

## 5-8 霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究

主任研究員 国立精神・神経医療研究センター  
関 和彦

### 総括研究報告

#### 1 研究目的

アルツハイマー型 (AD) 認知症の患者数は国内 300 万、また世界では 1800 万人と推測されている。また、広く認知症を含めると全国で 500 万人とも言われている。また自閉症の患者数の増加も喫緊の社会問題となっている。本研究では世界で初めてサルを用いた同疾患のモデル動物系統を確立し、発症と病態進行を反映するバイオマーカーを確立する目的である。本研究は 3 プロジェクトから構成する。①アルツハイマー病(AD)モデルサル開発と表現型評価：これまでに作出してきた、げっ歯類で早期発症の実績がある 5x FAD タイプの TG マーモセットを対象に、作出されたマーモセットの表現型を行動、生化学、脳機能イメージングバイオマーカーの開発を進める。②自閉症モデルの開発と表現型評価：親個体へのバルプロ投与によってモデル動物を作出し、ヒト患者との相同性を電気生理学的、生化学的、実験心理学的手法によって解明する。③霊長類モデルを対象とした新規バイオマーカーの開発：霊長類疾患モデル動物を用いた、国内の有力若手研究者と連携することにより、NCNP 内の研究リソースのみでは不可能であった、上記対象疾患などの新規バイオマーカーを開発する。

#### 2 研究組織

主任研究者

関 和彦 国立精神・神経医療研究センター

分担研究者

一戸紀孝 国立精神・神経医療研究センター

皆川栄子 国立精神・神経医療研究センター

加藤孝一 国立精神・神経医療研究センター

郷康広 自然科学研究機構・生命創成探究センター

國松淳 筑波大学・医学医療系

武井智彦 玉川大学・脳科学研究所

宮本健太郎 理化学研究所 脳神経科学研究センター 思考・実行機能研究チーム

小松三佐子 東京工業大学科学技術創成研究院

梅田達也 京都大学大学院医学研究科・脳統合イメージング分野

佐々木亮 京都大学 大学院医学研究科

網田英敏 京都大学・ヒト行動進化研究センター

二宮太平 生理学研究所・システム脳科学研究領域・認知行動発達機構研究部門

研究協力者

窪田慎治 国立精神・神経医療研究センター

前田和孝 国立精神・神経医療研究センター

小杉亮人 国立精神・神経医療研究センター

Roland Philipp 国立精神・神経医療研究センター

中谷輝実 国立精神・神経医療研究センター

川野邊哲代 国立精神・神経医療研究センター

種田久美子 国立精神・神経医療研究センター

工藤もゑこ 国立精神・神経医療研究センター

YARON Amit 国立精神・神経医療研究センター

江川史朗 国立精神・神経医療研究センター

吉田純一郎 国立精神・神経医療研究センター

小倉淳 国立精神・神経医療研究センター

菊田里美 国立精神・神経医療研究センター

中村泰子 国立精神・神経医療研究センター

HASEGAWA Woranan 国立精神・神経医療研究センター

原友紀 国立精神・神経医療研究センター

盆子原紘子 国立精神・神経医療研究センター

宮崎将行 国立精神・神経医療研究センター

野口潤 国立精神・神経医療研究センター

渡邊恵 国立精神・神経医療研究センター

中垣慶子 国立精神・神経医療研究センター

松田真悟 昭和薬科大学

安江みゆき 国立精神・神経医療研究センター

山口和彦 国立精神・神経医療研究センター

土屋明子 国立精神・神経医療研究センター

境 和久 国立精神・神経医療研究センター

黒谷亨 国立精神・神経医療研究センター

磯田李紗 国立精神・神経医療研究センター

中村月香 国立精神・神経医療研究センター

長谷川有美 国立精神・神経医療研究センター

佐藤知子 国立精神・神経医療研究センター

熊本卓也 広島大学大学院

井上謙一 京都大学

ヤン・ガオゲ 京都大学

磯田昌岐 生理学研究所

三村京子 国立精神・神経医療研究センター

大谷暢子 国立精神・神経医療研究センター

宮本絵美 国立精神・神経医療研究センター

### 3 研究成果

「AD モデルマーモセットの作出と解析」では研究全体の統括をおこなった。項目 1 では、発

生工学的な手法を用いて個体作出を継続するとともに、疾患バイオマーカーの検索を継続した。項目 2 では国内若手研究者との連携研究によって、さまざまな角度からの霊長類疾患バイオマーカーの開発を継続して行った。「**マーモセット自閉症モデルの作出と解析**」では、バルプロ酸マーモセットを用いた ASD モデルを構築し、その遺伝子発現やバイオマーカーを調査した。マーモセットとヒトの自閉症サブタイプの相関を解析し、バルプロ酸マーモセットが ASD の G1 サブタイプの良好なモデルであることを示した。また、バルプロ酸曝露によるヒストンアセチレーションの亢進を確認し、ASD サブタイプの特定に成功した。「**認知症モデルマーモセットの生化学および行動表現型評価**」では、遺伝子改変 AD モデルマーモセットの CSF および血漿中の  $A\beta$  42/40 比を測定し、AD 患者に類似する生化学的变化を示す個体を特定した。行動学的解析では、AD モデルと野生型マーモセット間に明確な差は見られなかったが、AD バイオマーカーの有効性が示唆された。

「**PET による AD モデルマーモセットの評価**」では、AD モデルマーモセットの脳内変化を PET で評価し、アミロイドプラークの形成や TSP0 の高発現、タウ病理の存在を確認した。これにより、AD モデルとしての妥当性が示され、さらなるモデル評価のための重要なデータが得られた。「**霊長類モデル動物を用いたトランスクリプトーム解析とトランスレータブル指標の開発**」では、バルプロ酸曝露マーモセットの遺伝子発現解析を行い、興奮性ニューロンの発現低下やグリア細胞の発現亢進を確認した。これにより、自閉症スペクトラム症の遺伝子発現動態の一部を明らかにし、トランスレータブル分子マーカーの開発に成功した。「**自律神経機能を指標とした病態評価**」では、アカゲザルを

用いて随意呼吸の制御機構と情動の情報処理の関連を調査した。呼吸タイミングを変化させる課題で、補足運動野と前補助運動野の神経活動を記録し、呼吸制御が情動制御に関与することを示唆した。「**感覚フィードバック応答計測による前頭-頭頂障害の評価**」では、マカクザルを用いた感覚フィードバック応答計測により、長潜時応答の調整に関与する前頭-頭頂皮質の機能を解析した。前頭-頭頂皮質の神経活動記録に基づき、フィードバック応答の予測的調整メカニズムを明らかにした。「**マカクサルを用いた強迫性障害の神経メカニズムの解明**」では、マカクザルを用いて OCD 様行動と内省の同時計測を行い、前帯状皮質や外側前頭葉の神経活動を解析した。内省と確認行動の関連を明らかにし、OCD の神経基盤を解明した。

「**広域皮質脳波を用いた疾患バイオマーカーの開発**」では、健常および疾患モデルマモセットの広域皮質脳波を比較し、ASD やてんかんモデルの異常を検出した。広域皮質脳波が疾患バイオマーカーの有効なツールであることを示した。「**マモセットのバイオマーカー創出に向けた大規模神経活動記録・解析法の開発**」では、マモセットの脳活動を層別に計測し、皮質層別 fMRI データから情報伝達ネットワークを解析する方法を開発した。触覚刺激に対する層特異的反応を明らかにし、双方向の階層的体性感覚処理の理解を深めた。「**脳多様性が導く柔軟な意思決定の神経基盤とその障害の定量化**」では、マカクザルを用いた VR 環境での探索課題により、多様な行動戦略を解析した。光遺伝学手法を用いたサルの意思決定操作に成功し、多様性を生む脳基盤を解明した。「**遺伝子導入サルを用いた「前頭葉-基底核」連関の機能解析と行動指標開発**」では、マカクザルの前頭葉から線条体への投射様式を解析し、腹

側前頭前野が注意喚起、背側前頭前野と島皮質が接触感覚の信号処理に関与することを示した。「**自己と他者の行動情報処理における前頭葉機能連関の解明**」では、マカクザルを用いた認知行動課題中の神経活動解析により、PMv が他者の行動感覚情報を処理し、MPFC が他者の行動予測と誤差情報を処理することを示した。

#### 4 研究成果刊行一覧

1. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki (2023). Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. Cell Reports, 7 March 2024, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113884>
2. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki (2023). Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. Nature Communications, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
3. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuo Tomioka (2023). Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. PLOS ONE, June 9, 2023, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>
4. Chao, Z., Komatsu, M., Matsumoto, M., Iijima, K., Nakagaki, K., Ichinohe, N.

Diverse Configurations of Erroneous  
 Predictive Coding Across Brain  
 Hierarchies in a Non-Human Primate  
 Model of Autism Spectrum Disorder.  
 bioRxiv (2023) doi:  
<https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.

