

## ニホンザルで自閉スペクトラム症の特性を確認、自然発生例ではヒト以外で初めて

～医学・脳科学・ゲノム科学が協力して解明～

文責：吉田今日子（筆頭・責任著者）

### 発表論文

Kyoko Yoshida\*, Yasuhiro Go, Itaru Kushima, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Hiroo Imai, Nobuhito Saito, Atsushi Iriki, Norio Ozaki, and Masaki Isoda, **Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque**. *Sci. Adv.* 2016; **2**: e1600558.

#### 1. ポイント：

- ◆ 1頭のニホンザル（以下、サルEと呼ぶ）が、他者の行動を観察せず、独自の行動選択ルールを固持するなどの、自閉スペクトラム症と類似した特性を示しました。
- ◆ サルEの前頭葉内側部には、他者の行動を観察して行動選択をすることが必要な際に、他者の行動に応答する神経細胞がほとんど存在しないことがわかりました。
- ◆ サルEには、ヒトの自閉スペクトラム症を含む精神障害と関係するとされる遺伝子のうち、2つの重要なもの（HTR2CとABCA13）に変異がみられました。
- ◆ 以上から、ニホンザルにおいて、自閉スペクトラム症に相当する状態が自然に存在していることを推定できます。サルEは、自閉スペクトラム症と同一と考えられる特性の、ヒト以外での初の自然発現例となります。

#### 2. 概要：

自閉スペクトラム症は、対人コミュニケーションおよび対人相互作用の障害と、興味・行動・活動の限局や反復的な行動により定義（注1）される発達障害です。

今回、研究グループは、社会性（対他行動）に特徴があった1頭のニホンザルの行動を詳細に調べることによって、このサルが自閉スペクトラム症の特性と類似した行動特徴をもつことを発見しました。さらに、このサルの脳で神経細胞の活動を実際に記録したところ、前頭葉内側部（注2）における他者の行動情報の処理に関わる神経細胞が極めて少ないことが明らかになりました。さらにこのサルでは、自閉スペクトラム症を含む精神障害にみられる遺伝子の変異（注3）が同定されました。この報告により、世界で初めて、ヒト以外の動物で自閉スペクトラム症の特性が自然に存在することを確認したと考えられます。

#### 3. 研究内容：

##### ① 研究の背景

自閉スペクトラム症は、(1)対人場面での相互作用とコミュニケーションの障害、(2)同じ行動パターンを繰り返して行なうことを好み、変化への対応が難しいという常同性・反復性、の2つを幼少期から一貫して認めることで診断され、100人に1人程度という頻度の高い障害であることが知られてきています。自閉スペクトラム症の概念は、従来の自閉症からアスペルガー障害や特定不能の広汎性発達障害までを含み、この特性が、重度の知的障害を伴う人から、知的機能の高い人、さらには症状の数が少なく程度も軽い正常範囲の人まで続く「スペクトラム（連続体）」を形成する、という考えに基づいています。つまり、早急に治療的介入が求められるケースにも、治療が必要とされないケースにも、根底には共通の仕組みがあるのではないかと

と想定されます。

医学的には、こうした精神障害は「疾患」として、すなわち、原因から病変へ、病変から症状へ、という仕組みを想定して研究されてきました。自閉スペクトラム症の場合も、その多様性の根底に、「遺伝子の変異が関わり、何らかの形でその影響が脳に現れ、脳内の特定の状態が行動に影響する」、という共通の仕組みが存在するであろうと想定されています。しかし、人間の脳内を直接研究することは難しいため、今のところ、そのような仕組みを実証することはできません。また上記のように、その未知の仕組みは、広いスペクトラムにわたる症状に共通しているはずですので、一般的に治療が望まれる「疾患」と呼べるものであるかどうかは、実際はわかりません。理解への手がかりは行動と遺伝子ですが、行動と脳、脳と遺伝子、を関係づけるのが困難です。

一方、動物に対しては、基本的には精神障害という概念はありません。脳活動のうち「精神」活動はヒトに特有とも考えられ、診断に言語を用いることもあるからです。しかし、精神障害と呼ばれるものがすべて、ヒトに特有の仕組みだけで起こるとは限りません。もしその根底にある仕組みが、動物にも共有されていれば、動物の脳を直接調べることで、脳科学で行動と脳を、ゲノム科学で脳と遺伝子を関係づけられる可能性があります（図1）。もちろん、根底に動物と共有される仕組みがあっても、その上にヒトの脳に特有の仕組みや社会的条件が追加されることで、ヒトに特有のさまざまな障害が生じることも、十分に考えられます。どのような治療的介入が必要かは、個々のケースに応じて考慮されるべきですが、治療の根拠を固めるためには、基本的な仕組みの理解を進めていくことが、必要不可欠です。

