

## 52. 自閉スペクトラム症動物モデルにおける発症臨界期メカニズムの解明

群馬大学大学院医学系研究科遺伝発達行動学講座 教授 三好 悟一

### 概要

自閉スペクトラム症（自閉症）の特性は、約 50 人に 1 人という高い頻度で幼児にみられる。数多くの動物モデルが作製され行動様式や回路機構など自閉症特性の解析が進む一方で、発症に至るメカニズムはほとんど解明されていない。近年、新たに自閉症モデル群を確立し、生後幼児期の抑制回路へ介入することで自閉症特性のさらなる悪化、また逆に治療回復も可能であることを報告した。その過程で、生後 2 週目の 1 週間が発症の臨界期にあたることを明らかにした。本研究では、発症の臨界期においては機能回路の形成を特定のニューロン群が主導するという仮説を検証した。

### 背景および目的

本研究の目的は、自閉スペクトラム発症の臨界期に発達を主導するニューロン群に着目することで、発症を制御する回路メカニズムを解明することにある。

自閉スペクトラム症（自閉症）は約 20-50 人に 1 人という高い頻度で知られるものの、発症に至るメカニズムはほとんど明らかにされていない。その理由の一つとして、着目すべき発達時期や脳回路機構が明らかにされていないことが挙げられる。代表研究者は自閉スペクトラム症モデル動物を構築するにあたり、中間表現型（エンドフェノタイプ）および原因遺伝子の両方の次元で深く関与する FOXP1 因子に着目をした。特発性自閉スペクトラム症患者より調製された iPS 細胞を培養し、脳オルガノイドを形成すると FOXP1 の発現増加が一様に認められる (Ariani et al., 2015 Cell)。患者ゲノムの 3 次元構造解析からも、発達期における FOXP1 制御異常が報告されている (Won et al., 2016 Nature)。ヒト FOXP1 遺伝子自身の変異ではハプロ不全および遺伝子重複、つまり遺伝子コピー数の減・増いずれのケースも希少疾患である自閉症 FOXP1 症候群を発症する (FOXP1research.org)。

代表研究者のグループでは FOXP1 因子に着目することで、独自に自閉スペクトラム症モデル群を樹立し、自閉症特性の悪化や治療を抑制回路への介入により実験的に再現することで、「発症の臨界期」という学術的独自性の高い概念を確立した (Miyoshi et al., 2021 Nature Comm)。自ら樹立した自閉症モデル動物 3 種および治療モデル、さらには生後 1-2 週が発症および治療の臨界期であるというオリジナルの知見を基に、独自の研究領域の開拓を試みる。

生後 1-2 週は、発生期につくられたニューロンの移動が終了し、軸索の延長とシナプスの形成、余剰なシナプスの削減、さらには回路に組み込まれないニューロン自身の消失などの活発なイベントが連続的に起きる。生後発達期にいかに関路が形成され成熟することで個体が様々な機能を獲得していくのかを理解することは、脳科学研究の基盤的な重要課題である。本研究を通して個体機能獲得における回路発達の普遍的理解、自閉スペクトラム症の発症メカニズムの理解が進むことによって、医学生物学分野への幅広い波及効果が期待される。

## 方法

FoxG1 遺伝子の全身ヘテロマウスに自閉症様の社会性行動異常が現れることを解明した (Miyoshi et al., 2021)。FoxG1 遺伝子をニューロタイプ特異的にヘテロとするモデルでは、全ての興奮ニューロン、もしくは抑制ニューロンだけで FoxG1 ヘテロとしても自閉症特性は現れず、興奮・抑制両者で同時にヘテロの場合にのみ、全身ヘテロマウスと同等の表現型が現れた。つまり、発症の臨界期に正常な FoxG1 レベルが必要なのは、1) 大脳のニューロン全て、もしくは2) 興奮・抑制の両者を含む特定のニューロン群であることが示唆された。

そこで、2) のニューロン群はこれまでの研究で同定した発症の臨界期に神経活動が盛んなニューロンではないか? という仮説を立てた。神経活動が活発なニューロン群を標識し、また介入操作するためには、記憶エンGRAM細胞ラベルに用いられる、神経活動依存的にリガンド誘導性 Cre を発現する TRAP2 マウス (Fos::2A::CreER, DeNardo et al., 2019 Nature Neurosci) にコンディショナル FoxG1 ヘテロマウス (Miyoshi and Fishell, 2012 Neuron) を組み合わせた。リガンド (タモキシフェン) 投与後の 24 時間に Cre 依存的な組み換えが生じ、生後 7 から 8 日目の期間に「自発的」神経活動をみせるニューロン群だけで FoxG1 ヘテロとなる。

