

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09967

研究課題名(和文) 自閉症発症におけるPGD2を鍵とした慢性神経炎症とシナプス形成異常関連の解明

研究課題名(英文) PGD2 is implicated in neuronal development via DP1 receptor and the over-activation of PGD2-DP1 signaling during early development could be a risk factor for neurodevelopmental disorders

研究代表者

毛利 育子 (Mohri, Ikuko)

大阪大学・連合小児発達学研究所・准教授

研究者番号：70399351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は自閉症死後脳ミクログリア造血管型プロスタグランジンD合成酵素を発現していることを見出した。ミクログリアが産生するPGD2が自閉症の病態発生につながるとの仮説を本研究で検証した。まず、マウス初代培養皮質神経細胞を用い、PGD2受容体アゴニスト投与によりtotal neuriteの伸長、未成熟スパインの増加など、神経形態の変化を確認した。DP1Rアゴニストを投与下マウスでは、自発運動における無動時間が有意に増加すること、不安様行動が増加することが示された。これらの結果よりPGD2は神経細胞形態の変化を引き起こし、自閉症様行動を引き起こすことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症は様々な原因で発症することが知られている。近年の報告では60人に1人が自閉症であるとされ、非常に頻度が高い疾患である。近年、周産期の虚血・低酸素などのトラブルが自閉症のリスクファクターであることが報告されている。我々は本研究で周産期イベントで産生されるPGD2が神経形態に影響し、自閉症発症につながることを示された。このことより、PGD2合成酵素阻害剤等、PGD2産生抑制による自閉症発症予防法への展望がひらけ、社会的に大きな意味がある。

研究成果の概要(英文)：Prostaglandin D2 (PGD2) is an inflammatory mediator. During neuroinflammation, microglia produce hematopoietic PGD synthase (HPGDS). Previously, we found that HPGDS is expressed in activated microglia in the brains of Autism. In this study, we investigated whether PGD2 affects neuronal morphological development. In the primary cultured cortical neurons, PGD2 receptor agonist (DP1 agonist) increased the primary neurite number and total length of dendrites, and immature dendritic spines. In addition, repeated administration of DP1 agonist to the mouse during early postnatal period caused alterations in the dendritic morphology and the number of synapses in the prefrontal cortex. These results suggest that PGD2 is implicated in neuronal development via DP1 receptor and the over-activation of PGD2-DP1 signaling during early development could be a risk factor for autism.

研究分野：神経科学

キーワード：自閉症 PGD2 造血管型プロスタグランジンD合成酵素 ミクログリア マウス 神経突起 スパイン

1. 研究開始当初の背景

自閉症は「社会性およびコミュニケーションの障害」「限定された興味・想像力の障害」をその中核症状とするが、樹状突起棘が定型発達者に比し多いことから (Hutsler and Zhang. Brain Res. 2010) 樹状突起棘の刈り込み異常とそれに起因する神経回路の異常がその本態と示唆されている。実際我々は、感覚情報の伝達速度・部位の異常 (Matsuzaki et al, NeuroReport. 2012、PLoS ONE 印刷中) や遠隔部位を接続する神経線維束の発達不全 (Hanaie et al. J Autism Dev Disord. 2014) など、神経回路構築の異常について報告してきた。

自閉症の発症原因として遺伝子的背景が言われているが、実際に遺伝子異常の関与が同定されるケースは全体の数%と低いことから、環境要因がクローズアップされている。環境要因のなかでは自閉症発症のオッズ比をあげるものとして、胎児期の感染、および出生直後の神経炎症を引き起こす低酸素イベントなどが報告されている (Gardener et al. Pediatrics. 2011、東ら 2013)。さらに、自閉症脳において脳における炎症担当細胞であるミクログリアが増加していること (Morgan et al. Biol Psychiatry. 2010)、PET 研究で成人の自閉症で活性化ミクログリアが正常に比し増加していること (Nakamura et al. 2014) が示され、神経炎症機序が自閉症発症に関与していることが大きな注目を集めている。近年ミクログリアが突起をシナプスに接触させてシナプスを調節すること (Bessis et al. 2007)、ミクログリアが幼若マウス脳で樹状突起棘を刈り込むこと (Paolicelli et al. 2011, Shafer et al. 2012) など、ミクログリアのシナプス調節への直接関与が報告されている。しかしながら 神経炎症機序が実際にどのように自閉症脳の神経回路形成に影響を与えるのか、自閉症は胎内で病的プロセスが進行する先天性の脳障害にもかかわらず、なぜ死後脳や成人でもミクログリアが活性化しているのかその慢性に炎症が持続する機序については不明である。