## ② 論文内容

### (a) 医学的にサルの行動を見る

研究グループは、「対人コミュニケーションおよび対人相互作用の障害と、興味・行動・活動の限局や反復的な行動」という自閉スペクトラム症の定義は、ヒト以外でも、他の個体を観察して自分の行動を選択するような動物であれば適用できると考えました。ニホンザルは脳が高度に発達しているため、自閉スペクトラム症の定義を満たすかどうか調べることができます。より一般的な対他行動の神経生理学的研究において行動が解析された何頭ものサルのうち、とくに一頭のサル（サルE）に着目しました。

サルEには、実験者との親和行動の欠如といった「個体間の相互作用の障害」や、頻繁に自分自身の爪を噛むといった「反復的な行動」が認められました。さらに、「サル個体間の相互作用の障害」について調べるために、サルEと定型的なサルをテーブル越しに対面するように座らせ、役割交替課題という作業を行わせました（図2）。この課題では、サルEと定型的なサルが交互に2色のボタンのうち1つを押す、という行動選択を行います。相手の行動選択をよく観察し、その情報を利用することができれば、高い確率で報酬のジュースを得ることができます。サルEは相手の行動選択を観察せず、報酬情報からのみ自分の行動選択を行うという「独自のルール」を設定し、それを固持していました。この課題の成績と眼球運動（図3）を分析したところ、サルEは他者の行動を観察する能力や、他者の行動を自己の行動に関連づける能力を発揮しておらず、自閉スペクトラム症の診断基準の、「サル個体間の相互作用の障害」に相当する状態にある、ということが判明しました。これはヒトに対しては決して行うことはできない、長時間・長期間にわたる精密な解析であり、ある意味では、ヒトにおけるよりも正確な「診断」とも言えます。

### (b) 脳科学からこのサルを見る

次に、上の課題の作業中にサルEの脳の神経細胞の活動を測定することで、サルEの脳内で起きているこ

とを直接調べました。特に前頭葉の中でも左脳と右脳の接する部位である、前頭葉内側部に焦点を当て、MRIのような脳画像ではなく、単一神経細胞活動記録（注4）という手法で実験を行いました。その結果、定型的なサルに比べてサルEは、他者の行動情報の処理に関わる神経細胞である「他者型細胞」と、自己・他者両方の行動情報の処理に関わる神経細胞である「ミラー型細胞」がきわめて少ないことが判明しました（図4）。つまり、サルEの前頭葉内側部には、他者の行動に反応する神経細胞がほとんど存在しなかった、ということがわかりました。他の脳部位で他者の行動情報を処理しているかどうかはこの実験ではわかりませんが、脳内の状態が定型的なサルとは異なります。このサルに対しては、行動の特徴が脳内の個々の細胞に反映されていることの確認という、ヒトに対して行うことは不可能な「精密検査」が行われたと言えます。

これにより、自閉スペクトラム症の仕組みとして想定されている、「脳内が特徴的な状態にあり、それが行動に影響する」ということが、このサルで起きたと推定できます。

### (c) ゲノム科学からサルを見る

次に、サルEを含む多数のサルを対象に2種類の遺伝子解析（エクソーム解析（注5）、ゲノムコピー数変異（CNV）解析（注6））を行いました（図5）。この結果、サルEのHTR2C遺伝子とABCA13遺伝子において非常に稀な変異が同定され、これらは、遺伝子が作り出すタンパク質を通して生体の機能に変化をもたらし得る変異でした。この2つの遺伝子は、ヒトでは、自閉スペクトラム症を含む精神障害に関係することが知られていますが、関係するとは、その変異と特性との間に統計的な相関があるということを示すにとどまり、その具体的な仕組みは解明されていません。しかし今回、サルEにみられたHTR2C遺伝子の変異は、幼少期のサルの脳におけるこの遺伝子の発現に影響があるタイプのものであることが判明しました。このような事実の確認はヒトに対しては極めて困難ですが、この発見は、ヒトで同じ変異が起きた場合に発達障害に関係する可能性を示唆しています。

