

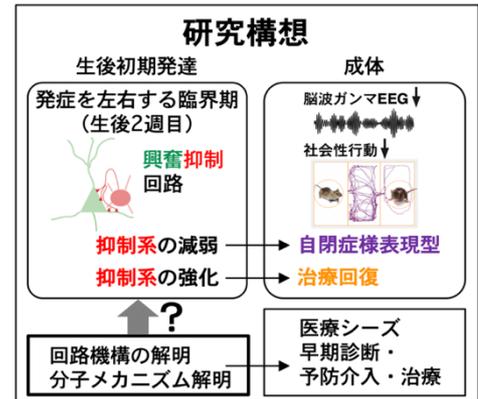
自閉スペクトラム症解明と画期的治療法の開発

群馬大学大学院医学系研究科 遺伝発達行動学講座

三好 悟一

研究コンセプト

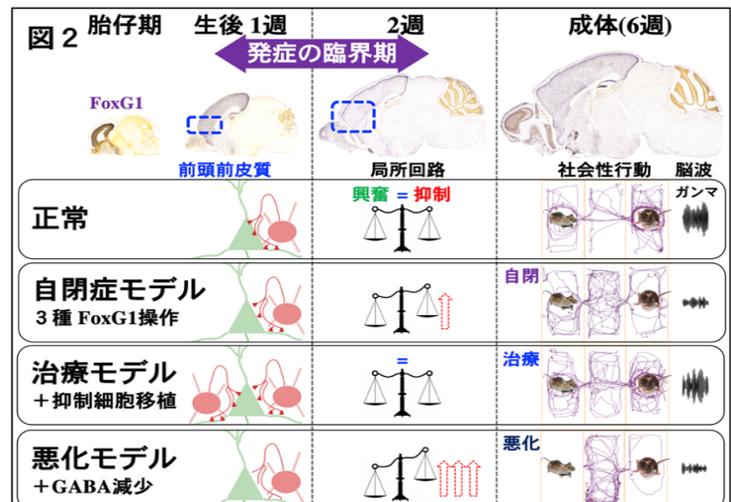
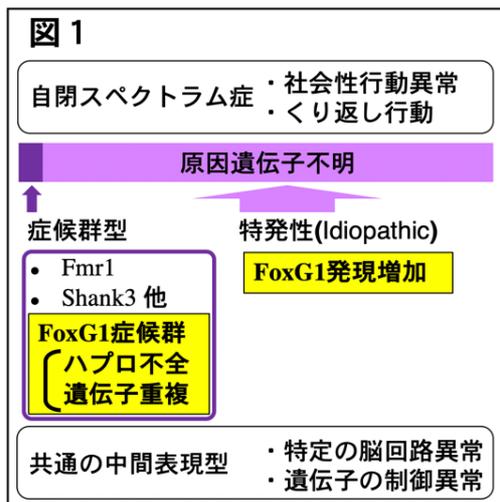
わたしたちのグループでは自閉スペクトラム症動物モデルを新規に樹立し、発症の引き金となる重要な臨界期および抑制回路機構を同定した。さらには、臨界期に未分化抑制細胞の移植を実施した治療モデルをも確立している (Miyoshi et al., 2021 *Nature Comm*)。本研究においては疾患・治療の両モデルで鍵となる分子・回路機構を同定し、治療モデルの回復現象を模倣する新たな治療メカニズムおよび分子マーカーの提案を目指す研究を展開した。



研究の目的

自閉スペクトラム症は20-50人に1人の小児に発症するといわれており、発症メカニズムの解明は早期診断、予防や療育を見据えた上でも社会的に急務である。自閉スペクトラム症のほとんどは特発性であり、遺伝と環境リスク両要因の複雑な相互作用により発症する (図1、紫四角)。ところがこれまで、発症を左右する発達期や回路機構は明らかにされていなかった。

