

令和 5 年 5 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03563

研究課題名（和文）自閉症の発症メカニズムの解明と治療法の探索

研究課題名（英文）Elucidation of the developmental mechanism of autism and research for treatment

研究代表者

片山 雄太（Katayama, Yuta）

九州大学・生体防御医学研究所・助教

研究者番号：70725085

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：自閉症と自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder: ASD)の発症メカニズムを分子レベル・細胞レベルから理解することを目的として、発症メカニズムに基づいた治療法の開発を目指した。小脳顆粒細胞の異常は自閉症の行動異常に関与しないことを明らかにした。また、興奮性神経と抑制性神経の活性のバランスが変化していることが自閉症の原因であることが示唆された。神経抑制因子のRESTと阻害剤とオリゴデンドロサイトの機能を改善させる薬剤による治療法を検証したが、マウスの症状を改善させる薬剤の発見には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症は発症頻度が1%以上と高いうえに有効な治療法が確立されていないため、大きな医学的・社会的問題を生じている神経発達障害である。そこで発症原因の解明と治療法の開発が急務となっていることから、社会的にも研究成果に期待が大きい研究領域である。本研究ではオリゴデンドロサイトの異常が自閉症の発症原因の一つである一方で、小脳顆粒細胞の異常が社会性行動などの自閉症の主症状には関与しないことを報告した。一部の自閉症患者は運動機能の障害を示すことが知られるが、社会性行動の異常と運動機能の障害は発症メカニズムが異なることが示唆された。この発見は自閉症の理解を深め、治療戦略の開発に寄与すると期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to understand the pathogenic mechanism of autism, Autism Spectrum Disorder (ASD), from the molecular and cellular level, and to develop a treatment based on the pathogenic mechanism. We found that cerebellar granule cell abnormalities are not involved in behavioral abnormalities in autism. It was also suggested that the altered balance of excitatory and inhibitory neuronal activity is the cause of autism. They tested treatments with REST inhibitor and drugs that improve oligodendrocyte function, but were unable to find a drug that improved symptoms in mice.

研究分野：分子生物学

キーワード：自閉症 ASD CHD8

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

CHD8 は自閉症の有力な原因遺伝子候補として知られており、マウスモデルを用いた研究から CHD8 のヘテロ欠損が自閉症の原因になることが確認されている。これまでにオリゴデンドロサイトの異常が CHD8 の遺伝子変異による自閉症の原因の一つであることを報告していたが、オリゴデンドロサイトの異常だけでは自閉症の病態を完全に説明できるわけではないことから、オリゴデンドロサイトだけでなく複数の細胞種の関与が示唆されていた。

2. 研究の目的

自閉症の発症原因となる細胞種を同定し、自閉症の発症メカニズムを分子レベル・細胞レベルから理解することを目指し、明らかになった発症メカニズムに基づいた効果的な治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 自閉症の責任細胞種を特定する

神経細胞種特異的に CHD8 をヘテロ欠損するマウスモデルを作製し、行動解析実験を実施することで自閉症の発症に関わる責任細胞種の同定を試みた。

(2) 自閉症モデルマウスの脳細胞の遺伝子発現変化を一細胞レベルで明らかにする

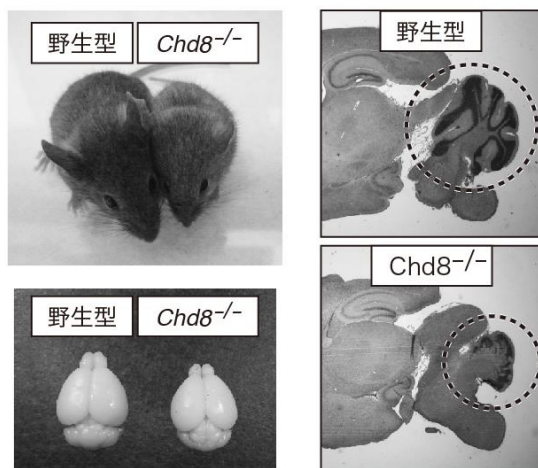
CHD8 ヘテロ欠損マウスの前頭前皮質領域をサンプルとして、シングルセル RNAseq 解析を用いて一細胞レベルの遺伝子発現変化を同定した。