5. Miyamoto K., Rushworth MF, Shea N. (2023) Imagining the future self through thought experiments. Trends in Cognitive Sciences. 10.1016/j.tics.2023.01.005
6. Miyamoto K. (2024) Neural circuits for retrospective and prospective introspection for the past, present and future in macaque monkeys and humans. Neuroscience Research. 10.1016/j.neures.2024.02.003
7. Z. Chao, M. Komatsu, M. Matsumoto, K. Iijima, K. Nakagaki, N. Ichinohe, Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder., bioRxiv, 2023, 2023. 11.19.567773, <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
8. Y. Nakagami\*, M. Komatsu\*, K. Nakae\*, M. Otsuka, J. Hata, H. Mizukami, H. Takemori, S. Ishii, H. Okano, A. Watakabe, T. Yamamori, Epileptic responses in marmosets induced by knockdown of CREB Regulated Transcription Coactivator 1 (CRTC1)., bioRxiv, 2023, 2023.09. 22.558929, <https://doi.org/10.1101/2023.09.22.558929>

## 2-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) AD モデルマーマーモセットの作出と解析

分担研究者 関 和彦  
国立精神・神経医療研究センター  
神経研究所 モデル動物開発研究部

### 【緒言】

I. AD サル開発と表現型評価：げっ歯類で早期発症の実績がある 5x FAD タイプの TG マーモセットを作出し、作出されたマーモセットの表現型を解析する。II. 霊長類モデルを対象とした新規バイオマーカーの開発：霊長類疾患モデル動物を用いた、国内の有力若手研究者と連携することにより、NCNP 内の研究リソースのみでは不可能であった、上記対象疾患などの新規バイオマーカーを開発する。

AD モデルサルは世界的にいくつかの研究期間で開発が行われているがそのラインはまだ樹立されていない。本研究の目的は、世界に先駆けて同モデルを樹立することである。また、本研究で扱う疾患モデルマーマーモセットについて、確実な表現型解析技術は、世界的に見てもまだ存在しない。この点、日本国内の気鋭の霊長類疾患モデル研究者を結集し、疾患モデルの評価方法の開発を共同して進める点に独創性がある。

### 【目的】

I. 世界初の認知症モデルマーマーモセットが作出され、このモデルサルを有する NCNP や我が国が AD 病態研究において戦略的優位性を確保できる。AD はもっとも患者数の多い神経疾患の一つであり、メジャーな認知症であることから、社会的な波及効果も大きい。II. 実験動物としてのマーモセットは歴史が浅く、また AD モデルの表現型も予想できないため、多様な視点からの表現型解析手法を開発しておく必要がある。この点、NCNP 内リソースでは限界があるため、所外との共同研究によってこれを実現する。

### 【方法と結果】

本項目では、研究全体の統括をおこなった。項目 1 では、発生工学的な手法を用いて個体作出を継続するとともに、疾患バイオマーカーの検索を継続した。その結果、イメージング及び脳画像バイオマーカーにおいて、ヒト疾患と共通の疾患反応性を示している可能性が示唆された。また病理解析の準備を継続した。項目 2 では国内若手研究者との連携研究によって、さまざまな角度からの霊長類疾患バイオマーカーの開発を継続して行った。

### 今後の展望

各プロジェクトは予定通り順調に進行している。次年度も引き続き、予定された研究計画を遂行してゆく。

### 参考文献

1. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki (2023). Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. Cell Reports, 7 March 2024, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113884>
2. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki (2023). Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. Nature Communications, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
3. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuo Tomioka (2023). Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. PLOS ONE, June 9, 2023, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) マーモセット自閉症モデルの作出と解析

分担研究者 一戸 紀孝  
国立精神・神経医療研究センター  
神経研究所 微細構造研究部

### 緒言

自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、社会的コミュニケーションや行動の特異性が特徴の神経発達障害である。この障害の特徴は個人によって大きく異なるが、現在のところ、ASD の効果的な治療法は限られており、その多くは症状の緩和に焦点を当てたものである。ASD の病因や病態は極めて多様であり、その複雑性が治療法開発の大きな障壁となっている。ターゲットを持つ治療法の開発は、このような背景から見ても、極めて重要である。

1993 年に ASD のマウスモデルが初めて作成されて以来、多くの研究がげっ歯類を用いて行われてきたが、これらのモデルは人間の ASD を完全に再現するには至っていない。そのため、異なるアプローチが求められるようになり、マーモセットを用いた研究が注目され始めた。マーモセットは、ヒト自閉症のトランスクリプトームと高い相関を示し、ASD のメジャーなサブタイプを再現している可能性がある (Watanabe et al., 2021, Nat Commun)。一方、げっ歯類モデルではこのような相関が見られないため、バルプロ酸マーモセットは、ヒトの自閉症、特にサブタイプの特性を研究する上で貴重なモデルである。

本研究では、バルプロ酸マーモセットの遺伝子発現をはじめとする多様なバイオマーカーを詳細に調査し、その結果をヒトの対応するデータと比較することで、ASD の病態理解を深め、新たな治療法の開発に寄与することを目指す。こうした統合的なアプローチにより、ASD のトランスクリプトーム研究をさらに推進し、効率的かつ実効性のある治療戦略を開発するための基盤を築くことが期待される。

### 方法

以下の 3 つの課題を本年度は遂行した。

課題 1: 多次元・統合的 omics 解析によるヒト自閉症サブタイプの探索・確立

NIMH から取り寄せたヒト自閉症者の死後脳遺伝子発現データを用いて、クラスターリング法を含むバイオインフォマティクス技術を駆使し、サブタイプの存在を探索した。次に、このサブタイプが独立したデータセットである Zhan et al. (2023: PNAS) によっても成り立つかをテストするために、そのデータセットを解析した。さらに、バルプロ酸マーモセットとヒトサブタイプとの transcriptome 比較を行い、バルプロ酸マーモセットがモデル化しているヒトサブタイプの特定を試みた。また、バルプロ酸曝露ヒト皮質 organoid の transcriptome がどのヒト自閉症サブ

タイプを再現しているかを調査した。最後に、transcriptome が genome 構造と epigenome の影響を受けるため、各サブタイプの個体から採取されたヒストンアセチレーションの結果を解析し、それぞれのサブタイプのエピゲノムの特徴を調べ、バルプロ酸マーモセットのヒストンアセチレーションも調べてヒトのサブタイプと比較した。

課題 2: マーモセットを用いた血液バイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの脳と血液の DNA メチル化解析をおこなった。

課題 3: マーモセットを用いた電気生理・イメージングバイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの local-global task 下の神経活動を ECoG で取得し、予測符号化理論に基づいた解析を行った。

### 結果・考察

課題 1: 多次元・統合的 omics 解析によるヒト自閉症サブタイプの探索・確立

Parikshak らによる 2016 年の Nature 誌の研究で用いられたヒト自閉症者の死後脳遺伝子発現のオリジナルデータを解析し、バルプロ酸マーモセットと類似のサブタイプの存在を探索した。自閉症において SD の高い遺伝子がばらつきが大きくサブタイプの要因になっていると考え、各遺伝子の SD を解析した。全部の遺伝子を使うとサブタイプへの寄与が低い遺伝子がノイズとなり、サブタイプ化が曖昧になり検出能が低下するためである。結果として、脳の 4 つの主要細胞種 (ニューロン、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイト) において特異的遺伝子のトップ 50 が一貫して SD が高いことを見いだした。また、各細胞種特異的トップ 50 は細胞種内では相互に相関が高く、他の細胞種とは相関が低いことも見いだした。これはこれらの遺伝子がサブタイプの検知において有用であることを示している。クラスター数予測解析の結果、3 個が適当とされた。実際にクラスター解析を行った結果、3 つのクラスター (G1、G2、G3) に分離された。G1、G2、G3 の各個人は、グループ内部で相関が高く、グループ間では相関が低かった。これは各グループの独立性を支持する。主成分分析の結果、各グループは PC1、PC2 の平面でオーバーラップがなかった。これも各グループの独立性を支持する。また、細胞種特異的遺伝子だけに依存するクラスターではないことを全遺伝子のモジュールを用いた主成分分析によっても確認され、オーバーラップが極めて少ないことが確認された。G1 はミクログリアのアップレギュレーション、オリゴデンドロサイトとニューロンのダウンレギュレーションで特徴づけられ、G2 はアストロサイト、オリゴデンドロサイトのアップレギュレーション、ニューロンの著しいダウンレギュレーションで特徴づけられた。各細胞種の遺伝子発現において、G1 と

G2 は相補的な関係にあった。G3 はオリゴデンドロサイトのダウンレギュレーション以外には、他の細胞種においてコントロールとの差異が見いだしにくかった。G1、G2、G3 には年齢差、性差、死後脳の時間、RNA のクオリティーにおいて差異は見られなかった。G2 の個人はすべててんかんを併発していた。このサブタイプがこのデータセットでだけ成り立つサブタイプではないことをテストするために、Zhan et al. (2023: PNAS)で用いられたデータセットを解析した。G1、G2、G3 の各個人とよりよく相関する個人をそれぞれ G1'、G2'、G3'とした。この新しいグループ内の個人はよく相関し、グループ間での相関は低かった。この新しいデータセットにも 3 つのサブタイプがあることが指示された。G1-G3 の各個人の平均値と G1'-G3'の各個人の平均値間の相関をとると G1:  $r = 0.88$ , G2:  $r = 0.72$  と驚くべき高い相関を示した。各細胞種の遺伝子発現の特徴も G1'-G3'は G1-G3 をそれぞれよく再現していた。主成分分析の結果、PC1、PC2 の平面で G1'-G3'と G1-G3 の各個人の分布はよくオーバーラップしていた。Zhan et al. (2023: PNAS)の結果は、Parikshack et al. (2016: Nature)のデータを全体で平均すると、相互に矛盾があった。特にオリゴデンドロサイト特異的遺伝子の平均値において、逆方向に変化していた。これは、自閉症に関する多くの報告にしばしば見られる、お互いの研究結果が相矛盾するという現象である。我々は Zhan et al. (2023: PNAS)の G1'-G3'の平均値を G1-G3 の平均値と置き換え、G1'-G3'各個人の数を掛けた線形加算を行うと、2 つの研究の食い違いがなくなるを見いだした。これは、これまで想定されていた、研究間の相違がサブタイプの比率から来ているという仮説を支持する。以上のように、Zhan et al. (2023: PNAS)のデータにおいて、G1-G3 と同様な分離されたサブタイプが存在することが示唆された。