我々は長年ミクログリアの役割を研究してきた。ミクログリアは虚血など脳に障害的なイベントが生じると静止型から活性型に形態的に変化し、細胞残渣を貪食し、様々なサイトカインを含む炎症物質を産生・放出する。我々は活性化したミクログリアが、造血管型プロスタグランジン D 合成酵素 (HPGDS) を発現し、強力な炎症メディエータであるプロスタグランジン D_2 (PGD₂) を産生する事を見いだした (Mohri et al. Glia, 2003)。また、PGD₂ 特異的受容体である DP1 および DP2 を介しアストロサイトの活性化も引き起こすことも見いだしている (Mohri et al., J Neurosci, 2006)。一方、我々は、正常マウス幼若脳において、生後 10 日をピークにミクログリアが遊走しながら HPGDS を強発現し、不要な細胞を貪食していることを見いだした (Mohri et al. Glia, 2003)。マウスでは生後 2 週までプログラムされたシナプス形成が進むが、我々が見いだした HPGDS/PGD₂ の強発現はこのシナプス形成の時期と一致している (Mohri et al. Glia, 2003)。

我々は、マウスモデルを用い、進行性脱髄疾患であるクラッペ病 (Mohri et al., J Neurosci, 2006)、アルツハイマー病 (Mohri et al., J Neuropathol Exp Neurol, 2007) 新生児脳性麻痺の原因である低酸素性虚血性脳症 (Taniguchi et al., J Neurosci, 2007) 脊髄損傷 (Redensek et al. 2011) など様々な疾患で活性化ミクログリアが HPGDS を発現し、炎症増悪に関与していることを報告した。さらに、米国 Autism Tissue Program から提供を受けた死後脳を用いた研究で、自閉症脳では HPGDS 陽性ミクログリアがコントロールに比べ、小脳や BA9 という自閉症の症状に関連する脳部位において有意に増加していることを免疫染色および定量的 RT-PCR にて確認した。

2. 研究の目的

自閉症脳において増えている PGD₂ がどのような役割を果たしているのかについてはまだ検討がなされていない。我々は幼若脳においてミクログリアが産生する PGD₂ は、神経発達やシナプス形成に関与し、慢性炎症の持続に関与するキー分子であり、その過剰な発現が自閉症の病態発生につながるとの仮説を立て、本研究で検証した。

3. 研究の方法

- (1) 培養神経細胞を用い、プロスタグランジン D_2 (PGD₂) が幼若期脳の神経突起伸展、樹上突起棘形成、およびシナプス伝達へ影響を及ぼすかを検討する。
- (2) 胎児期神経炎症モデルマウスをもちい、行動観察とともに、神経形態と PGD₂ との関わりを解

明する。

4. 研究成果

妊娠 16 日の ICR マウスより胎児皮質神経細胞を調製し、播種 3 時間後に PGD₂ 受容体アゴニスト投与し、neurite と axon の形態を観察した。PGD₂ の中枢神経での受容体には DP1, DP2 の 2 種類が知られている。我々は preliminary にマウス胎児前頭葉からの初代培養神経細胞でどちらの受容体が発現しているかを定量的 RT-PCR で確認したところ、DP1 のみ発現していることが確認された。DP1R アゴニストを用いた結果では、DP1R アゴニストの濃度依存性に有意に total neurite の伸長が認められた。Axon 長や細胞体のサイズの変化はみられなかったが、dendrite 長、primary dendrite 数も有意に増加することが示された。一方、DP2R アゴニストではこのような変化は認められなかった。さらに、DP1R アゴニスト連続投与では基底樹状突起および先端樹上突起の複雑性が有意に低下し、さらに三次授葉突起の長さの減少が観察された。また、DP1 連続投与により樹状突起スパインの密度が増加した。さらにスパインでは PSD-95 陰性の未成熟スパインが増加していることが判明した。この樹状突起スパイン密度の増加は自閉症脳でも報告されており、注目に値する結果である。

さらに、動物実験では、生後 5 日齢から DP1R アゴニストを投与下マウスでは、自発運動における無動時間が有意に増加すること、不安様行動が増加することが示され、いずれも自閉症様行動であった。

次に、周産期の神経炎症モデルとして、母体に Poly(I:C) 投与したのちに出生した仔マウスについて、行動および HPGDS の発現を観察した。行動実験では Poly(I:C) 投与群で不安様行動の増加が認められた。また、前前頭皮質において HPGDS 陽性ミクログリアの増加を確認した。