(3) 治療法の探索

同定した発症メカニズムに基づいた治療法を探索する。まずはすでに自閉症との関連が明らかになったオリゴデンドロサイトをターゲットとして、オリゴデンドロサイトの機能を改善させる薬剤の投与実験をおこなった。

4. 研究成果

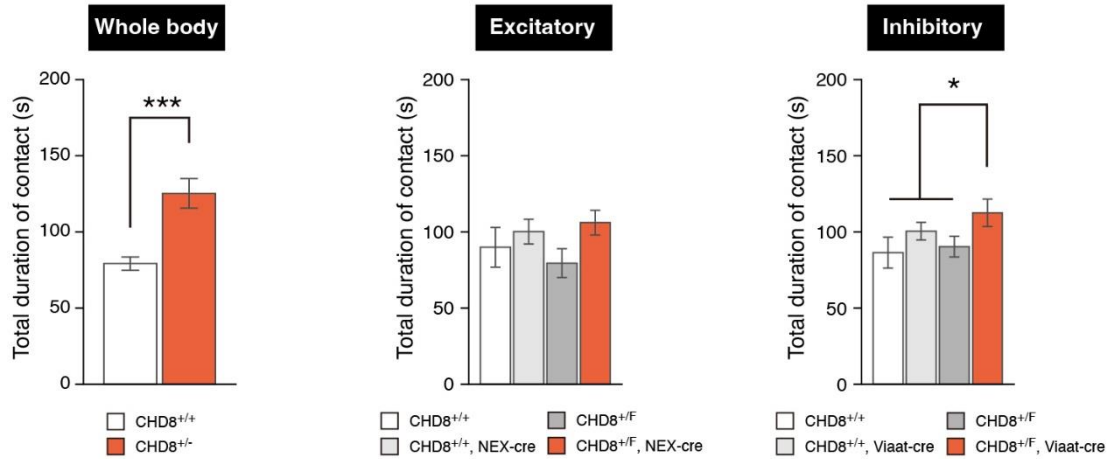
当初の予定通り、各脳細胞特異的に CHD8 をヘテロ欠損するマウスを作製し、このうち本研究期間では Nestin-cre, Atoh1-cre, NEX-cre, Viat-cre を用いて、それぞれ神経幹細胞、小脳顆粒細胞、興奮性神経、抑制性神経で CHD8 の遺伝子変異を誘導した。これらのマウスで行動解析バッテリーを実施し、自閉症様の行動異常の有無によって自閉症との関連を検証した。まず、神経幹細胞で CHD8 を欠損したマウスは特に小脳で顕著な形態異常を示すことから (図 1)、小脳と自閉症の関連を検証した。この結果、CHD8 の欠損は小脳顆粒細胞の細胞分化障害を引き起こすことが明らかになり、このマウスでは運動機能の低下が観察された。しかし、自閉症様の行動異常は見られないことから、小脳の発達障害は CHD8 の遺伝子変異を原因とする自閉症の主症状には関与していないことが明らかになった。次に興奮性神経と抑制性神経に着目したところ、興奮性神経特異的に CHD8 をヘテロ欠損したマウスでは自閉症の代表的症状である社会性行動の異常が見られないのに対して、抑制性神経特異的に CHD8 をヘテロ欠損したマウスは社会性行動の異常が認められた (図 2)。この結果から特に抑制性神経の障害が自閉症の発症に関わっていると推測され、興奮性神経と抑制性神経の活性のバランス (E/I バランス) の変化が自閉症の原因であることが示唆された。



【図 1】 神経幹細胞特異的 CHD8 変異マウス

Nestin-cre マウスと交配し、神経幹細胞特異的な CHD8 欠損マウスを作製すると、脳の低形成を示し生後 1-2 週で死亡する。特に小脳構造の異常が顕著に見られる。