これにより、自閉スペクトラム症の仕組みとして想定されている、「遺伝子の変異の影響が脳に現れること」がサルEで起きたと強く推定でき、サルEの脳の特徴的な状態も、その影響で現れたと推定できます。

### ③ 本論文から考えられること、本研究の科学的・社会的意義

以上の結果から、サルEにおいては、自閉スペクトラム症に対して想定されている、遺伝子から脳へ、脳から行動へ、という具体的な影響の存在が、強く推定できます。一方、ゲノムの構造や、脳による行動の制御は、種を超えて共通な仕組みが多いため、自閉スペクトラム症などの精神障害でも、サルEと同じことが起きていると推定できます。とくに、サルEの脳活動は、自閉スペクトラム症者の脳活動に近いものであることが示唆されます。また以上のことから、サルEは、自閉スペクトラム症の根底にあると想定される未知の仕組みを実際にもつサルが、自然に発生した例であると考えられます。

このことの一つの解釈として、自閉スペクトラム症の根底にある、サルと共有されている未知の仕組みが、正常な仕組みの不具合としての「疾患」ではなく、定型発達との間に連続性をもちながら、一貫した本来の在り方として自然界に存在している可能性が考えられます。

これらの結果は、自閉スペクトラム症の基本的な仕組みの理解へ向けて、初めて具体的な一歩を踏み出すものであると言えます。

「今回の研究は、自閉スペクトラム症とみられる特性の自然発現例をヒト以外の霊長類において世界で初めて発見した点と、そのサルの神経細胞の活動を詳細に記録した点に大きな意味があります。本研究で行ったような、長い時間をかけた行動の解析や、脳神経細胞の活動を直接記録することは、ヒトの患者様にはで

きません。サルにおけるこの特性の存在が確認できても、実際に各個体の特性を診断するのは非常に難しいため、今回の研究に出てきたサルEはとても貴重なサルであると言えます。サルEのもたらした結果は、こうした、現在は仕組みではなく症状で定義されている精神障害に対しても、基本的な病態を解明する足がかりとなる可能性があります。」(磯田昌岐／最終著者)

「私たち人間の健康の大きな部分は、私たちの動物としての健康だとも言えます。この研究では、医師として患者様と向き合うようにサルと向き合いました。私は現在、野生のニホンザルがたくさんいる町で、認知症外来を中心とした脳神経外科の診療をしています。この町の方々に、自閉症のサルはいると思いますか、と尋ねると、それはいるでしょう、と当然のようにお答えになります。自閉スペクトラム症の特性を持つサルが、野生のサルの社会でどのような「機能の障害」を経験しているかわかりませんが、種の持つ多様性の一部として共生しているのかもしれない。免疫系における血液型のように、脳神経系において多様な型が共存することもあり得ます。私たちヒトの場合、自閉スペクトラム症の特性の一つである、高い「システム化能力 (systemizing ability)」のおかげで文化が発展してきた面が大きい、とも言われています。」(吉田今日子／筆頭・責任著者)

※本研究は、日本学術振興会特別研究員制度、文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究「ゲノム支援」、自然科学研究機構「若手研究者による分野間連携研究プロジェクト」、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)「脳科学研究戦略推進プログラム」および「革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト」、科学技術振興機構 さきがけ、自然科学研究機構新分野創成センターブレインサイエンス研究分野プロジェクト、日本学術振興会科学研究費助成事業、京都大学霊長類研究所共同利用・共同研究、国立研究開発法人日本医療研究開発機構のナショナルバイオリソースプロジェクトの支援を受けて行われました。

#### 4. 用語説明

注1 定義：2013年、アメリカ精神医学会が発表した自閉スペクトラム症の診断基準。

注2 前頭葉内側部：他者の心の動きの類推や、他者の行動の理解と予測に重要な役割を果たすといわれる部位。定型的なサルを用いた研究で、この脳領域には自己の行動情報の処理に関わる神経細胞(自己型細胞)、他者の行動情報の処理に関わる神経細胞(他者型細胞)、そして両方の処理に関わる神経細胞(ミラー型細胞)が存在することが知られている。

注3 遺伝子の変異：両親から受け継がれない変異も多く含まれ、環境要因によって誘発されることもある。

注4 単一神経細胞活動記録：微小な金属電極などを神経細胞に接近させ、その記録細胞に発生する興奮(活動電位)を細胞外の微弱な電位変化として記録すること。

注5 エクソーム解析：ゲノムのエクソン領域(転写と翻訳を経て最終的にタンパク質をコードする領域)のみを標的として、その塩基配列を網羅的に解析すること。これにより、エクソン上の変異を効率的に検出できる。

