

令和 6 年 5 月 19 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07327

研究課題名(和文) 自閉スペクトラム症における興奮性/抑制性バランス不均衡の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of Excitatory and Inhibitory imbalance in Autism Spectrum Disorders

研究代表者

半野 陽子 (Hanno, Yoko)

東海大学・医学部・特定研究員

研究者番号：50451860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ASDモデルマウスで特定のサブタイプの抑制性神経細胞が減少すること、それには神経細胞の発生や分化に重要な分子シグナルの活性増加が重要であることを見出した。その分子シグナルを抑制する薬剤をASDマウスへ投与すると、神経細胞の減少とASD症状がともに回復した。一方で、その抑制性神経細胞を標的とした分子シグナルの抑制を行うとASD症状のうち社会性行動のみを回復したことから、ASDマウスで見られる発生時期特異的分子シグナルの増加と、それに伴う特定サブタイプの神経細胞の減少がASD中核症状の社会性行動の異常に重要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、異なる二種類のASDの環境的要因によるモデルマウスにおいて、E/Iバランスの異常の原因となる発生時期特異的な大脳皮質の特定の抑制性神経細胞が減少する分子メカニズムの一端が明らかとなった。全く異なる環境リスク要因で共通であることから、ASD発症に共通する分子シグナルの変化である可能性が考えられる。また、ASDモデルマウスに対し発生や分化に重要な分子シグナルを脳発生期で制御することによって神経細胞の異常やASDの中核症状の改善が見られたことから、将来のASD治療に繋がる可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：I found that a subtype of inhibitory neurons decreased in ASD model mice, and that increased activity of a molecular signal necessary for neuronal development and differentiation is important for this. When a drug that suppresses this molecular signal was administered to ASD mice, both the decreased number of these neurons and ASD symptoms were restored. However, suppressing molecular signals targeting these neurons recovered only social behavior of ASD symptoms. These data suggested that the increase in these molecular signals in ASD mice during development and the accompanying decrease in specific subtypes of neurons are important for the abnormalities in social behavior that is a core symptom of ASD.

研究分野：神経科学

キーワード：自閉スペクトラム症 環境的要因 E/Iバランス 抑制性神経細胞 分化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症 (ASD) は「社会的コミュニケーションの障害」「行動や興味の偏り」という中核症状を示す先天的な神経発達症である。これまで数多くの遺伝子の変異が原因として報告されており、ASD の半数以上が遺伝的要因で発症することが見積もられているが、発症への関与が決定的な遺伝子について明らかではない。また遺伝的要因に加えて、胎生期の母胎へのウイルスや細菌の感染、薬剤曝露などの環境的因子が ASD 発症に関与するという報告があることから、環境的要因も ASD の発症への関与が大きいことが示唆されている。近年 ASD のモデル動物において、神経活動の興奮性と抑制性のバランス (E/I バランス) の不均衡が報告されてきたことから、これが ASD 病態の本質的な変化である可能性が考えられている。

2. 研究の目的

本研究では、ASD の原因となる環境的要因を模倣した刺激を付加することで ASD の病態を反映するモデルマウスを用いて、E/I バランス異常の原因となる分子シグナルの実態を明らかにする。異なった環境リスクを原因とする ASD の共通性を細胞レベルから個体レベルまで解析することで、ASD 発症に関連する普遍的な分子メカニズムの解明を目指すとともに、ASD の予防や治療の可能性を探るため、ASD モデルに対しその分子シグナルを制御することによる症状の改善を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、臨床的にてんかん治療薬として汎用されるバルプロ酸などを曝露する薬剤曝露型の ASD モデルマウスと、poly(I:C)などを曝露してウイルスや細菌感染を模倣する母体免疫活性化型の ASD モデルマウスを作製した。特定の細胞に選択的なコンディショナルノックアウトを Cre/loxP システムで作製した。ASD モデルマウスの胎生期から成長後までの脳組織、あるいは胎児脳由来の初代培養細胞を用いたゲノム編集による特定分子のノックダウン検体を用い、RNA-seq などの生化学的解析を行った。また、モデルマウスに ASD 様行動学的試験を行った後、その脳組織を用いた形態学的解析を行った。

4. 研究成果

(1) ASD の環境的要因が抑制性神経細胞を選択的に減少させる分子メカニズムの同定

薬剤曝露型および母体免疫活性化型および ASD モデルマウスにおいて、大脳皮質の抑制性神経細胞サブタイプの一つである VIP 陽性神経細胞が選択的に減少していること、胎生期の脳を用いた RNA-seq 解析により、両モデルで変動し神経細胞の分化を制御する有力な候補分子の一つとして Notch を同定した (図 1)。Notch シグナルは脳領域において神経前駆細胞で働き細胞分化/未分化を制御する代表的な分子であることから、胎生期の VIP 陽性抑制性神経細胞の分化に関与する可能性が高いと考えられる。そこで次にゲノム編集による Notch ノックダウンシステムなどを用いて、初代培養細胞において Notch1 の発現レベルの変動が VIP 陽性抑制性神経細胞への分化を制御することを明らかにした。