バルプロ酸マーモセットの遺伝子発現は、細胞種特異的遺伝子において G1 と高い相関を示した。この高い相関は全体の遺伝子発現においても確認された。また主成分分析の結果も、G1 の各個人の分布とバルプロ酸マーモセットの各個体の分布がよくオーバーラップすることを見いだした。これはバルプロ酸マーモセットが自閉症の G1 のよいモデルになっていることを示すとともに、G1 が死後脳研究において問題とされる、死後変化という **confounding factor** によるアーティファクトではないことをサポートし、重要である。我々は、バルプロ酸を投与した organoid 研究のデータ (Cui et al. 2020) との G1-G3 との比較を行った結果、G1 と最も近いことを見いだした。この結果とバルプロ酸マーモセットの遺伝子発現が G1 に近づくことから、バルプロ酸の母体投与が G1 の方向へ遺伝子発現の **trajectory** を向けているという可能性を示唆している。G1 との大きな違いは、ニューロン関連遺伝子のアップレギュレーションであ

るが、これは脳の巨大化を示す自閉症の organoid でも見られており、organoid 自体が未成熟で妊娠中期までしか発達できていないことを関連する可能性がある。

さらに G1-G3 の各個体から採取されたヒストンアセチレーションの結果を解析した。G1 の各個人はすべてアセチレーションが亢進しているグループであることがわかった。G3 はアセチレーションに関してよりヘテロであった。バルプロ酸マーモセットは G1 と同様にヒストンアセチレーションが亢進していた。バルプロ酸が HDAC を抑制してアセチル化を亢進させることから、organoid のデータも組み合わせて、ヒストンのアセチレーションと G1 方向への **trajectory** のなんらかの関係があることが示唆された。

これらの結果は、バルプロ酸マーモセットが自閉症サブタイプのモデルとして特定されたはじめてのモデル動物であることを示している。今回のサブタイプは、複数の研究、動物モデル、organoid のデータを用いて包括的に捉えられたもので、自閉症の異なるサブタイプを理解し、診断や治療に役立てるための新しい方向性を提供する。バルプロ酸マーモセットモデルを用いた今後の研究は、自閉症の神経生物学的基盤をさらに深く探求し、治療法の開発に貢献することが期待される。

課題 2: マーモセットを用いた血液バイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの脳と血液の DNA メチル化を検討し、脳と血液の DNA メチル化サイトの中で相関が高いものが多数見いだされた。これは血液のメチル化から、脳の状態を予測するバイオマーカーとして用いられる可能性がある。

課題 3: マーモセットを用いた電気生理・イメージングバイオマーカーの開発

自閉症における非典型的な感覚知覚は、予測符号化の異常によるものという仮説がある。この理論は、脳が予測と予測誤差信号の階層的かつ双方向のカスケードによって感覚世界の内部モデルを作成し、ASD においては弱い予測または過度に正確な感覚観察によって非典型的なモデルが確立されると提案している。しかし、これらのメカニズム理論のための神経基盤は未だ不明であり、この解明は自閉症のバイオマーカー開発につながる可能性がある。我々はバルプロ酸マーモセットにおいて、聴覚課題中の ECoG を使用してこれらの理論を検証した。定量的モデルを用いて、階層の 2 つのレベルで予測誤差信号を抽出し、基礎となる感覚感度と予測の強さを評価した。結果は、ASD が感覚過敏と不安定な予測に関連していることを明らかにした。またバルプロ酸マーモセットの個体間において階層間で感覚規則性の過小評価および/または過大評価の多様なパターンが認められ、同様な脳の遺伝子異常があっても、症状の発現には多様性があるという説を支持した。我々の発見は理

論をその神経実装にマッピングし、自閉症のための潜在的なメカニズム的バイオマーカーを提供すると期待される。(Chao et al. 2023: bioRxiv)。

### 結論

本研究により、バルプロ酸マーモセットがヒト自閉症の G1 サブタイプと極めて似た病態を持っていることを示した。この事実は本モデルマーモセットはバイオマーカーの探索や、病態の解明、治療法の開発にとってこれまでにはないパワフルなツールであることを示している。動物モデルにおける遺伝子発現とそれに対応する分子・細胞・システム構造・生理学・行動の研究によって、最適な治療薬開発のための新たな道を開くと考えている。

### 参考文献

1. Chao, Z., Komatsu, M., Matsumoto, M., Iijima, K., Nakagaki, K., Ichinohe, N. Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder. bioRxiv (2023) doi: <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
2. Nakagami, A., Yasue, M., Nakagaki, K., Nakamura, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Reduced childhood social attention in autism model marmosets predicts impaired social skills and inflexible behavior in adulthood. *Frontiers in psychiatry*, 13, 885433.
3. Nakamura, M., Nakagami, A., Nakagaki, K., Yasue, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Prenatal valproic acid-induced autism marmoset model exhibits higher salivary cortisol levels. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 16, 943759.
4. Satoshi Watanabe, Tohru Kurotani, Tomofumi Oga, (10 人) & Noritaka Ichinohe : Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. (2021) *Nature Communications* 12, 5388

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 認知症モデルマーマセットの生化学および行動表現型評価

皆川 栄子

国立精神・神経医療研究センター  
神経研究所 モデル動物開発研究部

### 【緒言】

アルツハイマー病 (AD) の患者数は世界で 5500 万人以上と推測されているがいまだ有効な根治療法はなく、さらなる病態解明と治療法開発は喫緊の課題である。

AD をはじめとする神経変性疾患においては、臨床症状の顕在化以前から脳内に様々な変化が起こり、その一部は生前に検出可能である。AD 患者において認知機能低下の顕在化以前 (プレクリニカル期) に AD 病態を検出する生化学的徴候としては脳脊髄液 (CSF) 中の可溶性アミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) タンパク質レベルの低下があり、AD 患者における生化学バイオマーカーとして確立している。またプレクリニカル期に検出する行動徴候としては夜間の睡眠-覚醒パターンの変化 (中途覚醒の増加など) がある。

本分担研究の目的は、小型霊長類であるコモンマーマセットを用いて我々が樹立した遺伝子改変 AD モデル動物の表現型を多角的に解析することにより、ヒトに共通する生化学および行動バイオマーカーを確立し、また、AD モデル系統樹立をめざして、モデルとして妥当性の高い個体を早期に継代することである。これらの表現型の中でも、ヒトのプレクリニカル期に相当する時期に特に注目して解析を進める。

### 【方法】

生化学的解析については、遺伝子改変 AD モデルマーマセットのうち安全に CSF を採取できる年齢に到達した個体において経時的な CSF 採取を実施した。また対照群として年齢をマッチさせた野生型マーマセットにおいて CSF 採取を実施した。また遺伝子改変 AD モデルマーマセットのうち安全に血漿を採取できる年齢に到達した個体において経時的に血漿を採取した。年齢をマッチさせた野生型マーマセットにおいても血漿を採取した。これらの血漿と CSF を用いて酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) により A $\beta_{40}$  と A $\beta_{42}$  を測定して A $\beta_{40}$ 、A $\beta_{42}$ 、A $\beta_{42/40}$  比を計算した。またこれらのうち一部の検体について、量子科学技術研究開発機構の徳田隆彦博士との共同研究として超高感度 ELISA (Simoa 法) による A $\beta$  測定を実施した。

行動学的解析については、我々のグループが過去に開発した、赤外線センサーを活用してホームケージでの活動を 24 時間連続モニターできる装置<sup>1)</sup>を用いて活動量を計測し、睡眠-覚醒パターンの個体ごとの経時的变化を解析した。

### 【結果】

生化学的解析においては、遺伝子改変モデルマーマセットのうち、野生型マーマセットと比較して、CSF および血漿で A $\beta_{42/40}$  比が上昇している可能性のある個体や、ヒト AD 患者同様に脳内 A $\beta$  蓄積に伴って血漿 A $\beta_{42/40}$  比の経時的な低下が見られる個体が同定された。行動学的解析においては遺伝子改変マーマセットと野生型マーマセットの間に明らかな差は見出されなかった。

### 【考察】

本研究では、過去に我々が作出した、発症し進行性の症状を呈する世界初の神経変性疾患モデルマーマセット<sup>2)</sup>における独自の表現型解析の経験にもとづき、これまで我々が作出した早期発症型 AD モデルマーマセットの表現型解析法の開発を早期から戦略的に進めている。今回、ヒトの AD 病態評価にも用いられる種間共通生化学 AD バイオマーカーが陽性である遺伝子改変 AD モデルマーマセット個体を同定し得た。これらの個体は今後も経時的な表現型解析を通じて AD モデルとしての妥当性評価を継続する。

本研究を通じて得られる成果は AD の新規診断法や新規治療法の開発につながるのみならず、国内外で樹立されると見込まれる種々の遺伝子改変 AD モデルマーマセットの病態解析にも資するものと期待される。

### 【参考文献】

1. Koizumi M., *et al.* Motility Profile of Captive-Bred Marmosets Revealed by a Long-Term In-Cage Monitoring System. *Frontiers in Systems Neuroscience* 15:645308 (2021).
2. Tomioka I., *et al.* Transgenic Monkey Model of the Polyglutamine Diseases Recapitulating Progressive Neurological Symptoms. *eNeuro* 4(2): e0250-16.2017 (2017).