注6 ゲノムコピー数変異(CNV)解析：染色体上の様々な領域のコピー数変異(CNV)を検出する解析。これにより、通常2コピーのところ、1コピー以下(欠失)あるいは3コピー以上(重複)となる変化を検出できる。CNVは、定型者でも多数有しているが、一部のものは生理機能において重要な遺伝子の働きに影響を与え、精神障害や様々な疾患の発症に関係すると考えられている。

5. 添付資料

図1. 研究概要

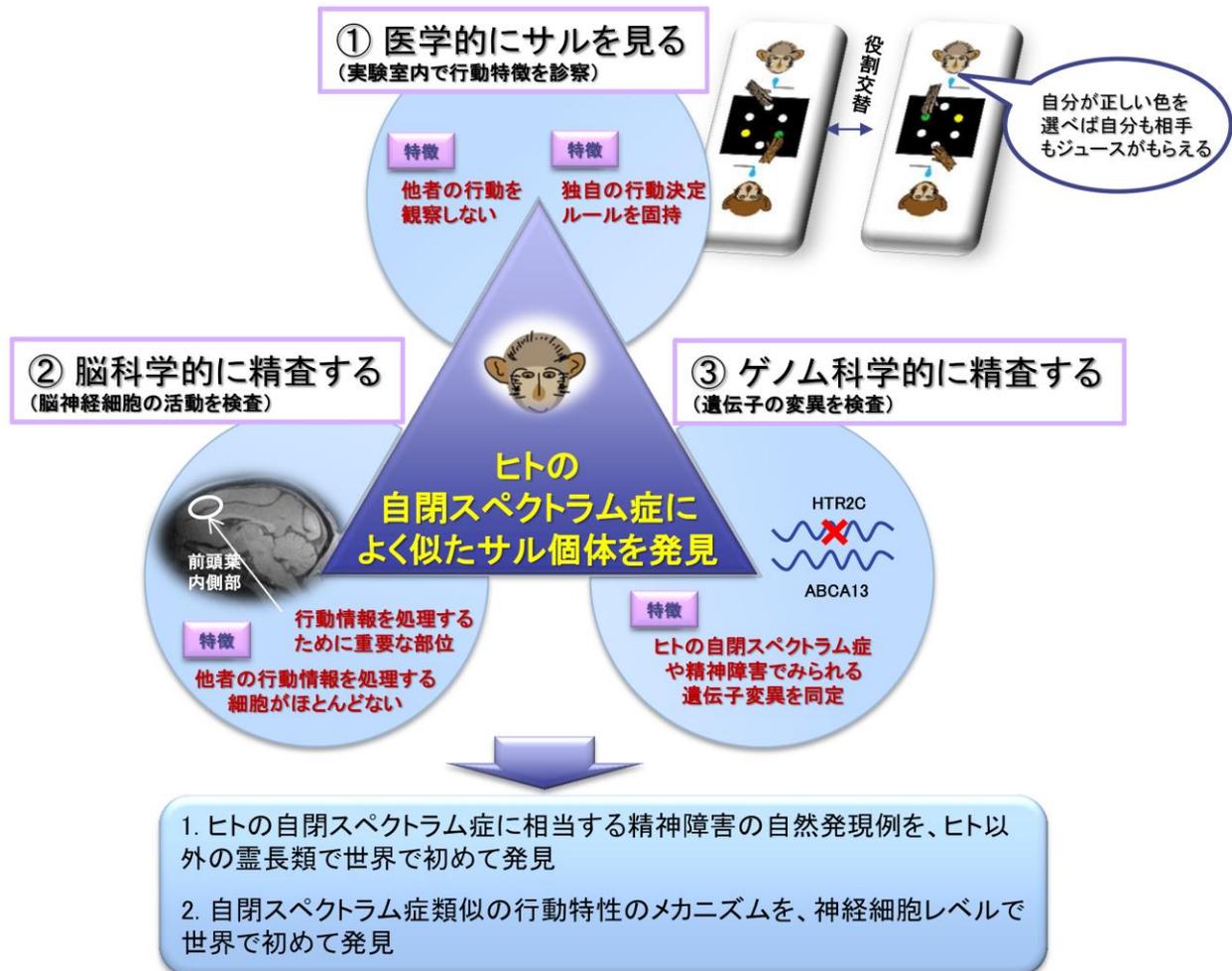
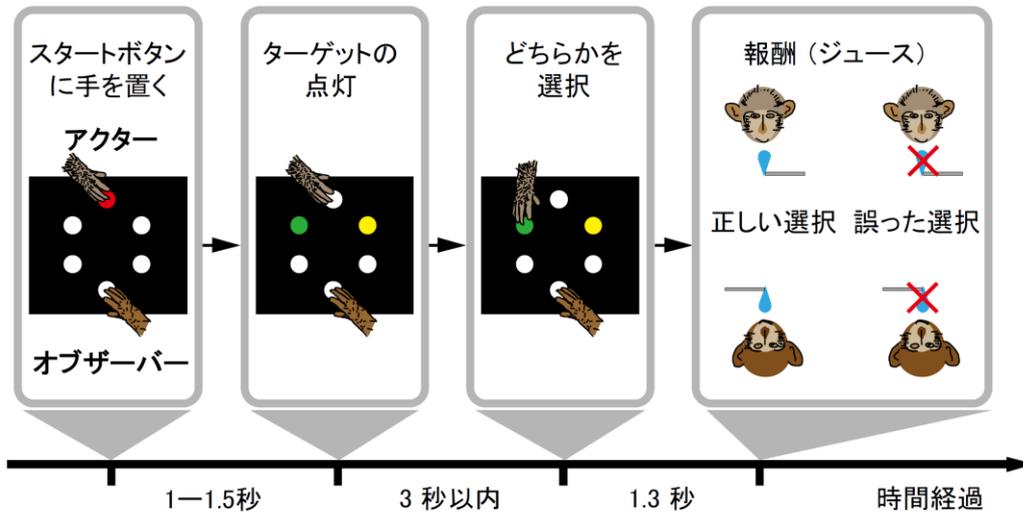


