

令和 5 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15275

研究課題名（和文）細胞種レベルの解像度で迫る、胎児性アルコールスペクトラム障害の発症メカニズム

研究課題名（英文）Fetal Alcohol Spectrum Disorder Pathogenesis Mechanisms Approached With Cell Species-Level Resolution

研究代表者

沖川 沙佑美（Okigawa, Sayumi）

京都大学・医生物学研究所・助教

研究者番号：60883303

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）：妊娠中の母親のアルコール摂取は、胎児の発育や脳に悪影響を与え、胎児性アルコールスペクトラム障害（FASD）を引き起こす。FASDの発症機構は不明であり、治療法も確立されていない。本研究はFASDマウスを用い、アルコールが胎児脳に与える影響を明らかにすることを目的とした。アルコール暴露量を厳密に制御したFASDマウスを作製し、行動実験やCTによる顔貌評価、脳の組織学的解析を実施した。結果、ヒトFASDガイドラインの診断基準になっているヒトの症状および行動レベルを模倣したモデルマウス作製に成功した。また上記評価技術確立により、胎児へのエタノール暴露量と行動異常の相関および脳への影響を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

1800年代よりアルコールが及ぼす胎児への影響は問題視され、多くの研究がなされてきた。しかし胎児へのアルコール移行濃度を詳細に評価した研究はこれまでに実施されていない。本研究はFASDマウスモデルを作製し、マウス胎児へのアルコール移行量を、胎児脳および血中サンプルより厳密に評価した。作製したモデルマウスはヒトFASDの診断基準になっているヒトの症状および行動レベルを模倣していることから、今後のFASD研究への汎用性が高い。胎児へのエタノール暴露量の評価やFASD症状の評価技術は、疾患モデルマウス作製と評価への展開が期待されるため、科学的な意義に加え、医学および薬学的意義も高いと考える。

研究成果の概要（英文）：Drinking during pregnancy affects fetal development and the brain and causes a group of conditions, called Fetal alcohol spectrum disorder (FASD). The FASD pathogenesis is still unknown and no treatment has been established. So the purpose of this study was to clarify the effects of alcohol on the fetal brain using FASD mice.

We created the FASD mice under the strict controlling of alcohol exposure. Using the mice, we performed behavioral experiments, facial evaluation by head CT and histological analysis of the brain. These were evaluated based on the diagnostic criteria of the human FASD guidelines. As a result, we succeeded in creating a model mouse that mimics human symptoms and behavioral levels based on the diagnostic criteria of the human FASD guidelines. And by establishing the above evaluation technique, we clarified the correlation between the amount of ethanol exposure to the fetus and behavioral abnormalities, as well as the effects on the brain.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 胎児性アルコールスペクトラム障害 マウス行動解析

1. 研究開始当初の背景

妊娠中の母親がアルコールを摂取すると、胎児の発育や脳に悪影響を与え、胎児性アルコールスペクトラム障害(fetal alcohol spectrum disorder ; FASD)を引き起こす。特に中枢神経系への影響は、学習障害や認知・行動障害などの恒久的な障害に繋がる。これらは胎児性アルコールスペクトラム障害 (FASD)と総称され、症状が生涯にわたり続く。近年、出産・育児年代の女性の飲酒者が著しく増加していること、FASD が若者の暴力犯罪・反社会的行動の一因となっていることから社会的にも問題視されている。FASD を発症した子どもは長期にわたり苦しむため、アルコールが胎児脳に与える影響は長年指摘されているが、アルコール暴露量と FASD の症状の関係および FASD の発症機構は未だ不明であり、その治療法も確立されていない。

2. 研究の目的

本研究では、アルコール暴露量を厳密にモニタリングした FASD モデルマウスを作製し、アルコールが胎児脳に与える影響や各種障害との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