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

### (分担課題名) PET による AD モデルマーマセットの評価

分担研究者 加藤 孝一  
国立精神・神経医療研究センター  
神経研究所 ラジオアイソトープ管理室

#### 緒 言

霊長類の遺伝子改変モデルはヒトの疾患を理解し、その治療法を開発する上で非常に重要である。本研究では遺伝子を改変して産出された認知症 (AD) モデルマーマセットの脳内に生じている変化を PET により画像化し、動物の病態を評価することを目的とする。アミロイド  $\beta$  が脳内に蓄積することにより生じるアミロイドプラーク、およびプラークの周りで誘導される活性化ミクログリアで高発現する TSPO を撮像する。また遺伝子の改変によりリン酸化タウタンパクの蓄積も病変として生じる可能性が考えられるため、タウ PET の撮像も行う。

#### 方法

作出した AD モデルマーマセットの妥当性を PET の画像により評価する。用いる PET トレーサーは、アミロイドプラークに対して Chi らにより開発された FC-119S、TSPO に対して QST の張博士らにより開発された DAC、タウタンパクに対して QST の樋口博士らにより開発された PM-PBB3 を選択した。マーマセットは 12 か月齢から撮像することとし、以後継続的に 12 か月間隔で撮像を行う。

#### 結果

本研究で用いるトレーサーの中で PM-PBB3 は動物画像解析施設で合成実績のないものであった。PM-PBB3 は光感受性が高い化学構造をしており、UV 領域の光を吸収することによりジエン構造が異性化する特徴がある。そこで、QST および NCNP 病院での合成プロトコルを基に動物画像解析施設においても UV カットの蛍光灯および懐中電灯を用いた状況下でトレーサー合成、分注、および投与する環境を整えた。これらの結果、PM-PBB3 のジエン構造の異性化は生じないことを確認した。

今年度は 24 か月齢の F0 個体 7 頭に対して FC-119S、DAC、PM-PBB3 の撮像を行った。これらの個体は本研究計画開始以前に 12 か月齢での撮像を行っている。PET を撮像した個体の内、3 頭の個体については解析を終えている。海馬における FC-119S の集積の上昇を認める結果が得られた。現在もさらに、その発現量が高い個体からはより高い集積を示す脳画像が得られた。また DAC については小脳に高い集積が認められ、PM-PBB3 は 1 頭において集積の上昇が認められた。

#### 考察

FC-119S の PET 画像において脳内への集積に上昇が認められたことは、本モデルマーマセットの脳内にアミロイドプラークが形成している可能性を示唆する結果であり、AD モデルとしての妥当性を評価する際の指標となり得る。また PM-PBB3 の集積の上昇が認められた個体が 1 頭得られたことは、遺伝子可変モデルマーマセットの有用性を示すものと言える。すなわち、本モデルはアミロイド  $\beta$  の蓄積を促進する遺伝子改変動物であるが、遺伝子の発現における種々の相互作用から AD のもう一つの特徴とされるタウ病理が生じたと結果と考えられる。

#### 結論

今回得られた PET の結果は本研究で産出した AD モデルマーマセットが有用な動物モデルである可能性を示唆するものと言える。今後残る 4 個体の撮像結果の解析の結果を待つとともに、新しく次年度 12 か月齢になる F1 個体の撮像、および現個体の 36 か月齢での撮像を行っていき、さらなるモデルの評価に努める。

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

### (分担課題名) 霊長類モデル動物を用いたトランスクリプトーム解析とトランスレータブル指標の開発

分担研究者 郷 康広  
(所属) 自然科学研究機構

#### 緒 言

ヒトの疾患、特に高次認知機能に関わる病態機序の解明を目的とした研究においては、ヒト脳との形態や機能分化に大きな差異があるマウス脳で得られた結果を、ヒトに外挿する方法論の限界が指摘されている。一方、ヒトにおいては、実験的な操作や侵襲的な実験が不可能なため、病態と遺伝子・分子の因果律の解明まで踏み込むことが難しい現状にある。そこで本研究では、ヒトに近縁で、高度な社会性・認知機能をもつマーモセットを対象とし、ヒト自閉症スペクトラム症の分子基盤解明およびトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした。国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部の一戸研究室においては、世界に先駆けてバルプロ酸曝露マーモセットの作出に成功しており、作出されたマーモセットは自閉症様行動を示すことが明らかになっている。また、自閉症スペクトラム症の一つの中間表現型と考えられるシナプスの刈り込み不全によるシナプス形成異常がバルプロ酸曝露マーモセットでは観察されており、マウスではこのシナプス形成異常は観察されないため、その点においても本研究で用いるマーモセットの有用性は非常に高いものと考えられる。本研究では、それらの利点を最大限に活かし、薬理学的に作出された自閉症様マーモセット脳における遺伝子発現およびエピジェネティクス動態の変化をオミックス解析により明らかにするとともに、ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害へのトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした。

#### 方法

国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部において薬理学的に作出された自閉症様行動を示す胎生期バルプロ酸曝露マーモセット (VPA 個体) の脳を用いたシングル細胞核遺伝子発現解析 (single-nucleus RNA-seq) を行った。定型発達群 (バルプロ酸非曝露マーモセット: UE 個体) との比較解析により、霊長類疾患モデルとしてのマーモセット脳内における遺伝子動態を単一細胞レベルで明らかにし、ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害の治療法の基盤となるトランスレータブル分子マーカーの開発を行った。

バルプロ酸を母体投与した3ヶ月齢のマーモセット脳の眼窩前頭前野 (area12) と前部帯状皮質 (area24)、および成体マーモセット脳の前頭眼野 (area8a) と側頭葉 (TE 野) を対象とし、それぞれ

の脳領域から調整した細胞核を用いた解析を行った。

#### 結果

胎生期バルプロ酸曝露マーモセット (以後、VPA マーモセット) と定型発達・バルプロ酸非曝露マーモセット (以後、UE マーモセット) を比較対象とし、最もシナプス形成が盛んな3ヶ月齢のマーモセット5個体 (UE: 2個体、VPA: 3個体) の2脳領域 (内側前頭前野、前帯状皮質)、成体マーモセット8個体 (UE: 4個体、VPA: 4個体) の2脳領域 (前頭眼野、側頭葉) を用いたシングル細胞核遺伝子発現解析を行った。各サンプルから平均 11,334 個 (1,961~36,941 個) の細胞核から平均 4,352 遺伝子 (2,385~5,648 遺伝子) の遺伝子発現データを取得した。取得したデータをもとに、UMAP 法による次元圧縮・グラフ理論に基づいたクラスタリング法による細胞クラスタリングを行った。その結果、13種類の興奮性ニューロン、10種類の抑制性ニューロン、3種類のアストロサイト、2種類のミクログリアに加えてそれぞれ1種類のオリゴデンドロサイト前駆細胞、オリゴデンドロサイト、内皮細胞、周皮細胞に分類されるクラスターを同定した。興奮性・抑制性ニューロンに関しては皮質層構造や発生過程を反映したクラスタリングパターンを明らかにすることができた。同定した細胞タイプごとに、VPA マーモセットと UE マーモセットの発現比較を行った結果、VPA マーモセットにおける興奮性ニューロンでは発現低下が認められた。逆に、抑制性ニューロンとアストロサイト、オリゴデンドロサイト、オリゴデンドロサイト前駆細胞、ミクログリアなどのグリア細胞において多くの遺伝子に発現亢進が認められた。自閉症スペクトラム患者における神経生理学的な特徴の一つである興奮性活動と抑制性活動の不均衡が、遺伝子発現動態においても類似の現象として認められた。

今後は、自閉症と関連が多く報告されている、抑制性ニューロンやミクログリア・アストロサイトなどを中心とした解析をさらに進める。

#### 考察

胎生期バルプロ酸曝露による自閉症マーモセットモデルと定型発達マーモセットの複数脳領域におけるシングル細胞核遺伝子発現比較解析を行ったところ、各細胞タイプにおいて数十から数百の有意な遺伝子発現の差を示す遺伝子を同定した。これらの遺伝子群は、遺伝子オントロジー、生物学的パスウェイ解析から自閉症スペクトラムを含む多くの精神疾患との関連が示されているため、今回の作出されたマーモセットモデルは、自閉症スペクトラム症の有力なモデル動物となる可能性を示している。

今後は、異なる発達段階におけるシングル細胞核発現解析をさらに進めるとともに、バルプロ酸の作用機序 (ヒストン脱アセチル化阻害剤) に直結するヒストン修飾解析 (single-cell ATAC-seq) 解析も進め

る。さらに、カリフォルニア州立大学ロサンゼルス校の Geschwind 博士のグループがプレプリントとして発表したヒト自閉症死後脳のシングル細胞核発現解析結果 (Wamsley et al. 2023 *bioRxiv*) を用いた種間解析・データ統合解析を進め、バルプロ酸投与マーモセットモデルがヒト自閉症のどのサブタイプのモデルと成り得るのか、精緻な層別化を行う。

### 結論

本研究では、シナプス刈り込み不全、およびヒト自閉症スペクトラム症様の行動を示すバルプロ酸暴露マーモセットの発達に応じた脳内遺伝子発現変動を明らかにし、その分子基盤とトランスレータブル指標の開発を目的とした。定型発達個体群とバルプロ酸暴露個体群との発現変動を示す遺伝子がシングルセルレベルで同定することが可能となった。その多くがシナプス機能と関連し、また自閉症スペクトラム症との関連が示唆される遺伝子であったことは特筆すべき点である。これらの研究結果から、今回作出された自閉症様マーモセット個体群は自閉スペクトラム様のモデルとなり、精度の高いトランスレータブル分子マーカーの開発につながる可能性を示すことができた。

### 参考文献

Wamsley B, Bicks L, Cheng Y, Kawaguchi R, Quintero D, Grundman J, Liu J, Xiao S, Hawken N, Margolis M, Mazariegos S, Geschwind DH. (2023) Molecular cascades and cell-type specific signatures in ASD revealed by single cell genomics. *bioRxiv* 2023.03.10.530869. doi: 10.1101/2023.03.10.530869.

