

【目的】 自閉症は、他者への無関心、他者との意思疎通の困難などの社会性障害を伴う。社会性が障害されるメカニズムの解明は、自閉症の治療戦略を確立し、自閉症患者が社会生活を送れるよう効果的な支援を可能にするために必要不可欠である。これまでに、自閉症関連遺伝子をノックアウトした自閉症モデルマウスでは、細胞レベルから局所神経回路レベルに至るさまざまな階層で異常が認められているが、これらの異常がどのように社会性障害につながるか、未だ明らかではない。それは、社会性行動は、感覚野、前頭前野、運動野など、大脳皮質及び大脳辺縁系、大脳基底核など、様々な領野が協調して引き起こされると考えられるが、社会性行動中の領野間相互作用は調べられていないからであると考えられる。そこで、野生型および自閉症モデルマウスにおいて、社会性行動中に大脳皮質の各領野の入出力特性を記録し、領野間相互作用を比較し、自閉症モデルマウスにおいて、社会性行動が障害されるメカニズムの解明を目指した。本研究では、まず、社会行動中のマウス大脳皮質の複数の領野から神経活動を記録するための技術開発を行った。

【方法】 まず、標準的な分子生物学的手法を用いて緑色蛍光膜電位プローブ、ArcLight-MT を改良した。次に、ArcLight 変異体を、海馬初代培養神経細胞において1光子イメージング法を用いてテストした。これらの ArcLight 変異体を、子宮内電気穿孔法を用いてマウス大脳皮質 2/3 層神経細胞に発現させた。その後、生後 35~60 日齢において、1光子ワイドフィールド、2光子イメージング法を用い、麻酔下のマウスにおいて *in vivo* で視覚入力を記録した。

【結果】 まず、シナプス入力を高感度に検出できる膜電位プローブの開発を行った。これまでの研究から、ArcLight-MT が1光子、2光子イメージングの両方の手法でシナプス入力を検出することができることが明らかになった。そこで、本研究では、ArcLight-MT に突然変異を導入し、シナプス入力に対する感受性がより高い ArcLight-ST を開発した。ArcLight-ST は、1光子ワイドフィールドイメージング法で広視野のシナプス入力の時空間分布をより高感度に可視化でき、2光子イメージング法を用いた単一細胞レベルの高感度なシナプス入力検出に成功した。現在、膜電位イメージング法と Ca^{2+} イメージング法と組み合わせることで、大脳皮質全体から入出力を同時記録する技術開発を行っており、社会行動中のマウスへの適用を目指している。

新規蛍光膜電位プローブ、ArcLight-ST を用いたワイドフィールドイメージング