FASD マウスの作製

C57BL/6 妊娠マウスにエタノール (低濃度あるいは中濃度)を 1 日 1 回経口投与し、E13 から E16 のマウス胎仔をエタノールに暴露させ、FASD (Fetal Alcohol Spectrum Disorders) モデルマウスを作製した。これまでの研究で作製された FASD マウスは、詳細なエタノール濃度の検証を実施していないため、胎仔マウスへのエタノール移行量および胎仔マウスのエタノール暴露量は制御できておらず、正確な評価にも至っていない。そこで本研究では、これらの評価を通じて、エタノール移行量およびエタノール暴露量を制御したマウス作製を目指した。投与後複数ポイントにて妊娠マウスから採血し、母体血中アルコール濃度を厳密にモニタリングした。また胎仔マウスへのアルコール移行量を評価するため、妊娠マウス子宮内から胎仔を取り出し、胎仔マウス脳内および胎仔血中のアルコール濃度を測定し評価した。

FASD マウスの評価

作製した FASD マウスの行動評価を、モデルマウス 4 週齢あるいは 8 週齢にて実施した。行動実験は、ヒト FASD 診断基準のガイドラインに基づき 3 つの指標 (Social behavior, Affective behavior, Cognitive behavior)を基に評価した。具体的には、open field test, elevated plus maze, cliff-avoidance test, social interaction test, novel object recognition test, pre-pulse inhibition test 等の複数種の行動実験を実施し評価した。

モデルマウスの行動評価に加え、マウスの頭部 CT 検査にて、モデルマウスの顔貌評価を実施した。またモデルマウスの脳サンプルを用いて、神経細胞マーカー (NeuN)および各種グリア細胞マーカーにて、FASD マウスの組織学的解析を実施した。

4 . 研究成果

本研究ではヒト FASD ガイドラインの診断基準となっているヒトの症状および行動レベルを模倣したモデルマウス作製に成功し、これらの詳細な解析を完了した。以下に具体的な成果を示す。

FASD マウス作製

母体から胎仔へのアルコール移行量を詳細に解析するため、エタノールを暴露させた妊娠マウスおよび胎仔マウスのエタノール濃度を詳細にモニタリングおよび解析した結果、母体エタノール血中濃度の 90 % が胎仔の血中に移行していることが明らかとなった。また、それらのほとんどが、胎仔マウスの脳へも移行していることを見出した。

FASD マウス評価

作製したモデルマウスに対し複数種の行動実験を実施し、ヒト FASD 胎児の診断基準にもなっている 3 つの評価指標(Social、Cognitive、Affective behavior)に基づいて評価した。行動評価は 4 週齢および 8 週齢マウスにて実施した。結果、アルコール暴露量と表現型の相関関係が示唆された。またいくつかの項目にて雌雄差があることが明らかとなった。Social behavior および Cognitive behavior に関しては、FASD マウスは障害が生じた一方、Affective behavior に関しては、不安様行動および攻撃性が高まるという表現型を得た。

次に、ヒトの FASD 胎児で見られる顔の特徴がマウスでも見出せるか評価するため、FASD マウスに対して頭部 CT を実施した。人中、眼瞼裂の長さを測定し FASD マウスの顔貌を評価した。結果、FASD にマウスにおいて人中の長さが短くなる表現型を見出した。また、FASD マウスの脳を採取し組織学的解析をした結果、前頭前皮質の形態異常があることが明らかとなった。

本研究では、ヒト FASD の症状・行動レベルを模倣したモデルマウスの作製に成功した。妊娠マウスと胎仔マウスのエタノール暴露量の正確な評価技術確立により、エタノール血中濃度の 90% が妊娠マウスから胎仔マウスに移行し、それが FASD 病状・行動に直接影響を与えることを明らかにした。FASD の詳細な発症機序を解明のためには、細胞種毎の解析が今後の課題であるが、本研究はエタノールが胎仔マウスに与える影響およびエタノール暴露と行動異常との関連を突き止める足掛かりとなったと言える。

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