## 結果および考察

TRAP2 マウスとコンディショナル FoxG1 ヘテロマウスを組み合わせ、臨界期の直前である生後 1 週に活発なニューロン群で FoxG1 ヘテロとしたところ、有意な社会性の低下が確認された (未発表データ)。次に、生後 1 週に加えて生後 2 週での神経活動タグ付け FoxG1 ヘテロ化の実験を実施したところ、この時期においても自閉症特性が現れることを明らかにした。さらに、生後 3 週で同様の実験を実施したところ、社会性に顕著な変化は見られなかった。以上から、同定した生後 2 週目の発症臨界期において、神経活動が活発なニューロン群では FoxG1 因子が重要であることを明らかにした。

すなわち、発症の臨界期には回路全体の発達を主導する、活発な興奮・抑制コアネットワークが存在することが考えられた。今後は、生後 2 週目に神経活動が活発なニューロン群がどのような機構により回路発達を促進するのかを解明することが期待される。

## 謝辞

研究室の立ち上げという重要な時期に、三菱財団様よりご支援を賜りましたこと、心より深く感謝申し上げます。おかげさまで、この期間中に研究室から 3 報の論文を発表することができ、謝辞においても感謝の意を表させていただきました。

(完)

## 発表論文

- 1) Asano, H., Arai, M., Narita, A., Kuroiwa, T., Fukuchi, M., Yoshimoto, Y., Oya, S., and Miyoshi, G.\*  
Developmental Regression of Novel Space Preference in an Autism Spectrum Disorder Model is Unlinked to GABAergic and Social Circuitry. *Frontiers in Cellular Neuroscience*  
DOI 10.3389/fncel.2024.1513347 (2025)
- 2) Narita, A., Asano, H., Kudo, H., Miyata, S., Shutoh, F., and Miyoshi, G.\*  
A novel quadrant spatial assay reveals environmental preference in mouse spontaneous and parental behaviors. *Neuroscience Research* S0168-0102, 24 (2024)
- 3) Miyoshi, G.\*, Ueta, Y., Yagasaki, Y., Kishi, Y., Fishell, G., Machold, R., and Miyata, M.  
Developmental trajectories of GABAergic cortical interneurons are sequentially modulated by dynamic FoxG1 expression levels. *PNAS* vol.121, No. 16, e2317783121 (2024)

## 引用文献

- 1) Miyoshi, G., Ueta, Y., Natsubori, A., Hiraga, K., Osaki, H., Yagasaki, Y., Kishi, Y., Yanagawa, Y., Fishell, G., Machold, R., and Miyata, M. (2021).  
FoxG1 regulates the formation of cortical GABAergic circuit during an early postnatal critical period for autism spectrum disorder-like phenotypes. *Nature communications* 12, 3773.
- 2) DeNardo LA, Liu CD, Allen WE, Adams EL, Friedmann D, Fu L, Guenther CJ, Tessier-Lavigne M, Luo L. (2019)  
Temporal evolution of cortical ensembles promoting remote memory retrieval. *Nat Neurosci.* 2019 Mar;22(3):460-469.
- 3) Won H, de la Torre-Ubieta L, Stein JL, Parikhshak NN, Huang J, Opland CK, Gandal MJ, Sutton GJ, Hormozdiari F, Lu D, Lee C, Eskin E, Voineagu I, Ernst J, Geschwind DH. (2016)  
Chromosome conformation elucidates regulatory relationships in developing human brain. *Nature.* 2016 Oct 27;538(7626):523-527.
- 4) Mariani J, Coppola G, Zhang P, Abyzov A, Provini L, Tomasini L, Amenduni M, Szekely A, Palejev D, Wilson M, Gerstein M, Grigorenko EL, Chawarska K, Pelphrey KA, Howe JR, Vaccarino FM. (2015)  
FOXG1-Dependent Dysregulation of GABA/Glutamate Neuron Differentiation in Autism Spectrum Disorders. *Cell.* 2015 Jul 16;162(2):375-390.
- 5) Miyoshi, G., and Fishell, G. (2012).  
Dynamic FoxG1 Expression Coordinates the Integration of Multipolar Pyramidal Neuron Precursors into the Cortical Plate. *Neuron* 74, 1045-1058.