

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16150

研究課題名（和文）炎症・セロトニン・体内時計の生理的共役を基盤とした発達障害の病態解明

研究課題名（英文）Pathogenesis of developmental disorders based on the physiological coupling between inflammation, serotonin and circadian clock

研究代表者

今村 聖路（Imamura, Kiyomichi）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：20866074

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）：妊娠中の母親における過剰な免疫反応の活性化は出生児の発達障害リスクを増大させるが、その仕組みには未解明な部分が多い。発達障害児においてしばしば体内時計の乱れが観察されることから、過剰な免疫反応を誘発した周産期マウスを材料に、母体免疫・発達障害・体内時計の3者の関係に迫った。本研究においては、出生児の発達障害リスクを高める因子として知られるIL-17aを周産期マウスに高発現させる実験系を構築した。母体免疫活性化マウスより生まれた仔マウスにおける概日性行動リズムは、対照群と比べて長周期化する傾向が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠中の感染症は胎児の発達に深刻な影響を与え、その機構については不明な点が多い。本研究においては、母体感染が引金となる発達障害発症の過程として体内時計（概日時計）の破綻を想定した。マウス母体における免疫反応を活性化させることにより擬似的に感染症を模倣し、出生児における行動リズムを測定したところ、その行動リズム周期が延長する傾向にあることを見出した。本成果は母体感染が発達障害発症を引き起こす過程に迫る上での動物モデルの基盤となりうる。

研究成果の概要（英文）：Excessive maternal immune activation (MIA) during pregnancy increases the risk of developmental disorders in the offsprings. However, most of underlying mechanisms of it are still obscure. As a disruption of the circadian clock is often observed in the pups with developmental disorders, the relationship between MIA, developmental disorders and the circadian clock was investigated using perinatal mice in which an excessive immune activation was artificially induced. In the present study, we established an experimental condition in which perinatal mice highly express IL-17a, which is known to be a factor that increases the risk of developmental disorders in newborns. The circadian behavioral rhythms in those pups born from MIA mouse tended to show longer period than in the controls.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日時計 体内時計 母体免疫活性化 炎症

1. 研究開始当初の背景

妊娠中の感染症は胎児の発達に深刻な影響を与えうる。興味深い点は、この現象が特定種の感染に限定されておらず、様々なウイルス、細菌、寄生虫の母体感染によって出生児の発達障害リスクが増大することである。すなわち、母体の免疫活性化 (Maternal Immune Activation; MIA) とそれに伴った炎症反応そのものが発達障害の引き金となることが示唆される (Estes and McAllister, *Science*, 2016)。実際に、自然免疫を活性化する合成 2 本鎖 RNA アナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を周産期マウス母体に投与して擬似ウイルス感染を誘発することにより、仔マウスの発達障害を誘導する実験モデルが提唱されている (Yim *et al.*, *Nature*, 2017; Kim *et al.*, *Nature*, 2017)。しかし、周産期母体の MIA および炎症反応が胎児の発達障害を誘発する機構については不明な点が多い。

2. 研究の目的

MIA と発達障害のリスク増大は未だ「風が吹けば桶屋が儲かる」という関係に過ぎないが、様々な先行知見をもとに考察すると、このブラックボックスを解明する鍵は脳幹部障害によるセロトニン神経系の発達異常と、概日時計機構の破綻にあると推察される。例えば、自閉症児においてはセロトニン神経系の発達に異常が観察され、脳内のセロトニン量が健常児に比べ減少している (Chugani, *Mol. Psychiatry*, 2002; Takumi and Tamada, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 2018)。また、セロトニン神経系の発達異常は概日時計および睡眠・覚醒サイクルの異常を招くことが示唆されている (Paulus and Mintz, *Physiol. Behav.*, 2012)。同様に、自閉症を含む多くの発達障害患者において概日リズムの破綻が観察される (Ciarleglio *et al.*, *Neuroscience*, 2011)。さらに、多くの自閉症患者において、セロトニン産生・分泌に重要な役割を果たす脳幹部の形態異常が観察されることが古くは 1980 年代より報告されている (Gaffney *et al.*, *Biol. Psychiatry*, 1988; Hashimoto *et al.*, *J. Autism. Dev. Disord.*, 1995)。中枢神経系におけるセロトニン量は概日時計の制御を受けて日周変動している一方で、セロトニンは光入力による時計位相調節を負に制御することが知られており、セロトニン動態と概日時計機構は相互に影響を与え合う関係にあると言える (Morin and Allen, *Brain Res. Rev.*, 2005)。

これらの知見を統合し、本研究においては母体感染が胎児の発達障害を誘発する機序として、i) 母体炎症による胎児の脳幹部障害、ii) セロトニン神経系の発達異常、iii) 概日時計 (睡眠サイクル) の破綻、iv) 発達障害に特有の行動異常の発現、という経過を想定する。発達障害の発症に遺伝要因が関与していることは明らかであり、発症に関与する遺伝子が多数同定されているが、その一方で環境要因の関与も示唆されている。そこで、本研究における仮説の検証には環境要因としての MIA モデルマウスを用い、まずは出生児における概日リズムの乱れの有無を検討する。一連の実験を通して、環境要因に起因する発達障害の病態の理解を目指す。

3. 研究の方法

MIA モデルマウスとして、周産期マウス母体の腹腔内に poly I:C を注射して擬似ウイルス感染を起こした。また別の MIA モデルとして、胎児における発達障害の誘発の直接的な引き金になると考えられている IL-17 α を周産期マウス母体に対して過剰発現させる方法を模索した。免疫反応の無秩序な活性化を抑え、かつ導入遺伝子を安定に発現させることが可能な CpG 配列フリーの発現プラスミドベクターを用い、眼窩静脈叢投与 (retro-orbital injection) あるいは尾静脈からの注射による遺伝子導入を試みた。IL-17 α の発現が上昇した母体より出生したマウスにおける概日性行動リズムの検出を試みた。

4．研究成果

poly I:C の投与によっては、母体における免疫活性化が必ずしも誘発されず、しばしば胎児の大半が死産してしまった。この原因については、マウスの系統による違いが影響するなどの説が提唱されているが、詳細は世界的にも議論の最中である。そこで代替案として、IL-17 α を周産期マウス母体に対して過剰発現させる方法を模索した。CpG 配列フリーの発現プラスミドベクターを用い、眼窩静脈叢投与 (retro-orbital injection) によって IL-17 α をマウス個体に高発現させる実験系を構築した。ところが、この手法によるマウス血中での IL-17 α の発現レベルは芳しくなかった。そこで、さらなる代替案として周産期母体マウス尾静脈からの核酸の注射による遺伝子導入を試みた。本手法により、周産期母体マウスにおける血中 IL-17 α 濃度の顕著な上昇を確認した。IL-17 α の発現が上昇した母体より出生したマウスにおける概日性行動リズムの検出を試みたところ、母体における IL-17 α 誘導量に相関して出生児の行動リズムが長周期化する傾向にあることを見出した。

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
連携研究者	内匠 透 (TAKUMI Toru) (00222092)	神戸大学・大学院医学研究科・教授 (14501)	

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
---------	---------