図2. 役割交替課題

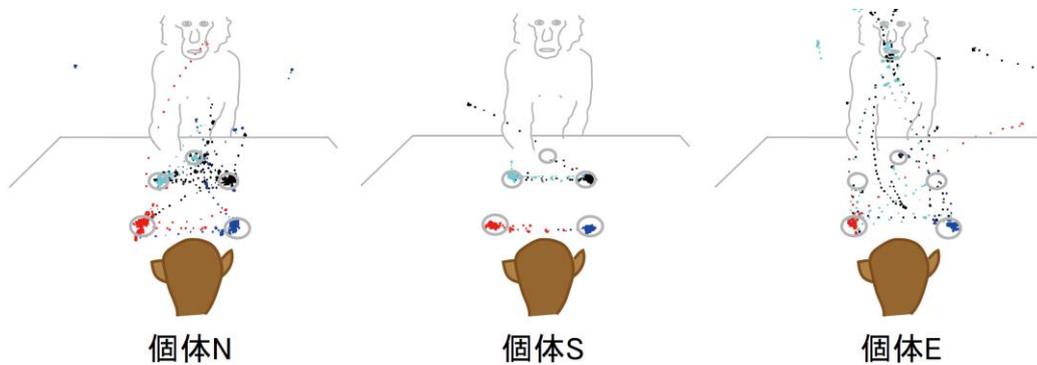


<ポイント>

1. アクターとオブザーバーの役割は、2試行ごとに交替する。
2. 正解となるターゲットの色は、5~17試行ごとに予告なく切り替わる。



図3. 視線解析



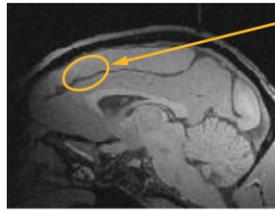
行動選択時の視線方向をプロット

- 赤: 自分がアクターで、左側のボタンを選択したときの視線方向
- 青: 自分がアクターで、右側のボタンを選択したときの視線方向
- 水色: 自分がオブザーバーで、自分から見て左側のボタンを相手が選択したときの視線方向
- 黒: 自分がオブザーバーで、自分から見て右側のボタンを相手が選択したときの視線方向

<ポイント>

1. 個体 N と S は、アクターが自分であってもなくても、ターゲットボタンを見る。
2. 個体 E は自分自身が押すボタンしか見ず、相手の押すボタンを見ていない。