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 自律神経機能を指標とした病態評価

分担研究者 國松 淳  
(所属) (筑波大学)

### 緒 言

うつ病や不安症（パニック症）といった精神疾患では、顕著に呼吸の頻度が変化することが報告されている。呼吸は進化的にもっとも古くからある原始的な神経系の機能の一つであり、その制御は心と身体に様々な影響を与えていると考えられている。たとえば、ヨガでは独特な呼吸法によってストレスを解消することができることは、呼吸が情動機能の制御に関与している可能性を示唆しており、上記の精神疾患においても呼吸制御の異常が情動障害の一因となっているのかもしれない。そこで本研究では、随意呼吸の制御機構を調べ、情動の情報処理に与える影響を明らかにする。

### 方法

本研究では、アカゲザル（メス、7.0 kg）を用いた。サル飼育管理及び以下に記載する実験手技は筑波大学動物実験委員会に事前に承認を得て、文科省バイオリソースプロジェクト「ニホンザル」のプロトコルを遵守して実験を行なった。

行動課題として、視覚的な手がかりの呈示後、早いタイミング（100 - 1500 ms）、遅いタイミング（1500 - 4000 ms）、または任意のタイミングで呼吸を行うと報酬が得られる課題を用いた。

### 結果

行動データを解析したところ、サルは与えられた指示に従って呼吸タイミングを変化させていることが明らかになった。サルが上記の行動課題を行っている際に、補足運動野（SMA）と前補助運動野（pre-SMA）から単一ニューロンの活動を記録した。両領域から記録した 244 個のニューロンのうち、69 個（28%）が、手がかりの呈示後および吸気開始前に活動の上昇を示した。特に、呼吸運動に関連するニューロンの多くは SMA から記録され、手掛かり刺激に関連するニューロンの多くは pre-SMA から記録されていた。

### 考察

本研究では新たに考案した行動課題によってサルに指示したタイミングで随意的に呼吸を行わせることに成功した。また、神経活動記録の結果は、SMA が自発的な呼吸の生成に寄与し、pre-SMA がルールや運動計画を表していることを示唆している。この機能分離は、身体運動の随意制御に焦点を当てた先行研究（Matsuzaka et al., 1992）と一致している。これまで、随意的な身体運動が感覚認知を変化され

ることが報告されており、随意呼吸も同様の神経機構で感覚情報処理に影響を与えている可能性がある。

### 結論

随意的な呼吸と身体運動は、少なくとも前頭葉皮質では共通のメカニズムで制御されていると考えられる。

### 参考文献

Matsuzaka Y., Aizawa H., and Tanji J.(1992) A motor area rostral to the supplementary motor area (presupplementary motor area) in the monkey: neuronal activity during a learned motor task. J Neurophysiol 68(3):653-62.

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

### (分担課題名) 感覚フィードバック応答計測による前頭・頭頂障害の評価

武井智彦  
(玉川大学脳科学研究所)

#### 緒 言

脳損傷による運動障害は脳卒中や外傷性脳損傷などによって引き起こされ、患者の生活の質を大きく低下させる重大な問題である。従来、運動障害のリハビリテーションは、評価紙などによる評価が行われてきたが、個人の経験に依存する部分が多くまた効果にも患者ごとの大きな個人差があり、より客観的な障害機能、予後の予測、リハビリテーション効果の評価法の確立が求められている。

関節にトルク外乱を与えて筋肉の伸張反射応答を測定する手法は、主に末梢神経障害や筋障害などの評価に用いられている。しかし、伸張反射応答の中の特に長潜時成分 (long-latency response, LLR, 刺激後 50~100 ミリ秒) は、運動中の文脈や行動目標、意思決定、注意など、高次機能を反映して応答の大きさ (ゲイン) が変化することが知られている<sup>1</sup>。また近年、霊長類を用いた神経活動記録や不活性化の研究から、長潜時応答のゲイン調整に、運動前野や後頭頂葉を含む広範な前頭・頭頂ネットワークが関わることを示されてきた<sup>1,2</sup>。そのため、長潜時応答の計測によって、前頭葉および頭頂葉の機能障害をより客観的に評価可能になる可能性が考えられる。

そこで、本研究では 1) 前頭・頭頂皮質の広範囲神経活動記録により長潜時応答の調整に関わる神経メカニズムを明らかにし、さらに 2) 前頭・頭頂皮質の機能脱落を起こした動物モデルを用いて感覚フィードバック応答を計測することで、前頭・頭頂機能障害を客観的に評価する方法を確立することを目標とする。特に本年度は、感覚フィードバック応答計測による前頭・頭頂障害の機能評価法の確立を目指し、上肢の運動課題を訓練したサルに対して、前頭・頭頂皮質をターゲットとした硬膜下皮質電極 (ECoG 電極) の埋め込みを行い、上肢到達運動中に感覚入力 (トルク外乱) を与えた際の前頭・頭頂皮質の電位応答を慢性的に記録する方法の確立を目指した。

#### 方法

まず実験対象として、ヒトと類似した上肢の巧緻機能、身体構造、中枢神経系構造を持つマカクザルを選んだ。マカクザルの広範な大脳皮質の前頭・頭頂皮質 (大脳皮質運動前野、一次運動野、一次体性感覚野、頭頂葉 5 野) をカバーするような多チャンネル (32ch) 皮質電位記録電極 (electro-corticogram, ECoG 電極) をカスタムデザインし、専門業者 (ユニークメディカル社) に作成を依頼した。マカクザル 2 頭を対象として外科的手術を行い、作成した ECoG 電極の硬膜下

慢性埋込み手術を行った。肩と肘の運動に関わる筋群 (16 筋) の活動は、慢性的に皮下に埋め込んだワイヤー電極により、網羅的にした。さらに上肢の運動計測およびトルク外乱を適用するためサルに外骨格型ロボット (NHP KINARM Exoskeleton Lab) を装着し、視覚情報および体性感覚情報に応じた運動課題を行わせた。運動課題としては、文脈 (行動目標) に依存した長潜時応答のゲイン調整メカニズムを調べるため、同一の感覚入力 (トルク外乱) に対して行動目標 (ターゲット位置) に依存して異なる運動応答を行う必要がある運動課題 (行動目標依存的なフィードバック運動課題) をサルに行わせた。

#### 結果

上記外科的手術及び運動課題トレーニングを行うことで、マカクザル 2 頭において、(1) 広範な前頭・頭頂皮質活動の記録、(2) 網羅的な筋活動の記録、(3) 外骨格型ロボットによる詳細な運動計測を同時に行えるセットアップを確立することに成功した。さらに、行動目標依存的なフィードバック運動課題中のサル上肢筋活動を解析したところ、ターゲット (行動目標) に依存して伸張反射応答の変化が長潜時応答成分から見られることがわかった。さらに、課題中の前頭・頭頂皮質 (背側運動前野、一次運動野、一次体性感覚野、頭頂葉 5 野) の ECoG 信号に対して時間周波数解析を行ったところ、ターゲット提示からトルク外乱が与えられる準備期間中に、ターゲット位置に応じた  $\beta$  帯域 (15-35Hz) パワーの変化が特に背側運動前野に顕著に認められた。この結果は、行動目標に依存した長潜時応答の予測的調整において、背側運動前野の  $\beta$  帯域同期が重要な役割を果たしていることを示唆している。

#### 考察

申請者の先行研究において、フィードバック運動課題中を行っているサルの背側運動前野を局所冷却法によって不活性化すると、長潜時応答が減少することを見出した<sup>2</sup>。しかしこの結果だけでは、背側運動前野が「感覚入力に対するフィードバック応答を作り出す機能」自体を担っていたのか、それとも「フ

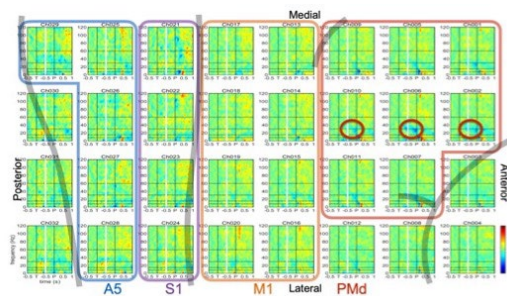


図 1. 行動目標に依存したフィードバック運動課題中の背側運動前野の  $\beta$  帯域パワーの変化。PMd:背側運動前野、M1:一次運動野、S1:一次体性感覚野、A5:頭頂葉 5 野

ィードバック応答のゲインを状況に応じて適切に調節する機能」を担っていたのかを分離することが不可能であった。本研究の結果から、背側運動前野でのB帯域同期が、行動の目標に応じたフィードバック応答のゲインの調節を担っていることが示唆された。

