

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07535

研究課題名（和文）自閉症モデル霊長類の非侵襲脳イメージングを用いる治療薬の探索

研究課題名（英文）Non-invasive brain imaging in a primate model of autism for exploration of therapy

研究代表者

渡邊 恵（Watanabe, Satoshi）

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 微細構造研究部・室長

研究者番号：80302610

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：自閉スペクトラム症（ASD）の脳では炎症やシナプス機能異常などが示唆されているが、ヒトでの知見は限られている。本研究ではヒトのASDをよく再現するマーモセットの胎生期バルプロ酸曝露モデルにおいて、ミクログリア活性化のマーカーであるTSPOとAMPA型グルタミン酸受容体のリガンドを用いるPET撮像を行った。TSPOリガンドの結合は一部の領域で変化がみられたが、変化は比較的弱かった。AMPA型受容体のリガンド結合には変化がみられなかった。ASDモデルの脳のトランスクリプトームはヒトASDのサブタイプと高い相関を示したことから、このモデルはASDの病態解析に有用と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でマーモセットにおいてミクログリアの活性化のマーカーであるTSPOのPETイメージングが可能であることが示された。バルプロ酸マーモセットのトランスクリプトームはヒトASDの炎症フェノタイプの強いサブタイプをよく再現していることから、マーモセットモデルで得られた知見はヒトのASDのサブタイプに適用できる可能性がある。今後さらに解析を進めることにより、ASDの病態の解明や、診断法および治療薬の開発に役立つと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Inflammation and synaptic dysfunction have been suggested in the brains of individuals with autism spectrum disorder (ASD), but studies in human cases are limited. The marmoset model with prenatal valproic acid exposure closely recapitulates human ASD. In this study, PET imaging was performed in this model using ligands for TSPO, a marker of microglial activation, and AMPA-type glutamate receptor. TSPO ligand binding was slightly altered in some areas of the ASD model. Ligand binding of AMPA-type receptors was not altered. The brain transcriptome of the ASD model correlated well with a human ASD subtype, suggesting that this model may be useful in the analysis of ASD pathology.

研究分野：神経科学

キーワード：自閉スペクトラム症 マーモセット 陽電子放出断層撮影 シナプス ミクログリア バルプロ酸 トランスクリプトーム

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) は有病率が高く、治療法の確立が望まれている。ASD の脳ではシナプス機能の異常や炎症を含むさまざまな病態の存在が示唆されているが、ヒトでの知見は限られており、動物モデルによる研究が必要である。小型霊長類マーモセットの ASD モデルである胎生期バルプロ酸曝露モデル (バルプロ酸マーモセット) はヒトの ASD に類似した社会性の異常を示す (Yasue et al. 2015, 2018)。このモデルを用いて脳画像により脳病態を計測できれば、脳病態の理解が進むとともに、治療薬の評価を効率的に行えるようになることが期待される。活性化ミクログリアのマーカである translocator protein (TSPO) および興奮性シナプスを構成する AMPA 型グルタミン酸受容体のリガンドを用いる陽電子放出断層撮影 (PET) により、炎症やシナプス異常の可視化が可能になると考えられる。さらに細胞形態解析や遺伝子発現解析を行うことにより、脳画像で得られた病態や薬物の効果の背後にある細胞・分子メカニズムを明らかにできると考えられる。

2. 研究の目的

ヒトの ASD 病態をよく再現していると考えられるバルプロ酸マーモセットにおいて、脳のミクログリアの活性化およびシナプスの異常を脳画像によって可視化することは、ASD の病態解明に貢献できると考えられる。そこで本研究ではこれらの病態に関する PET イメージング法を確立し、治療薬開発への応用可能性を評価することを目的とした。

3. 研究の方法

妊娠マーモセットに妊娠 60 日から 7 日間バルプロ酸 (200 mg/kg) を胃内投与し、生まれた仔の成体 (3~4 歳齢) を用いた。バルプロ酸に曝露されていない個体をコントロール個体として用いた。イソフルラン麻酔下で、ミクログリア活性化のマーカとされる translocator protein (TSPO) のリガンドである [11C]PBR28、および AMPA 型グルタミン酸受容体のリガンドである [11C]K-2 (Miyazaki et al. 2020) を投与し、小動物用 PET (島津製作所、Clairvivo PET) で撮像した。その後引き続き CT 画像を撮像した。

はじめに少数のコントロール個体を用いて、撮像条件の検討を行った。TSPO リガンドについては、1 回目の撮像後に炎症を誘発するリポ多糖を投与してから再度撮像を行った。

その後、各リガンドを用いて、コントロールとバルプロ酸マーモセットをそれぞれ数匹を撮像した。画像データは 3D Slicer ソフトウェアを用いて標準脳 (Marmoset Brain Mapping, Version 3) に対してレジストレーションを行った。これによって、コントロールとバルプロ酸マーモセットの間でのリガンド結合の違いを解析した。

4. 研究成果

(1) バルプロ酸マーモセットにおける TSPO リガンドを用いる PET イメージング

マーモセットを麻酔して小動物用 PET 装置に固定し、静脈内に [11C]PBR28 を約 45 MBq 投与して 90 分間撮像を行った。その結果、脳を中心に明瞭なリガンド結合が記録された。次に炎症誘発物質であるリポ多糖 (0113 由来、4 ng/kg) を静脈内に投与し、再度撮像を行ったところ、脳全体でリガンド結合の顕著な増加が認められた。したがって [11C]PBR28 によりミクログリアの活性化を測定できることが示唆された。