図 4. 単一神経細胞活動記録



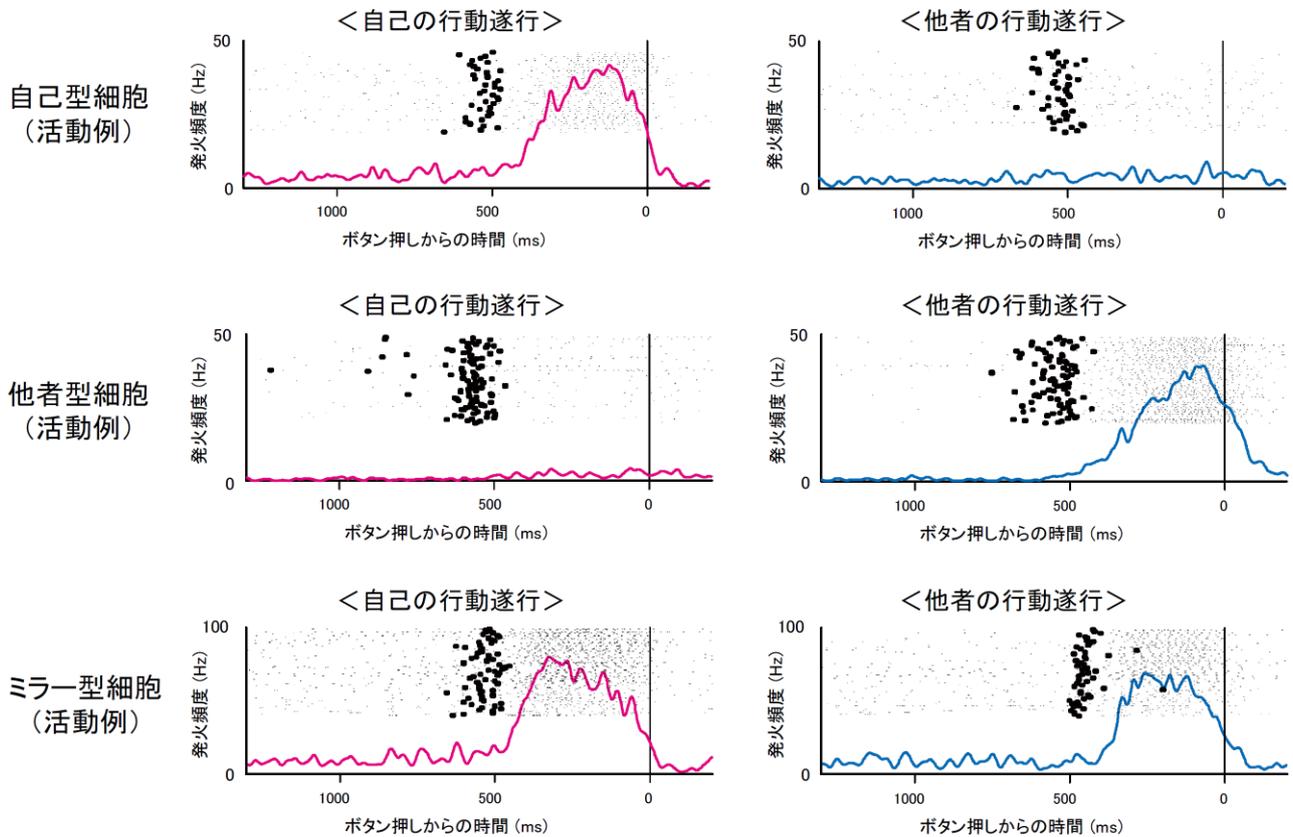
前頭葉内側部の  
神経細胞活動を記録

各個体から記録された神経細胞数

	個体 N	個体 S	個体 E
自己型細胞	60	40	49
他者型細胞	101	37	5
ミラー型細胞	34	26	4
全記録細胞	601	261	215

<ポイント>

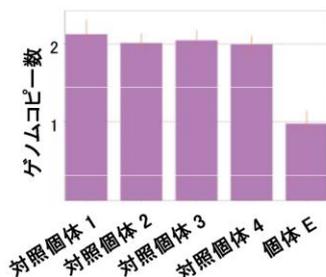
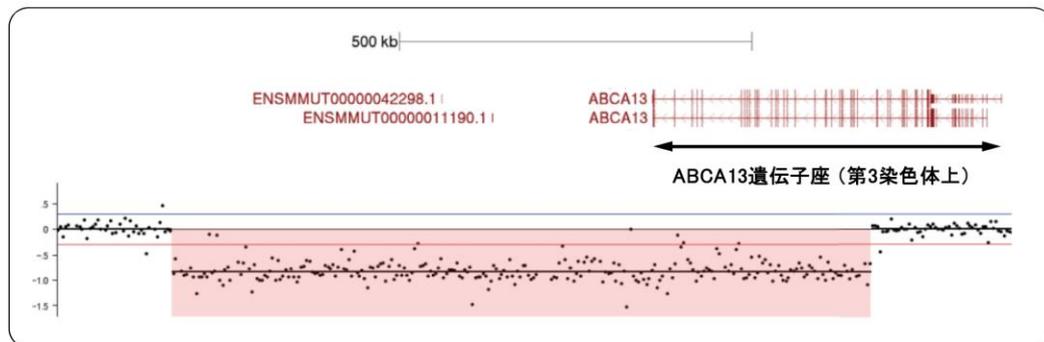
個体 E の前頭葉内側部には他者型細胞とミラー型細胞が顕著に少ない



小さな黒い点: 神経細胞の興奮 (活動電位) が生じた時点  
 色のついた実線: 神経細胞の平均的な活動レベル  
 大きな黒い点: サルに行動選択の開始を指示した時 (2つのターゲットボタンが点灯した時点)