外部の状況に応じて適切な運動を行う機能の障害としては、観念失行において見られる。観念失行では、運動麻痺はなく、道具の理解はできるにも関わらず、適切な方法で道具を使うことができない。古典的には観念失行の病巣は左の頭頂葉が考えられてきた<sup>3,4</sup>。しかし近年、観念運動失行における前頭葉や前頭前野の関連を示唆する意見もあり、より詳細な神経基盤の解明が求められている<sup>5</sup>。今後、霊長類を用いた機能損傷モデルを用いることで、前頭-頭頂ネットワークの機能分担を明らかにし、感覚フィードバック応答を用いた客観的な評価法の確立につながることを期待される。

### 結論

本研究では感覚フィードバック応答を計測による前頭-頭頂機能障害の客観的評価方法の確立を目標とした。本年度は上肢の運動課題中のサルの前頭-頭頂皮質の ECoG 応答の記録の確立を行い、着実に研究を推進した。今後、大脳皮質の神経活動阻害におけるフィードバック応答の変化を評価していくことで、前頭-頭頂機能障害の客観的評価法の確立へとつながると期待される。

### 参考文献

1. Scott, S. H., Cluff, T., Lowrey, C. R. & Takei, T. Feedback control during voluntary motor actions. *Curr. Opin. Neurobiol.* **33**, 85–94 (2015).
2. Takei, T., Lomber, S. G., Cook, D. J. & Scott, S. H. Transient deactivation of dorsal premotor cortex or parietal area 5 impairs feedback control of the limb in macaques. *Curr. Biol.* **31**, 1476–1487.e5 (2021).
3. Goldenberg, G. Apraxia and Beyond: Life and Work of Hugo Liepmann. *Cortex* **39**, 509–524 (2003).
4. Bartolo, A. & Osiurak, F. One century after Liepmann's work on apraxia: Where do we go now? *Cortex* **154**, 333–339 (2022).
5. 丹治 順. 頭頂連合野と運動前野はなにをしているのか? 理学療法学 **40**, 641–648 (2013).

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) マカクサルを用いた強迫性障害の神経メカニズムの解明

分担研究者 宮本健太郎  
(所属) (理化学研究所)

### 緒言

本分担研究では内省（メタ認知）の能力を有し、解剖学的に前頭極が存在するマカクザルを用いて、自分の意に反し望ましくない思考や行動を反復してしまう強迫性障害(OCD)の実験動物モデルを確立することを目標とする。更に、確立した実験系から得られるデータに基づいて、内省と強迫行為・強迫観念が乖離する OCD の病態を計量精神医学的にモデル化し、脳においてメタ認知のセルフモニタリングとセルフコントロールの能力が生じるメカニズムを解明して、究極的には意識を対象とした認知神経科学にリバーストランスレーションすることを目指す。

### 方法

強迫行為に類似した OCD 様行動と、内省の状態を同時に計測する課題「メタ認知—確認行動測定課題」を開発し、2 頭のマカクサルを訓練して、課題のルールを習得させる。同時に、ヒト健常被験者に対して、マカクと課題を課し、行動と脳活動を調べる fMRI 実験を行い、内省を確認行動に変換するための責任神経基盤を同定する。ヒトで同定した責任領域のマカク相同領域の活動を経頭蓋超音波刺激法を用いて可逆的に抑制し、行動成績への影響を測定することで、内省の行動への変換に関わる因果的な神経基盤を同定する。

### 結果

マカクの訓練は順調に進捗した。2 頭ともにランダムドットモーションを使った課題のルールを習得した。ヒトの fMRI 実験の結果、前帯状皮質や外側前頭葉などが、メタ認知に基づいたモニタリング、およびそのモニタリングに基づいて、確認行為を行うかどうか意思決定する時に関与することが明らかになった。

### 考察

ヒトにおいて、内省に基づいて最適なタイミングで確認行為を行うために重要な神経基盤として同定した外側前頭葉領域は、特にヒトで進化的によく発達した領域である(Miyamoto et al., 2023, 2024)。マカ

クの訓練が完了したら、そのマカクでの相同領域の活動を抑制し、行動への影響を検証する計画を立てている。その比較を通じて、進化的な側面からも、OCD と内省の間の関係が明らかになることが期待される。

### 結論

ヒトの前帯状皮質や外側前頭葉などが、メタ認知に基づいたモニタリング、およびそのモニタリングに基づいて、確認行為を行うかどうかの意思決定に関与する。

### 参考文献

1. [Miyamoto K.](#), Rushworth MF, Shea N. (2023) Imagining the future self through thought experiments. Trends in Cognitive Sciences. 10.1016/j.tics.2023.01.005
2. [Miyamoto K.](#) (2024) Neural circuits for retrospective and prospective introspection for the past, present and future in macaque monkeys and humans. Neuroscience Research. 10.1016/j.neures.2024.02.003

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 広域皮質脳波を用いた疾患バイオマーカーの開発

分担研究者 小松三佐子  
(所属) 東京工業大学

### 緒 言

脳は時々刻々と変化する外界の状況に対し予測的に適応している。自閉症や統合失調症ではそれらの認知機能の障害が報告されているが、関連する神経機構の詳細については明らかにされていない。本分担課題では、脳に溝が少なく大脳皮質の領域が表面に露出した小型の霊長類、マーモセットをモデル動物として、行動観察および皮質全域に皮質脳波電極を埋設・慢性記録を行う方法を用いて、大脳皮質における予測符号化の神経メカニズムに迫る。この研究は、予測符号化を実現する神経回路メカニズム解明への道を開き、当該機能に障害があると考えられている自閉症や統合失調症の病態生理の解明、さらにはヒト・サル共通の疾患バイオマーカーや治療手法の開発に続く入口となると考えられる。

### 方法

本分担課題は、1) 広域皮質脳波を用いたヒト・サル共通バイオマーカーの開発および2) マーモセット用行動観察システムの開発の2項目からなる。1) 広域皮質脳波を用いたヒト・サル共通バイオマーカーの開発では、既に取得済みの健常マーモセットおよび疾患モデルマーモセットの広域皮質脳波の比較を行い、脳機能の異常が検出可能かを検証した。健常・ASDモデルマーモセットの比較に使用するデータは、NCNP 微細構造研究部および理化学研究所 CBS において健常マーモセット 3 個体および母体へのバルプロ酸投与により作出された ASD モデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し、聴覚予測機能が関わるとされる Local-Global Paradigm と呼ばれる音刺激提示中の神経活動の計測を実施したものを用いた。さらに、理化学研究所 CBS において遺伝子ノックダウンにより作出されたてんかんモデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し安静時皮質脳波を 2 か月および 5 か月縦断的計測したデータについて縦断的解析を行った。2) マーモセット用行動観察システムの開発では疾患モデル動物の行動異常を見出すためのホームケージでの行動観察系の開発を行う。

### 結果

NCNP 微細構造研究部および理化学研究所 CBS において健常マーモセット 3 個体および母体へのバルプロ酸投与により作出された ASD モデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し、聴覚予測機能が関わるとされる Local-Global Paradigm と呼

ばれる音刺激提示中の神経活動の計測を実施したものを用い、聴覚予測時の皮質脳波に健常群とモデル動物群で差がみられるかを検証した。東京大学 IRCN Chao 博士の主導で行われたモデルベース解析の結果、神経活動から推定される聴覚予測符号化モデルのパラメータ値は健常マーモセットの 3 個体で同様の値をとったのに対し、ASD モデルマーモセットの予測符号化のパラメータ値は健常マーモセットから推定された値とは有意に異なった。また、ASD モデルマーモセットのパラメータ値の分散はモデル動物間で非常に大きかった。この結果は ASD モデルマーモセットの予測符号化の様式は健常マーモセットとは異なる事、ASD モデルマーモセット間でも予測符号化の様式が異なる事が示唆された。これらは、聴覚予測符号化に関わる広域皮質脳波を用いたモデルベース解析が ASD のさまざまなサブタイプに特異的な神経マーカーの同定に貢献する可能性を示唆している。これらの成果は preprint として公開（業績 2）するとともに論文誌への投稿を行った。

また、理化学研究所 CBS において 1 次視覚野の遺伝子ノックダウンにより作出されたてんかんモデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し安静時皮質脳波を 2 か月および 5 か月縦断的計測したデータについて縦断的解析を行った。その結果、遺伝子導入初期は 1 次視覚野を起始として生じた皮質広域のてんかん様脳波が約 2 月後には側頭葉を起始としたてんかん様脳波に遷移することが分かった。また、皮質広域の安静時機能ネットワークがノックダウン後定常状態から逸脱するが 2 か月程度で定常状態に収束することを明らかにした。これらの成果について preprint として公開（業績 3）するとともに論文誌への投稿を行った。

さらに、自由行動下マーモセットを用いた疾患バイオマーカー開発に向け、自由行動下マーモセットからの神経活動計測・解析を実施し、マルチモーダルデコーディングには皮質高次連合野の寄与が大きいことを見出し査読付き国際会議にて口頭発表を行い（業績 1）論文投稿を行った。

### 考察

すでに取得済みの健常マーモセットおよび疾患モデルマーモセットのデータを用いて疾患バイオマーカーの検出を試みた。ASD モデルマーモセットについては計算論的モデルベース解析を実施し、それぞれ健常マーモセットに対する逸脱を明らかにした。また、てんかんモデルマーモセットについては縦断的解析を実施し定常状態からの逸脱を明らかにした。このことは、広域皮質脳波が、その広域性および長期計測可能性から、様々な疾患モデルマーモセットの脳機能異常を検出するための有効なツールである可能性を示している。

