に行われ、Shank ファミリーなど数多くの原因遺伝子が同定された。それらの遺伝子の大半は、樹状突起スパイン（以下、スパインと表記）やシナプス形成に関与する、脳に広範に発現している分子をコードしていた。スパインは樹状突起にある棘状構造で、その構造上に興奮性シナプスが形成される点より、情報処理を行うための物理的な「足場」だと考えられている。以上の点より、自閉症病態の原因は、特定のスパインの形成異常の結果、適切な社会性行動を発現するための情報処理が行えなくなったことに起因すると推測されるが、「どの脳領域のスパイン形成異常が、どのようにして自閉症という病態を引き起こすのか」という本質的な問いは未だ解けていない。本研究では、自閉症の病態解明を目指して、病態原因となる脳領域・ニューロンを同定し、光操作手法を駆使することにより、自閉症の新規治療法の開発を試みる。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究課題では、社会性行動の異常を示す自閉症スペクトラム障害の病態解明を目指し、他者についての記憶（社会性記憶）とその他者に対して親和的行動を司る、海馬の腹側 CA1 (vCA1) ニューロンの詳細な機能解析を行った。その第一段階として、自閉症モデルマウスである Shank3 遺伝子変異マウス (Shank3-KO) を用いて社会性行動アッセイを行い、今後の解析のための標的ニューロンの絞り込みを行った。その結果、vCA1 領域には投射経路・遺伝子発現の観点から多様なニューロン集団が混じり合っているが、その中の一部のニューロン集団が自閉症スペクトラム病態に強く関与していることが示唆された。また、私たちは、これまでの研究により、海馬 vCA1 ニューロンが、ニューロン集団の組み合わせで社会性記憶を表象していることを明らかにしてきたが、自閉症スペクトラムモデルである Shank3-KO マウスにおいてその社会性記憶の表象に変化が生じていることを見出した。

(2) 詳細

- ・ 研究テーマ A: スパインが保持する情報を検証するため、複数の刺激に対する「活性化スパイン集団」をそれぞれ区別して可視化する「光による観察技術」を開発
- ・ 研究テーマ B: スパイン機能の十分性を検証するため、「Pre 活性化スパイン」を「活性化スパイン」へと誘導する「光による操作技術」を開発

社会性記憶を担う海馬腹側 CA1 ニューロンでは、活性化スパインを標識する実験技術が、当初予定した通りにワークさせることができないという課題に直面した。活性化スパインのみの標識を行うための発現量のレンジが予想以上に狭く、アデノ随伴ウイルスを用いた場合、

活性化スパインだけでなく細胞全体が標識されるなどのテクニカルな問題を解決できなかった。

- ・ 研究テーマ C:オキシトシン受容体の vCA1 領域特異的なコンディショナルノックアウトマウス(OxtR-vCA1-cKO)の機能解析

オキシトシンは、自閉症の薬理的アプローチとして近年強く注目が集まっている脳内ペプチドである。その受容体が、vCA1 ニューロンに強く発現している一方、社会性行動・社会性記憶における機能は未知であった。そこで、OxtRflox/flox マウス系統と、多様なCre発現系統の掛け合わせ、或いは、Cre 発現ウイルスの顕微注入などを組み合わせ、OxtR-vCA1-cKO マウスを作成した。この cKO マウスは、新規マウスと既知マウスの区別ができないだけでなく(Social recognition の異常)、既知マウス A と既知マウス B の区別ができない(Social specification の異常)という、新しいタイプの社会性記憶の異常を示すことを見出した。現在、本成果は論文投稿準備中である。

3. 今後の展開

現在、自閉症モデルマウスである Shank3-KO 系統における vCA1 ニューロンの異常を、光遺伝学・神経生理学によって、検証している。本研究の成果と合わせて、来年度中に論文発表を行う。

4. 自己評価

当初予定していた方向性とは全く異なる研究になったが、本研究課題遂行の中で発見した成果を足場に、予想以上に研究が進展した。コロナ禍で研究期間中に予想外の出来事が立て続けに起きた中で、なんとか一定の研究成果を上げられたことに安心している。2017 年のアメリカ留学中に本事業に採択していただき、帰国後、自身の主宰研究室の立ち上げの開始と同時に、このさきがけ研究期間が始まった。2 年目・3 年目は立ち上げに忙殺された日々であったが、本予算がなければ到底立ち上げも円滑に進められるものではなかった。ここから、光操作領域と七田総括、アドバイザーの先生方、JST 事務の皆様、領域研究者の皆様に感謝申し上げたい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数:5件

1. Akiyuki Watarai, Kentaro Tao, Mu-Yun Wang, Teruhiro Okuyama. Distinct functions of ventral CA1 and dorsal CA2 in social memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 68:29-35 (2021)

社会性記憶に寄与する海馬の 2 領域である腹側 CA1 領域と背側 CA2 領域について、社会性記憶の形成・定着・想起について機能差をまとめた総説論文。Okuyama et al., *Science* 2016 の内容を中心に、近年の腹側 CA1 ニューロン機能についての知見を幅広く紹介した。

2. Myung Chung, Mu-Yun Wang, Ziyang Huang, Teruhiro Okuyama. Diverse sensory cues for

individual recognition. *Development, growth & differentiation*, 62(9) 507–515 (2020)

社会性記憶形成に寄与する感覚認識についてまとめた総説論文。主に、齧歯類では嗅覚系による匂い刺激とフェロモン信号によって、霊長類では視覚系による顔認識によって、個体を区別・記憶しており、それらの知見を俯瞰的にまとめた。

3. Akiyuki Watarai, Satoko Tsutaki, Katsuhiko Nishimori, Teruhiro Okuyama, Kazutaka Mogi, Takefumi Kikusui. The blockade of oxytocin receptors in the paraventricular thalamus reduces maternal crouching behavior over pups in lactating mice. *Neuroscience letters*, 720 134761–134761 (2020)

オキシトシンシステムが母性行動に寄与することを示した共著原著論文。データ解析と論文執筆に貢献した。室傍核(PVT)におけるオキシトシン受容体を薬理的に阻害することによる、母性行動への影響を行動学的に評価した。

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0 件(特許公開前のももの含む)

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. Neural mechanisms underlying positive and negative valence of social memory
第 41 回 日本神経科学学会(日本、神戸) 2018/7/26
2. Social memory engram in the hippocampus
第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合大会(FAOPS)(日本、神戸) 2019/3/31
3. Social memory representation in the hippocampus.
Cold Spring Harbor Asia, Francis Crick Symposium(中国、上海) 2019/4/15
4. 海馬における社会性記憶の表象メカニズム
第 43 回 日本神経科学大会(オンライン) 2020/7/30
5. 平成 31 年度文部科学大臣表彰 若手科学者賞
社会性記憶とその行動発現を司る神経メカニズムの研究 2019/4/10