図5. 遺伝子解析

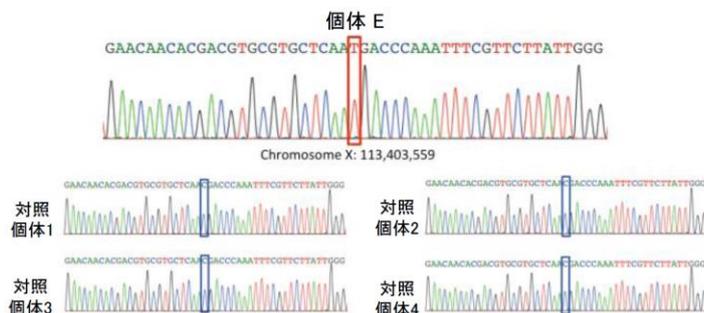
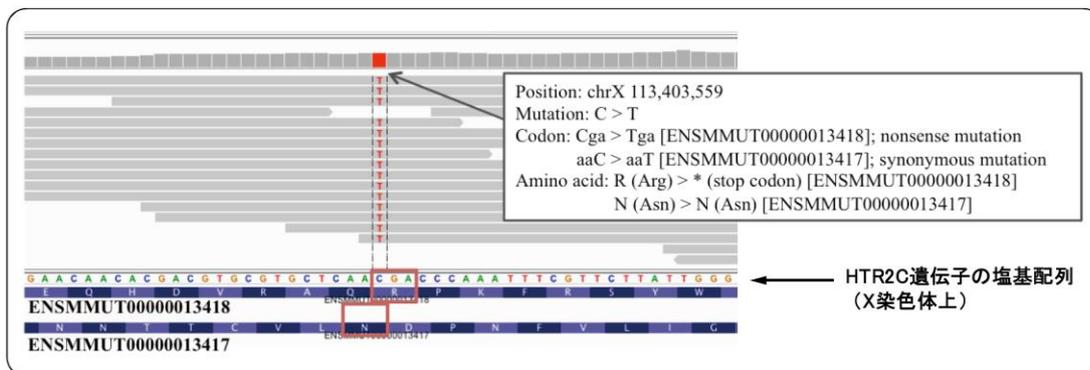
【ゲノムコピー数変異解析】



＜ポイント＞

1. 個体Eではピンク色で示したゲノム領域のコピー数が少ない（アレイCGH法）。この領域は右上に示すABCA13遺伝子座を含む。
2. RT-PCR法により個体EのABCA13遺伝子の欠失を確認（左図を参照：対照個体ではゲノムコピー数が2であるのに対し、個体Eではゲノムコピー数が1）。

【エクソーム解析】



＜ポイント＞

1. 個体EではHTR2C遺伝子の第6エクソンに赤字で示す点変異が存在（CがTに変異）。これにより、本来ならばアルギニンに翻訳されるCGAコドンが終止コドンであるTGAに変化。
2. サンガー法（左図）により当該塩基のCからTへの変異を個体Eにおいて確認。