一方で疾患モデルマーモセットの脳機能異常は個体間の分散が大きいことが ASD モデル・てんかんモ

デルに共通してみられており、疾患モデルを用いた疾患バイオマーカーの開発にはサンプリングサイズを多くとる必要性が確認された。広域皮質脳波電極はその広域性からデータ駆動での異常検出が可能であり、疾患モデル動物において十分なサンプリングサイズが実現できれば、精神・神経疾患の様々なサブタイプに特異的な神経マーカーの同定に貢献する可能性がある。

### 結論

本年度は、すでに取得済みの健常マーモセットおよび疾患モデルマーモセットのデータを用いて、ASDモデルマーモセットについては計算論的モデルベース解析、てんかんモデルマーモセットについては縦断的機能ネットワーク解析を実施し、それぞれ健常マーモセットに対する逸脱を明らかにした。このことは、広域皮質脳波が、その広域性および長期計測可能性から、様々な疾患モデルマーモセットの脳機能異常を検出するための有効なツールである可能性を示している。

### 参考文献

1. M. Komatsu, M. Sato, A. Yoshida, J. Tsunada, S. Sasai, The whole-cortical ECoG reveals association cortices contribute multimodal intentional decoding., Proceedings of the 10th International Brain-Computer Interface Meeting 2023, 108, 2023.
2. Z. Chao, M. Komatsu, M. Matsumoto, K. Iijima, K. Nakagaki, N. Ichinohe, Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder., bioRxiv, 2023, 2023. 11.19.567773, <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
3. Y. Nakagami\*, M. Komatsu\*, K. Nakae\*, M. Otsuka, J. Hata, H. Mizukami, H. Takemori, S. Ishii, H. Okano, A. Watakabe, T. Yamamori, Epileptic responses in marmosets induced by knockdown of CREB Regulated Transcription Coactivator 1 (CRTC1)., bioRxiv, 2023, 2023.09. 22.558929, <https://doi.org/10.1101/2023.09.22.558929>

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

### （分担課題名）疾患マーモセットのバイオマーカー創出に向けた大規模神経活動記録・解析法の開発

分担研究者 梅田達也  
（所属） 京都大学大学院医学研究科

#### 緒 言

超高磁場 MRI (Magnetic Resonance Imaging) システムにより大脳皮質の活動を層別に計測する皮質層別機能的 MRI (皮質層別 fMRI) が実現し、大脳皮質の多領域のネットワークを皮質層レベルで解析できるようになり、ヒト脳機能の理解が促進されると期待される。しかし、現在の fMRI 技術の限界として、血液動態変化である fMRI 信号から領域内と領域間の神経伝達信号の入出力まで分析することができない。本研究では、小型霊長類（マーモセット）の神経生理学的データを基に、皮質層別 fMRI データから領域内外の皮質層レベルでの情報伝達を推定する数理モデルを開発し、マクロスケール（脳全体）の活動データからメゾスケール（領野における神経回路）の精度で情報伝達ネットワークを算出する大規模神経活動記録・解析法を開発する。この新しい計測方法は、脳機能の神経基盤の解明を大きく進めるとともに、精神・神経疾患の病態解明にも大きく貢献することが期待される。

#### 方法

本研究では、体重 350-360g のオスのコモンマーモセット 1 頭を用いた。7T/ボア径 20cm の Bruker-Biospin 製マグネットを使用し、内径 70mm のサドルコイルを送信コイルとして採用した。また、マーモセットの頭部周囲に配置した 1 つのループコイルを用いて MR 信号を収集した。デクスメデトミジン（投与量 5 $\mu$ g/kg/hr）を持続的に静脈内注入し、0.5%イソフルラン気化麻酔を行った。さらに、30nm の超小型超常磁性酸化鉄 (USPIO) 粒子 (Molday ION) を静脈注入し、脳血液量 (CBV) 強調 fMRI データをグラジエントエコー・エコープラナー・イメージングシーケンスで取得した。撮影条件は以下の通り：視野 (FOV) は 42 $\times$ 34mm<sup>2</sup>、マトリックスサイズは 72 $\times$ 34、スライス厚は 1mm、空間分解能は 0.36 $\times$ 0.36 $\times$ 1.0mm<sup>3</sup>、帯域幅は 3472.22kHz、エコータイム (TE) は 9.9ms、リピートタイム (TR) は 2000ms、フリップ角は 60 度。実験は 30 秒オン・30 秒オフのブロックデザインで行い、マーモセットの右手にエアパフ刺激を与えた。

#### 結果

まず、BOLD 変化よりも灰白質における CBV 信号変化が最も大きいのは大血管領域であることを確認した。次に、右手の触覚刺激により、マーモセットの脳では左視床、S1 (area 3b、1/2)、両側 S2 が活性

化されることを見出した。マーモセットアトラスに基づいて area 3b、1/2、S2 の ROI を決定し、各 ROI の層別マスクを作成した。area 3b の上層や深層よりも中層に、手に対応する明らかな活性化が見られた。一方、領域 1/2 と S2 には明確な中層活動のピークは見られなかった。

#### 考察

皮質層別活動を全脳における記録はヒトでは脳の大きさから不可能であり、非ヒト霊長類でも世界で初めての成果である。当初、聴覚野応答が計測されたが、コントロールとして空刺激の条件を用いることで検出されなくなった。

#### 結論

本研究では、マーモセットの脳における複数の皮質領域及び皮質下構造にわたる層特異的な体性感覚処理を明らかにするため、USPIO イメージング剤を用いて、7T MRI とそれに合わせて設計した送受信コイルセットを使用した。この装置は、層特異的 fMRI で BOLD イメージングに比べて高い信号感度と空間特異性を実現するのに理想的である。本研究により、マーモセットの全脳における層特異的な触覚刺激関連反応を記録することに成功した。このアプローチは、双方向の階層的体性感覚処理の理解を深める新たな方法として期待できる。

#### 参考文献

なし

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 脳多様性が導く柔軟な意思決定の神経基盤とその障害の定量化

分担研究者 佐々木亮  
(所属) 国立大学法人京都大学  
大学院医学研究科 神経生物学分野

### 緒言

脳神経の多様性が導く柔軟な意思決定の脳神経基盤はいまだ謎に包まれている。そこで本研究では、報酬を獲得する際の戦略性を個における多様性の一つと定義し、この多様性を導くニューラルネットワークのダイナミクスを解明する。また、これらの意思決定に関わる脳機構における変異が導く障害の定量化を試みる。

### 方法

限りなくヒトに近い脳を有する実験動物であるマカクサルを用い、本年度は、①研究計画の立案と実験機器導入およびヴァーチャルリアリティ(VR)環境の設計、②探索課題を用いた多様な行動戦略の開発と定量化を試みた。

### 結果

サルが、VR 環境において採餌行動を探索課題として実施できるよう設計し、訓練した。

具体的には、サルがモーションブラットフォームに座し、スクリーンに提示される VR 空間において様々なパターンで動き回る物体を、ジョイスティック操作により探索する訓練を行い、動物が選択する生存戦略を駆動する際の神経回路機構を、経済学や生態学において用いられる限界効用理論と最適採餌理論を軸とした解析を試みた。その上で、報酬量とコスト、意思決定因子の柔軟な有機的統合処理に基づく種特有の行動戦略を定量化した。また、光遺伝学手法を用いて、サルの意思決定を操作することに成功した (Sasaki et al., *Science* 2024)。

### 考察

多様性 (Diversity) は、近年ますます重要視されており、その理解と応用は、あらゆる学問分野において世界規模で注目されている。とりわけ、環境(社会、自然、生態系)が急速に変化する現代において、人類を含めた動物が、その変化に柔軟に適応し生存するためには、多様性を駆動した戦略的意思決定が求められる。しかし、なぜどのようにこの認知多様性が生まれるかについての科学的な説明は、未だなされていない。

本研究において着目しているように、巨大脳を有するマカクサルの脳深部も含めた、複数脳領域における多数神経活動のデコーディング解析による計算論的理解を深めることなどを含め、多様性を発生さ

せるニューラルネットワークを解明するための新たな手法が確立すれば、巨大脳における全脳ネットワークの可視化を一気に加速できる。本研究の独創性かつ先駆性はこの点にある。

### 結論

今後は、サルの課題遂行中の意思決定様式を脳多領域かつ多細胞記録から表象し、その細胞群活動について、計算論的手法を用いたデコーディング解析を用いて検証する。これにより、サルの意思を再構成することで、意思の多様性を創発する脳機構を解明するとともに、その障害の定量化を試みる。

また、視覚座標、外界座標、運動座標の脳統合処理を一連の行動として検討できるようにするため、サルに行動課題の訓練と、予備データの獲得も進めていく。さらに、課題遂行中のサルからニューロン活動を記録する。その上で本実験を開始し、サルの自由行動様式を、経済学や生態学において用いられる限界効用理論と最適採餌理論を軸として解析する。

「脳や神経、それに由来する個人レベルでの様々な特性の違い」を定量化することで、未だあいまいに定義されている個の行動様式としての多様性について明示することが可能となる。さらに、その多様性を生み出す脳基盤を解明することで、多様性の創発及び意思決定障害の治療戦略を導くことが将来的な成果として期待できる。

### 研究成果

R. Sasaki *et al.*, *Science*. **383**. 55-61 (2024)

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 遺伝子導入サルを用いた「前頭葉-基底核」連関の機能解析と行動指標開発

分担研究者 網田 英敏  
(所属) 京都大学ヒト行動進化研究センター

### 緒言

これまで大脳基底核の線条体は、哺乳類で共通の構造と機能を有すると考えられてきたが、近年、線条体において霊長類特有の細胞種や神経路の存在が報告されている (Balsters et al. 2020; Krienen et al. 2020)。このことは、霊長類特有の「前頭葉-線条体」ネットワークによって高次認知機能が実現している可能性を示唆する。この神経基盤を明らかにするため、線条体に投射する前頭葉ニューロンを調べた。