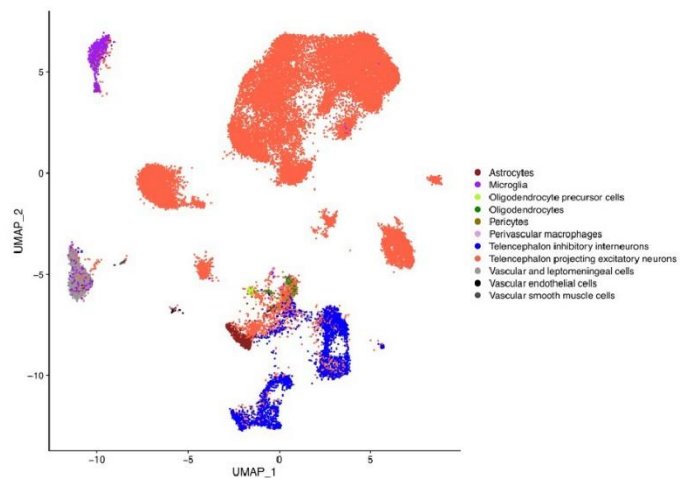
抑制性神経特異的に CHD8 をヘテロ欠損したマウスは社会性行動の異常が認められた (図 2)。この結果から特に抑制性神経の障害が自閉症の発症に関わっていると推測され、興奮性神経と抑制性神経の活性のバランス (E/I バランス) の変化が自閉症の原因であることが示唆された。



【図2】 抑制性神経特異的に CHD8 をヘテロ欠損したマウスは自閉症様の行動異常を示した

次に遺伝子発現の変化を一細胞レベルで観察するため、CHD8ヘテロ欠損マウスの前頭前皮質領域をサンプルとしてシングルセルRNAseq解析を実施し(図3)、得られたデータから細胞の分類をおこなった後に興奮性神経と抑制性神経における遺伝子発現変化を解析した。この結果、CHD8のヘテロ欠損によって興奮性神経と抑制性神経のいずれにおいても神経細胞の細胞分化の障害と神経細胞活性の低下が起こっていることを示唆するデータが得られた。

最後にCHD8ヘテロ欠損マウスに治療薬候補の投与実験を実施し、自閉症様行動異常の改善を指標に有効性を評価した。本研究ではCHD8ヘテロ欠損マウスの脳内で異常活性化していることが示唆される神経細胞の分化抑制因子であるRESTの阻害剤であるX5050とオリゴデンドロサイトの機能改善が見込まれる薬剤であるClemastine, Solifenacin, 4-Aminopyridineの投与実験を実施した。残念ながらいずれの薬剤においても自閉症様の行動異常を改善する効果は観察されなかったが、これらの薬剤によるRESTの阻害効果やオリゴデンドロサイトの機能促進効果が期待するレベルに達していなかったことから、より活性の高い薬剤を探索することが必要であると考えている。



【図3】 シングルセルRNAseq解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kawamura Atsuki, Katayama Yuta, Nishiyama Masaaki, Shoji Hirotaka, Tokuoka Kota, Ueta Yoshifumi, Miyata Mariko, Isa Tadashi, Miyakawa Tsuyoshi, Hayashi-Takagi Akiko, Nakayama Keiichi I	4. 巻 29
2. 論文標題 Oligodendrocyte dysfunction due to Chd8 mutation gives rise to behavioral deficits in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1274 ~ 1291
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddaa036	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 Kawamura Atsuki, Abe Yoshifumi, Seki Fumiko, Katayama Yuta, Nishiyama Masaaki, Takata Norio, Tanaka Kenji F., Okano Hideyuki, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 13
2. 論文標題 Chd8 mutation in oligodendrocytes alters microstructure and functional connectivity in the mouse brain	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 160 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00699-x	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 Kawamura Atsuki, Katayama Yuta, Kakegawa Wataru, Ino Daisuke, Nishiyama Masaaki, Yuzaki Michisuke, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 35
2. 論文標題 The autism-associated protein CHD8 is required for cerebellar development and motor function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108932 ~ 108932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108932	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 Nita Akihiro, Muto Yoshiharu, Katayama Yuta, Matsumoto Akinobu, Nishiyama Masaaki, Nakayama Keiichi I.	4. 巻 34
2. 論文標題 The autism-related protein CHD8 contributes to the stemness and differentiation of mouse hematopoietic stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108688 ~ 108688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108688	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白石 大智, 片山 雄太, 西山 正章, 真柳 浩太, 神田 大輔, 浦 聖恵, 鯨井 智也, 胡桃坂 仁志, 中山 敬一
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子CHD8の機能異常によるASD発症の分子基盤の解明
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 片山 雄太
2. 発表標題 クロマチンリモデリング障害によって発症するASDの分子病態
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------