これらの結果より、周産期の神経炎症イベントにより、ミクログリアで産生される HPGDS が PGD₂ を産生し、それが樹状突起の複雑性低下、スパインの密度増加などの神経細胞形態の変化を引き起こし、自閉症様行動を引き起こすことが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hanaie R, Mohri I, Kagitani-Shimono K, Tachibana M, Matsuzaki J, Hirata I, Nagatani F, Watanabe Y, Katayama T, Taniike M	4. 巻 13
2. 論文標題 Aberrant Cerebellar-Cerebral Functional Connectivity in Children and Adolescents With Autism Spectrum Disorder.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Hum Neurosci.	6. 最初と最後の頁 454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnhum.2018.00454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Okuno H, Yamamoto T, Tatsumi A, Mohri I, Taniike M	4. 巻 -
2. 論文標題 Evaluation of Problem-Solving Training for Children with Autism Spectrum Disorder and Their Mothers.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Child and Adolescent Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Momoda M, Yoshizaki A, Nagatani F, Nishimura T, Taniike M, Mohri I.	4. 巻 -
2. 論文標題 Impaired executive function in junior high school students with excess sleep time.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vulnerable Children & Youth Studies.	6. 最初と最後の頁 116-128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/17450128.2019.1580404	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa R, Kagitani-Shimono K, Matsuzaki J, Tanigawa J, Hanaie R, Yamamoto T, Tominaga K, Hirata M, Mohri I, Taniike M	4. 巻 41
2. 論文標題 Abnormal Cortical Activation During Silent Reading in Adolescents with Autism Spectrum Disorder.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and Development.	6. 最初と最後の頁 234-244
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.braindev.2018.10.013. Epub 2018 Nov 15.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tachibana M, Mohri I, Hirata I, Kuwada A, Kimura-Ohba S, Kagitani-Shimono K, Fushimi H, Inoue T, Shiomi M, Kakuta Y, Takeuchi M, Murayama S, Nakayama M, Ozono K, Taniike M	4. 巻 41
2. 論文標題 Clasmatodendrosis is associated with dendritic spines and does not represent autophagic astrocyte death in influenza-associated encephalopathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and Development.	6. 最初と最後の頁 85-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2018.07.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanigawa J, Kagitani-Shimono K, Matsuzaki J, Ogawa R, Hanaie R, Yamamoto T, Tominaga K, Nabatame S, Mohri I, Taniike M, Ozono K.	4. 巻 18
2. 論文標題 Atypical auditory language processing in adolescents with autism spectrum disorder.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Neurophysiol.	6. 最初と最後の頁 31098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clinph.2018.05.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda T, Sofuku K, Matsunaga H, Tachibana M, Mohri I, Taniike M, Tomonaga K.	4. 巻
2. 論文標題 Prevalence of antibodies against Borna disease virus proteins in Japanese children with autism spectrum disorder.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiol Immunol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.12603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Y, Kagitani-Shimono K, Matsuzaki J, Hanaie R, Yamamoto T, Tominaga K, Watanabe Y, Mohri I, Taniike M.	4. 巻 16
2. 論文標題 White Matter Tract-Cognitive Relationships in Children with High-Functioning Autism Spectrum Disorder. Psychiatry Investigation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Psychiatry Investigation	6. 最初と最後の頁 220-233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.30773/pi.2019.01.16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuwada A, Mohri I, Asano R, Matsuzawa S, Kato-Nishimura K, Hirata I, Mitsuhoji T, Kagitani-Shimono K, Nakanishi M, Tachibana M, Ohno Y, Taniike M.	4. 巻 41
2. 論文標題 Japanese Sleep Questionnaire for Elementary Schoolers (JSQ-ES): validation and population-based score distribution.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sleep Medicine	6. 最初と最後の頁 69-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sleep.2017.07.025.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsuzaki J, Kagitani-Shimono K, Sugata H, Hanaie R, Nagatani F, Yamamoto T, Tachibana M, Tominaga K, Hirata M, Mohri I, and Taniike M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Delayed mismatch field latencies in autism spectrum disorder with abnormal auditory sensitivity: a magnetoencephalographic study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front Hum Neurosci.	6. 最初と最後の頁 446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnhum.2017.00446.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata E, Mohri I, Kato-Nishimura K, Iimura J, Ogawa M, Tachibana M, Taniike M.	4. 巻 65