### 方法

MRI ガイドナビゲーションシステムを用いて、マルチカラー逆行性ウイルスベクター (AAV2.retro) を2頭のマカクザル尾状核頭部および被殻前部にそれぞれ注入し、神経終末から蛍光タンパク質の遺伝子を取り込んだ神経細胞を標識させた。注入1か月後に脳を取り出して脳切片を作成し、Nissl染色、DAB染色、抗体染色を実施した。Neurolucidaを用いて標識された細胞の分布をプロットした。

### 結果

解析の結果、尾状核頭部と被殻前部に投射する前頭葉領域にはオーバーラップが見られた。一方で、いくつかの脳領域では尾状核頭部と被殻前部に投射するニューロンの割合に違いが見つかった。腹側前頭前野には尾状核頭部への投射ニューロンが数多く分布していた。対して、背側前頭前野および島皮質には被殻前部に投射するニューロンが数多く分布していた。

### 考察

これまでの生理学的研究から、尾状核頭部は視覚的注意に関与しており、被殻前部は味覚や体性感覚の処理に関与していることが示唆されている。この機能的な違いは、上記の前頭葉からの投射様式の違いによって説明できるかもしれない。すなわち、腹側前頭前野は注意喚起を呼び起こす信号を尾状核頭部に送り、一方で背側前頭前野および島皮質は接触感覚の信号を被殻前部に送っていると考えられる。

### 結論

本研究によって、同一個体内で複数の前頭葉-線条体ネットワークの投射様式を調べることができた。尾状核頭部と被殻前部はどちらも前頭葉から幅広い投射を受け取っているが、その投射様式には差異があり、このことが情報処理プロセスの違いを反映していると考えられる。どのような細胞種がどの皮質層

に分布しているかを調べることで、霊長類特有の「前頭葉-線条体」ネットワークを明らかにしていく。

### 参考文献

Balsters JH., Zerbi V., Sallet J., Wenderoth N., Mars RB. (2020) Primate homologs of mouse cortico-striatal circuits. *Elife* 16:9:e53680.  
doi: 10.7554/eLife.53680.  
Krienen FM., Goldman M., Zhang Q. et al. (2020) Innovations present in the primate interneuron repertoire. *Nature* 586:262-269.  
doi: 10.1038/s41586-020-2781-z

## 5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名)自己と他者の行動情報処理における前頭葉機能連関の解明

分担研究者 二宮太平  
(所属) 生理学研究所  
システム脳科学研究領域・認知行動発達機  
構研究部門

### 緒 言

社会的動物であるヒトにとって、社会的認知機能は生存適応に非常に重要な脳機能である。本研究ではマカクザルを実験動物として、社会的情報処理に関わる大域的神経ネットワーク(社会脳ネットワーク)の機能解明と、その破綻と疾患との関連の理解に向けた実験をおこなう。

### 方法

本年度はまず、マカクザル3頭を対象に、ペアでおこなう認知行動課題のトレーニングをおこなった。神経活動記録実験対象の個体が十分な課題正答率(75%以上)に達した時点で、社会脳ネットワークの中核領域である、腹側運動前野(PMv)と内側前頭前野(MPFC)を対象とした、電気生理学的手法による脳領域の同定作業をおこなった。その後、当該2領域から課題遂行中の神経活動同時計測を進めた。

### 結果

課題遂行中の神経活動データについて、一部解析が完了しており、(1) PMv は他者の行動に関する視覚情報の有無によって応答が変化する神経細胞が多いのに対して、MPFC は変化しない神経細胞が多いこと、(2) MPFC は PMv に比べて、他者の行動選択の予測が難しいときにより活動する神経細胞が多いことを見出している。

### 考察

PMv と MPFC の性質の違いから、PMv は他者の行動に由来する感覚情報を処理している一方で、MPFC は他者の行動の予測やその誤差に関する情報を処理していると考えられる。

### 結論

以上の結果は、分担研究者が提案している社会脳ネットワークに関する機能仮説と概ね矛盾しない。今後、神経活動の更なる解析と、神経路選択的操作実験を実施し、社会脳ネットワークのより詳細な理解を推し進めていく。

### 参考文献

特になし。

Intramural Research Grant (5-8) for  
Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP

Fundamental research into brain function and its diseases using primate  
model animals

Principle investigator: Kazuhiko SEKI (NCNP)

### Research Objective

It is estimated that there are 3 million patients with Alzheimer's disease (AD) in Japan and 18 million worldwide. Including other forms of dementia, the number is said to reach 5 million in Japan. Additionally, the increasing number of autism patients has become an urgent social issue. This research aims to establish the world's first model animal system for these diseases using monkeys and to develop biomarkers that reflect the onset and progression of these conditions. The study consists of three projects:

1. **Development and Phenotypic Evaluation of Alzheimer's Disease (AD) Model Monkeys:** We will focus on 5xFAD-type TG marmosets, which have a proven record of early onset in rodents. We will develop behavioral, biochemical, and brain function imaging biomarkers for these marmosets.
2. **Development and Phenotypic Evaluation of Autism Models:** We will create model animals by administering valproate to parent animals and elucidate their homology with human patients using electrophysiological, biochemical, and experimental psychological methods.
3. **Development of New Biomarkers for Primate Models:** By collaborating with prominent young researchers in Japan and utilizing primate disease model animals, we will develop new biomarkers for the above-mentioned diseases and others, which were previously impossible to achieve using only NCNP's research resources.

### Results

**In the creation and analysis of the AD model marmoset,** we oversaw the entire research. In item 1, we continued producing individual models using developmental engineering techniques and continued searching for disease biomarkers. In item 2, we

continued developing primate disease biomarkers from various angles in collaboration with young domestic researchers. **In the creation and analysis of the marmoset autism model,** we constructed an ASD model using valproic acid marmosets and investigated their gene expression and biomarkers. We analyzed the correlation between marmoset and human autism subtypes and demonstrated that the valproic acid marmoset is a good model for the ASD G1 subtype. Additionally, we confirmed the enhancement of histone acetylation due to valproic acid exposure and successfully identified ASD subtypes. **In the biochemical and behavioral phenotypic evaluation of the dementia model marmoset,** we measured the A $\beta$ 42/40 ratio in the CSF and plasma of genetically modified AD model marmosets and identified individuals showing biochemical changes similar to those of AD patients. Behavioral analysis showed no clear difference between the AD model and wild-type marmosets, but the effectiveness of AD biomarkers was suggested. **In the evaluation of the AD model marmoset using PET,** we evaluated brain changes in AD model marmosets using PET and confirmed the formation of amyloid plaques, high expression of TSPO, and the presence of tau pathology. This demonstrated the validity of the AD model and provided important data for further model evaluation. **In the development of transcriptome analysis and translatable markers using primate model animals,** we analyzed the gene expression of valproic acid-exposed marmosets and confirmed the downregulation of excitatory neurons and the upregulation of glial cells. This clarified part of the gene expression dynamics of autism spectrum disorders and succeeded in developing translatable molecular markers. **In the evaluation of disease states using autonomic nervous function as an indicator,** we investigated the relationship between the control mechanism of voluntary breathing and emotional information processing using macaques. By recording neural activity in the supplementary motor area and pre-supplementary motor area during tasks that changed breathing timing, we suggested that respiratory control is involved in emotional control. **In the evaluation of fronto-parietal impairment by measuring sensory feedback responses,** we analyzed the function of the fronto-parietal cortex involved in the adjustment of long-latency responses using macaques. Based on the neural activity recordings of the fronto-parietal cortex, we clarified the predictive adjustment mechanism of feedback responses.

**In the elucidation of the neural mechanisms of obsessive-compulsive disorder using macaques,** we conducted simultaneous measurement of OCD-like behavior and

introspection using macaques and analyzed the neural activity of the anterior cingulate cortex and lateral prefrontal cortex. We clarified the relationship between introspection and checking behavior and elucidated the neural basis of OCD. **In the development of disease biomarkers using wide-area cortical EEG**, we compared wide-area cortical EEGs of healthy and disease model marmosets and detected abnormalities in ASD and epilepsy models. This demonstrated that wide-area cortical EEG is an effective tool for disease biomarkers. **In the development of large-scale neural activity recording and analysis methods for creating biomarkers in marmosets**, we measured the brain activity of marmosets in layers and developed a method to analyze information transmission networks from layer-specific fMRI data. We clarified layer-specific responses to tactile stimulation and deepened the understanding of bidirectional hierarchical somatosensory processing. **In the quantification of the neural basis of flexible decision-making led by brain diversity and its impairment**, we analyzed diverse behavioral strategies using macaques in a VR environment. We succeeded in manipulating macaque decision-making using optogenetics and elucidated the brain basis that generates diversity. **In the functional analysis and behavioral indicator development of the "prefrontal-basal ganglia" connection using gene-introduced macaques**, we analyzed the projection patterns from the prefrontal cortex to the striatum in macaques and demonstrated that the ventral prefrontal cortex is involved in attention arousal, and the dorsal prefrontal cortex and insular cortex are involved in the processing of tactile sensory signals. **In the elucidation of prefrontal lobe function connections in processing self and others' behavioral information**, we analyzed neural activity during cognitive behavioral tasks using macaques and demonstrated that the PMv processes sensory information about others' actions and the MPFC processes predictions and error information about others' actions.