申請者は自閉スペクトラムの発症を司る臨界期が、小児期に形成されることを2021年に報告した。自閉症モデルマウスを樹立し、生後2週目の臨界期にみられる抑制回路の発達が、成体での社会性や脳波の形成に必須であることを解明した (図2)。実際、疾患モデル動物では、生後2週目発症臨界期の直前に介入操作を実施し抑制系を強化すると、回路機構や社会性行動が正常化し治療回復することを明らかにした。発症臨界期以降の抑制系への介入では効果がないこと、また逆に臨界期に抑制系を弱めると症状のさらなる悪化が起きることも見



出した。本申請の目的は、独自に開発した自閉症モデルと治療モデルで明らかになった発症と治療を促す臨界期分子・回路機構に着目することで、発症および治療の根源的分子メカニズムに迫ることである。

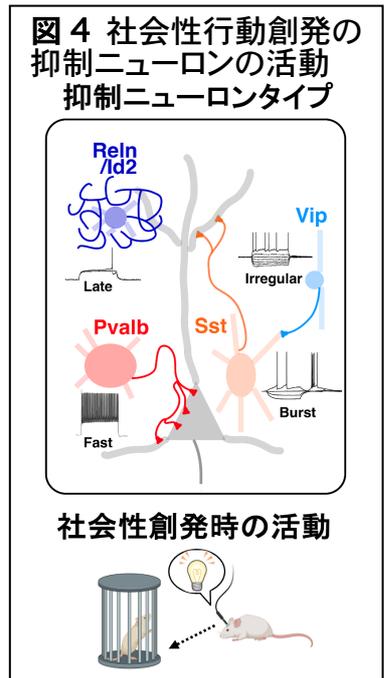
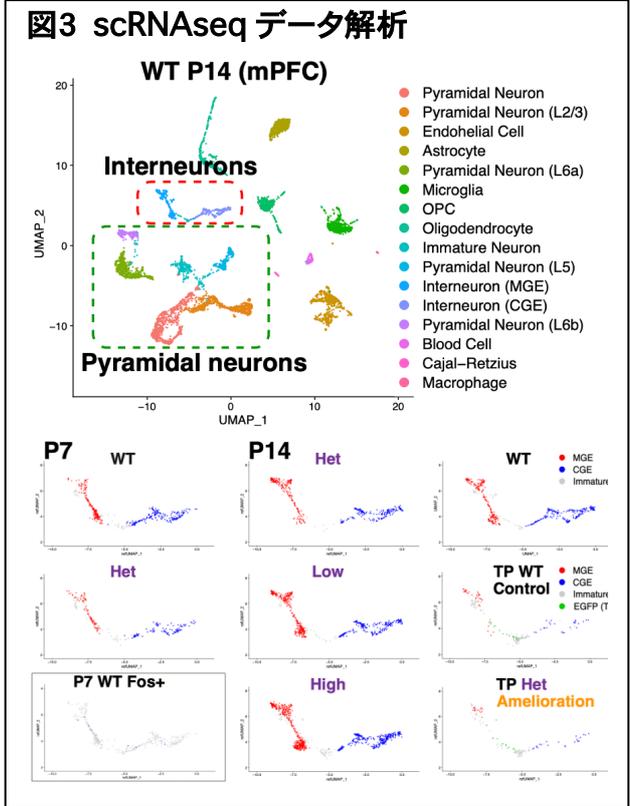
自閉スペクトラム発症の臨界期を司る抑制ニューロン分子制御機構の解明

生後2週の正常マウスと3種類の自閉症モデルマウス(FoxG1ヘテロ、皮質ニューロンのみでFoxG1ヘテロ、皮質ニューロンのみでFoxG1増加)、さらに治療モデル(FoxG1ヘテロ+生後1週未分化抑制ニューロン移植)とそのコントロール(正常+細胞移植)、臨界期開始の生後1週における正常とFoxG1ヘテロマウスの遺伝子発現を細胞タイプごとに網羅的に解析した(図3)。具体的には、各モデルの前頭前皮質を単一細胞化、10xGenomicsシステムで細胞ごとのmRNAを個別バーコードラベルし、次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現プロファイリングを実施した。各モデルの約1万5千細胞ずつのデータから細胞タイプごとのクラスタリングを完了し(図3上は正常の例)、細胞タイプごとの遺伝子発現比較を実施した。