次にコントロール 7 匹と、バルプロ酸マーモセット 6 匹を用いて測定を行った。リガンド投与後 60~90 分におけるリガンド結合を脳全体で規格化した値は、コントロールに比べてバルプロ酸マーモセットでわずかに高かったが、有意ではなかった。皮質下のリガンド結合で規格化した場合、バルプロ酸マーモセットで 8%程度高く、有意であった。しかし脳の外部にも比較的強いシグナルがみられ、これが脳表に近い一部の領野のシグナルに影響を与えている可能性が考えられたことから、結論を出すにはさらに詳細な検討が必要と考えられた。

ヒトでは TSPO の 147 番アミノ酸の多型により [11C]PBR28 を含む TSPO リガンドの親和性が異なることが知られている。そこで測定に用いた全マーモセットのゲノム DNA を抽出し、TSPO のエクソン配列を解析した結果、配列はすべて同一で、147 番アミノ酸がアラニンである高親和性型であった。

バルプロ酸マーモセットにおいては、ミクログリア形態の異常が報告されている (Sanagi et al. 2019)。過去のヒトの ASD における PET 研究には、TSPO リガンドの結合の増加を示したものの、減少を示したものの、両者の混在を示したものが存在している (Suzuki et al. 2013, Zurcher et al. 2020, Simpson et al. 2022)。本研究の結果は ASD モデルマーモセットにおいても TSPO が影響を受けている可能性を示しているが、さらに検討が必要である。

(2) バルプロ酸マーモセットにおける AMPA 受容体リガンドを用いる PET イメージング
マーモセットを麻酔して小動物用 PET 装置に固定し、静脈内に¹¹C]K2 を約 45 MBq 投与して 90 分間撮像を行い、脳においてリガンド結合が記録できることを確認した。そこでさらにコントロール 5 匹と、バルプロ酸マーモセット 6 匹のデータを取得した。白質を参照領域としてコントロールとバルプロ酸マーモセットの間でリガンド結合の比較を行ったが、有意な差が認められる領域はなかった。

バルプロ酸マーモセットではシナプス密度の増加と、シナプス形態およびシナプス伝達の異常がみられる (Watanabe et al. 2021)。したがって AMPA 受容体にも影響が生じていることが予想される。今後、他の測定方法も含めて検討が必要と考えられる。

(3) 自閉症モデルマーモセットにおける脳トランスクリプトームの解析

バルプロ酸マーモセットの脳皮質のトランスクリプトーム解析を行ったところ、ミクログリア特異的遺伝子や炎症関連遺伝子の発現増加がみられた (Watanabe et al. 2021, Noguchi et al. 2024)。この中には TSPO 遺伝子も含まれていた。

ヒト ASD の死後脳トランスクリプトーム (Parikshak et al. 2016) では遺伝子発現に多様性が高く、強い発現変動を示すものと、発現変動の弱いものがあることがわかった。そこでクラスタリングを行い、3つのサブタイプに分けたところ、そのうちの一つのサブタイプがミクログリア特異的遺伝子や炎症関連遺伝子の顕著な発現増加を示した。これとバルプロ酸マーモセットのトランスクリプトームを比較すると、両者はよく一致することがわかった。したがって、バルプロ酸マーモセットの炎症フェノタイプはヒト ASD の一つのサブタイプを再現していることが示唆された。

(4) まとめ

PET イメージングによりマーモセットの脳でミクログリア活性化のマーカーと AMPA 型グルタミン酸受容体の撮像を行うことができた、バルプロ酸マーモセットとコントロールの間の違いは比較的小さく、結論を出すには解析法のさらなる検討が必要と考えられた。脳のトランスクリプトームはバルプロ酸マーモセットとヒト ASD のサブタイプとの類似性を示していることから、バルプロ酸マーモセットにおける詳細な病態解析により ASD の病態理解や治療法の開発が進むと考えている。

< 引用文献 >

- Miyazaki et al. *Nat. Med.* 26: 281-288 (2020)
- Noguchi et al. *Commun. Biol.* 7: 642 (2024)
- Parikshak et al. *Nature* 540: 423-427 (2016)
- Sanagi et al. *Front. Cell. Neurosci.* 13: 344 (2019)
- Simpson et al. *Neuropsychopharmacology* 47: 1421-1427 (2022)
- Suzuki et al. *JAMA Psychiatry* 70: 49-58 (2013)
- Watanabe et al. *Nat. Commun.* 12: 5388 (2021)
- Yasue et al. *Behav. Brain Res.* 292: 323-326 (2015)
- Yasue et al. *Behav. Brain Res.* 343: 36-40 (2018)
- Zurcher et al. *Mol. Psychiatry* 26: 1659-1669 (2021)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊恵、小賀智文、中垣 慶子、一戸紀孝
2. 発表標題 マーモセット自閉症モデルとヒト自閉症サブタイプおよび15q重複症候群のトランスクリプトームの類似性
3. 学会等名 BPCNP4学会合同年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Watanabe, Tomofumi Oga, Keiko Nakagaki, Noritaka Ichinohe
2. 発表標題 Transcriptomic similarity of marmoset autism model and human autism subtypes/15q duplication syndrome suggests convergent mechanisms for genetic and environmental factors
3. 学会等名 NEUR02022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊恵
2. 発表標題 早期治療介入を目指したマーモセット自閉症モデルの病態解析
3. 学会等名 第13回自閉症学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊恵、小賀智文、中垣慶子、一戸紀孝
2. 発表標題 バルプロ酸誘発性自閉症モデルマーモセットによるヒト自閉症病態の再現
3. 学会等名 第11回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊恵、小倉淳、加藤孝一、中垣慶子、土屋明子、野口潤、磯田李紗、小賀智文、一戸紀孝
2. 発表標題 自閉症モデルマーマセットの脳皮質トランスクリプトームとPET画像から示唆されるヒト自閉症のサブタイプ
3. 学会等名 第46回神経科学大会
4. 発表年 2023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