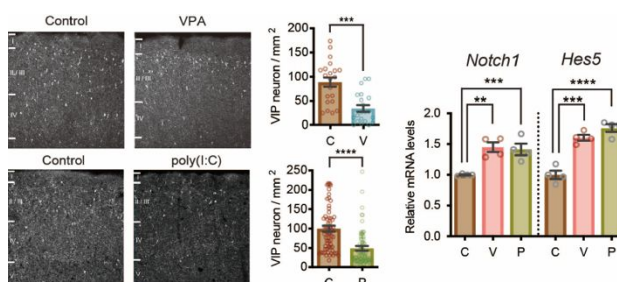


図 1 ASD モデルにおける VIP 陽性抑制性神経細胞と Notch シグナルの変化

薬剤曝露で使用する薬剤の薬理作用の一つがヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs) 阻害であることから、選択的 HDACs 阻害剤を用いてモデルマウスと同様の方法で胎生期の薬剤曝露を行った。このうち HDAC3 特異的阻害剤の曝露によって、ASD モデルマウスに類似した胎生脳および成熟脳の病態変化だけでなく、ASD 様行動 (社会性行動異常・常同行動) が見られた (図 2)。

このことから、薬剤曝露型 ASD モデルでは選択的に HDAC3 の機能が阻害されており、HDAC3 からエピジェネティック制御を受ける遺伝子の発現変化が ASD を引き起こす可能性がある。胎生期の特定の時期での HDAC3 の阻害は、VIP 陽性抑制性神経細胞の前駆細胞における細胞の未分化性の保持に関わる分子 Notch1 の発現や活性を増加させることによって、VIP 陽性抑制性神経細胞への分化抑制に関与すると考えられる。

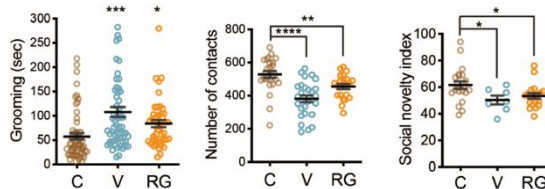


図 2 HDAC3 選択的阻害剤 (RG) の胎生期曝露で ASD 様行動異常が見られる

(2) ASD モデルマウスの細胞特異的な Notch 阻害による神経細胞の異常と ASD 行動の回復

上述のように、ASD モデルマウスで見られる VIP 陽性抑制性神経細胞の減少と ASD 様行動は Notch 発現の増加により起こる可能性が高いと考えられるため、マウス個体レベルでの Notch 活性化の阻害によってこれらの表現型がレスキューできるか検討した。

ASD モデルマウスの胎生期に Notch 産生を抑制する薬剤を投与した脳検体を用いたシングルセル RNA-seq 解析によって、VIP 細胞だけでなく ASD モデルマウス脳で見られた細胞系譜の乱れがほぼ完全に元通りに回復することが判明した。さらに行動試験でも、ASD 様行動(社会性行動・常同行動)が共に回復することを明らかにした(図3)。

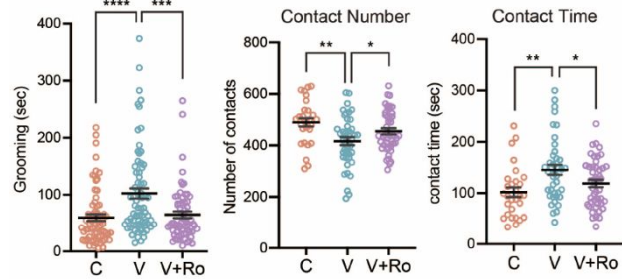


図3 Notch 産生阻害剤 (Ro) の投与により ASD 様行動異常が改善する

次に、VIP 陽性抑制性神経細胞に選択的な Cre Tg マウスを用いた Notch コンディショナルノックアウトマウスを用いて薬剤曝露型 ASD モデルを作製し、上記と同様の検討を行った。この VIP 細胞特異的 Notch ノックアウトマウスで作製した ASD モデルにおいて、VIP 陽性抑制性神経細胞数は WT と同程度のレベルに回復していることが確認されたが、RNA-seq 解析からは ASD モデルで見られた遺伝子発現変動からの回復は一部の遺伝子のみであることが判明した。さらに ASD 様行動試験において、社会性行動は回復したが、常同行動の異常は回復しなかった(図4)。

これらの結果から、ASD モデルマウスで見られる VIP 陽性抑制性神経細胞数の異常は、常同行動ではなく社会性行動の異常に関連することが示唆される。両 ASD モデルに共通した発生時期特異的な Notch シグナルの変動により分化制御される一部のサブタイプの抑制性神経細胞数のみの変動が ASD 発症に重要であることを明らかにした。

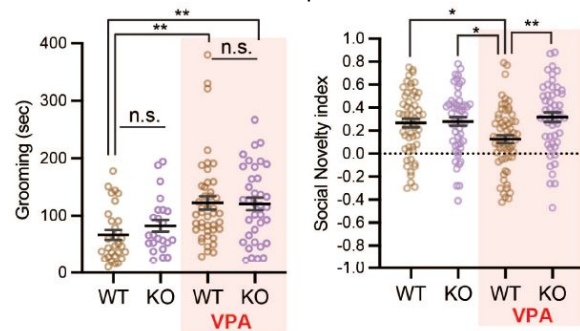


図4 CGE 選択的 Notch コンディショナルノックアウトマウスで ASD 様行動のうち社会性行動のみ改善が見られる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------