2. 論文標題 Evaluation of behavioral change after adenotonsillectomy for obstructive sleep apnea in children with autism spectrum disorder.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Res Dev Disabil	6. 最初と最後の頁 127-139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ridd.2017.04.012.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda T, Sofuku K, Matsunaga H, Tachibana M, Mohri I, Taniike M, Tomonaga K.	4. 巻 70
2. 論文標題 Detection of Antibodies against Borna Disease Virus Proteins in an Autistic Child and Her Mother.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2017.E001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 桃田茉莉, 浅野良輔, 永谷文代, 宮川広美, 中西真理子, 安田由華, 柴田真理子, 橋本亮太, 毛利育子, 谷池雅子.	4. 巻 88
2. 論文標題 中学生対象日本語版 BRIEF 構成概念妥当性の検証と標準化.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 心理学研究	6. 最初と最後の頁 348-357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda T, Sofuku K, Matsunaga H, Tachibana M, Mohri I, Taniike M, Tomonaga K.	4. 巻 70
2. 論文標題 Detection of antibodies to Borna disease virus proteins in an autistic child and her mother .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Jpn J Infect Dis.	6. 最初と最後の頁 225-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2016.277	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hanaie R, Mohri I, Kagitani-Shimono K, Tachibana M, Matsuzaki J, Hirata I, Nagatani F, Watanabe Y, Fujita N, Taniike M.	4. 巻 9
2. 論文標題 White matter volume in the brainstem and inferior parietal lobule is related to motor performance in children with autism spectrum disorder: A voxel-based morphometry study.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Autism Res.	6. 最初と最後の頁 981-92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/aur.1605.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada T, Miura Y, Oi M, Akatsuka N, Tanaka K, Tsukidate N, Yamamoto T, Okuno H, Nakanishi M, Taniike M, Mohri I, Laugeson EA.	4. 巻 50
2. 論文標題 Examining the Treatment Efficacy of PEERS in Japan: Improving Social Skills Among Adolescents with Autism Spectrum Disorder.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Autism Dev Disord.	6. 最初と最後の頁 976-997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10803-019-04325-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murata E, Kato-Nishimura K, Taniike M, Mohri I.	4. 巻 16
2. 論文標題 Evaluation of the Validity of Psychological Preparation for Children Undergoing Polysomnography.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Sleep Med.	6. 最初と最後の頁 174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5664/jcsm.8158.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mizuno Y, Shimono- Kagitani K, Jung M, Makita K, Takiguchi S, Takashi X. Fujisawa, Tachibana M, Nakanishi M, Mohri I, Taniike M, Tomoda A.	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural Brain Abnormalities in Children and Adolescents with Comorbid Autism Spectrum Disorder and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transl Psychiatry.	6. 最初と最後の頁 332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-019-0679-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aoki S, Kagitani-Shimono K, Matsuzaki J, Hanaie R, Nakanishi M, Tominaga K, Nagai Y, Mohri I, Taniike M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Visual sensory abnormality and differences in responsiveness to visual stimuli in children with autism spectrum disorder: A magnetoencephalography study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurodevelop Disord.	6. 最初と最後の頁 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s11689-019-9266-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 早田 敦子, 奥田 健太, 毛利 育子, 橘 雅弥, 新谷 勇介, 菊池 泰河, 中澤 敬信, 谷池 雅子, 橋本 均
2. 発表標題 マウス新生仔へのプロスタグランジンD2受容体DP1作動薬による神経細胞の形態や行動への影響
3. 学会等名 日本臨床精神神経薬理学会・日本神経精神薬理学会合同年会プログラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hanaie R, Mohri I, Kagitani-Shimono K, Tachibana M, Nagatani F, Watanabe Y, Taniike M.
2. 発表標題 Aberrant cerebellar-cerebro functional connectivity in children and adolescents with autism spectrum disorder
3. 学会等名 INSAR 2018.
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tachibana M, Mohri I, Kagitani-Shimono K, Fushimi H, Inoue T, Kakuta Y, Murayama S, Nakayama M, Ozono K, Taniike M.
2. 発表標題 Clasmatodendrosis is associated with dendritic spines and does not represent autophagic astrocyte death in influenza-associated encephalopathy.
3. 学会等名 The International Society of Neuropathology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 奥田健太, 早田敦子, 毛利育子, 新谷勇介, 加茂俊彦, 中澤敬信, 谷池雅子, 橋本均
2. 発表標題 プロスタグランジンD2受容体DP1を介したマウス神経細胞の形態変化の解析
3. 学会等名 第132回 日本薬理学会 近畿部会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	谷池 雅子 (Taniike Masako) (30263289)	大阪大学・連合小児発達学研究所・教授 (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	早田 敦子 (Hayata Atsuko) (70390812)	大阪大学・連合小児発達学研究所・助教 (14401)	