抑制ニューロンのクラスター(interneurons)に着目し、臨界期開始(P7)と臨界期終了(P14)における比較を実施した。抑制ニューロンの中でも(図4、右下にサブタイプの例)腹側MGE由来でPvalbとSstサブタイプを含むものを赤、CGE由来でRelnとVipタイプを含むものを青で表記している(図3下)。治療モデル(TP Het)及びコントロールでは(TP WT)、移植されたEGFPラベルされた細胞群を同定し、緑で示している。神経活動のマーカーFos分子に陽性の抑制ニューロンを解析することで(図3左下)、ASDモデル(FoxG1 Het)ではFos陽性数が減少していたことから、興奮抑制バランスの方向性(図2、E/I)と合致することも確認した。結果、正常や治療モデルと比較して、3種類の自閉症モデルの抑制ニューロンで共通した変化をみせる分子パスウェイを同定することに成功した。

治療モデルで回復を促進する回路機構の解明

大脳皮質の抑制ニューロンには多様なサブタイプが存在する(図4上、Miyoshi G., 2019)。発火様式が異なり、Pvalb陽性ニューロンは連続して早い発火が可能であり、Relnは遅れて発火する(図4上、FastとLate)。回路における局所抑制部位が異なり、Pvalb陽性ニューロンは主に細胞体付近、Sstは先端樹状突起、Vipは抑制ニューロンを抑制する。抑制ニューロンのサブタイプに特異的なCreマウスの前頭前皮質領域にAAVウイルスベクターを用いてカルシウムセンサーGCaMP8sを導入し、他者マウスとマウス無しの選択となる行動アッセイとカルシウムシグナルの同時計測を実施した。DORIC社のシステムを用い、青色励起カルシウムシグナル記録と、UV励起による等吸収点波長記録による標準化を実施した。わたしたちは、成体マウス抑制ニューロンの各サブタイプは社会性行動の異なる位相で活動することを新たに解明した。



今後の展望

今後、本申請で得られた小児期に自閉スペクトラム発症を制御する分子・回路メカニズムの知見をもとに、小児期発症メカニズムの統合的な理解が進むことが期待される。将来的には、エビデンスに基づいた早期診断や療育への貢献、さらには予防介入・治療技術の高度化による先制医療の実現へとつながることが期待される。すなわち、本研究の知見をもとに、将来的には自閉スペクトラム症の新たな診断、予防、医療技術シーズの創出が期待される。

成果物

以下、全ての論文で、公益財団法人アステラス病態代謝研究会様を謝辞記載させていただきました。

* 責任著者

Asano, H., Arai, M., Narita, A., Kuroiwa, T., Fukuchi, M., Yoshimoto, Y., Oya, S., and **Miyoshi, G.*** (2025)
Developmental Regression of Novel Space Preference in an Autism Spectrum Disorder Model is Unlinked to GABAergic and Social Circuitry. *Frontiers in Cellular Neuroscience*
Jan 15:18:1513347. doi: 10.3389/fncel.2024.1513347.

Narita, A., Asano, H., Kudo, H., Miyata, S., Shutoh, F., and **Miyoshi, G.*** (2024)
A novel quadrant spatial assay reveals environmental preference in mouse spontaneous and parental behaviors. *Neuroscience Research* S0168-0102, 24

Miyoshi, G.*, Ueta, Y., Yagasaki, Y., Kishi, Y., Fishell, G., Machold, R., and Miyata, M. (2024).
Developmental trajectories of GABAergic cortical interneurons are sequentially modulated by dynamic *FoxG1* expression levels. *PNAS* vol.121, No. 16, e2317783121