

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06753

研究課題名(和文)オリゴデンドロサイト発達異常に着目した自閉症モデル動物の解析

研究課題名(英文)Analysis of development of oligodendrocytes in autism-related mouse model

研究代表者

服部 剛志(Hattori, Tsuyoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：50457024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：脳の中には、神経細胞と共に脳を構成するグリア細胞が存在し、その数は脳の細胞の50%以上を占めると言われています。このグリア細胞が脳の働きにとって重要であることが最近注目されはじめています。我々は、自閉症に関連がある遺伝子「CD38」の異常によりアストロサイトとオリゴデンドロサイトというグリア細胞に発達の遅れが起こることを見いだしました。CD38遺伝子の欠損したマウスは社会性の異常を示すことから、その一因としてグリア細胞の発達異常が考えられます。本研究を発展させることにより、自閉症をはじめとした脳の発達障害の原因究明、診断・治療法の開発につながることを期待されます。

研究成果の概要(英文)：The brain consists of neurons and glial cells. Recent research uncovers the importance of glial cells; their developmental abnormality causes various diseases such as autism spectrum disorders and aberrant cerebral cortex development. Herein, CD38 gene knocking-out is shown to cause aberrant development of glial cells, especially, those called astrocytes and oligodendrocytes. As CD38 knockout mouse exhibits abnormal social behavior, these abnormal glial development may be one of the reason for the abnormal behavior. The present study suggests the importance of glial cells for the cerebral cortex development and social behavior.

研究分野：神経解剖学

キーワード：グリア細胞 アストロサイト オリゴデンドロサイト 自閉症スペクトラム障害 発達障害 ミエリン
大脳皮質

1. 研究開始当初の背景

自閉症は「社会性の障害」を特徴とする、脳発達障害である。今日、その有病率は1%以上とも言われ、少子化の進む日本のみならず、多くの国々で極めて大きな社会的問題となっている。これまでの自閉症の研究は、主に、神経細胞の発達異常によるシナプス形成や神経回路形成の異常に焦点をあてて行われてきたが、未だ原因の特定、病態の解明には至っていない。一方、自閉症患者の画像解析や死後脳解析により、自閉症患者脳では神経細胞だけでなくオリゴデンドロサイトをはじめとするグリア細胞の発達異常が報告されている (Carmody et al, 2010)。また、オリゴデンドロサイトの発達異常があると、成体マウスにおいて社会性が低下することも報告されている (McFarlane et al., 2008)。これらの事実は、自閉症の病態形成に神経細胞のみならず、オリゴデンドロサイトを含むグリア細胞の発達異常が含まれる可能性を示唆している。

2. 研究の目的

2 系統の自閉症モデル動物 (CD38 遺伝子欠損 (KO) マウス、オキシトシン KO マウス) を用いて、グリア細胞の発達異常を基盤とする、新たな自閉症の病態を明らかにする。

具体的には、

- 1) CD38 KO マウスにおけるオリゴデンドロサイト発達異常の形態学的解析とメカニズムを明らかにする。
- 2) オキシトシン KO マウスを用いて、オキシトシン分泌とオリゴデンドロサイト発達の関係を明らかにする。

3. 研究の方法

- 1) CD38 KO マウスにおけるオリゴデンドロサイト発達異常のメカニズム解明
 - ・培養オリゴデンドロサイトを用いて、オリゴデンドロサイトにおける CD38 が直接 (細胞自律的) 或いは神経細胞やアストロサイトに発現する CD38 を介して間接的に (細胞非自律的) オリゴデンドロサイトの発達を制御するメカニズムを明らかにする。
 - ・野生型 (WT)、及び CD38 KO マウス脳の DNA マイクロアレイを行い、生後早期における CD38 の標的遺伝子を同定し、CD38 の下流シグナル経路を明らかにする。
- 2) CD38 KO マウスにおけるオリゴデンドロサイト発達異常の重要性についての解析
 - ・電子顕微鏡、及び電気生理学的手法によりオリゴデンドロサイトの微細形態異常及び機能異常を明らかにする。
- 3) CD38 が制御するオキシトシン分泌とオリゴデンドロサイト発達の解析
 - ・オキシトシン分泌がオリゴデンドロサイ

トの発達に与える影響を明らかにするため、オキシトシン KO マウスにおけるオリゴデンドロサイトの発達異常を検討する。

4. 研究成果

- 1) CD38 は生後の脳発達期において強く発現し、特にグリア細胞の一種であるアストロサイトで特に強いことが明らかとなった。CD38 欠損マウスにおいては、アストロサイトマーカーの発現量やその細胞形態に異常が認められた。さらに解析を進めた結果、アストロサイトの発達異常がオリゴデンドロサイトの分化にも影響を与えていることが明らかとなった。アストロサイトに発現する CD38 は NAD 消費酵素であるが、CD38 は NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド) を消費することにより脳内の NAD 濃度を減少させる。NAD はアストロサイトにおけるギャップ結合たんぱく質、コネキシン 43 (Cx43) を抑制し、その結果、オリゴデンドロサイトの分化を抑制する働きを持つ。よって、CD38 欠損マウスにおいては、通常より高濃度の NAD が、アストロサイトにおいて Cx43 の発現を抑制し、それによりオリゴデンドロサイトの分化を抑制することが明らかとなった。
- 2) CD38KO マウスにおけるオリゴデンドロサイトを電子顕微鏡にて解析を行った結果、オリゴデンドロサイトが神経細胞の軸索周囲に形成する髄鞘の低形成が観察された。その結果、脳における神経伝達異常が引き起こされる可能性が示唆される。
- 3) オキシトシン KO マウスにおけるオリゴデンドロサイトの形態学的、生化学的解析を行ったが、異常は認められなかった。よってオキシトシンはオリゴデンドロサイトの発達に影響を与えない可能性が高い。

以上の結果より、自閉症モデル動物におけるオリゴデンドロサイトの発達異常が、実はアストロサイトの発達異常により引き起こされていることが明らかとなった。これらは、自閉症病態におけるアストロサイトの発達異常の重要性を示唆する。 今後は、いまだ明らかになっていない、グリア細胞の発達異常 (特にアストロサイト) が神経機能や行動異常に与える影響を明らかにしていく必要がある。

引用文献

1. Regional white matter development in children with autism spectrum disorders. Carmody DP, Lewis M. Dev Psychobiol. 2010 Dec;52(8):755-63.

2. Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T+tf/J mice. McFarlane HG, Kusek GK, Yang M, Phoenix JL, Bolivar VJ, Crawley JN. Genes Brain Behav. 2008 Mar;7(2):152-63. Epub 2007 Jun 7. Erratum in: Genes Brain Behav. 2008 Mar;7(2):163.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Takarada-Iemata, M., Yoshikawa, A., Ta, H. M., Okitani, N., Nishiuchi, T., Aida, Y., Kamide, T., Hattori, T., Ishii, H., Tamatani, T., Le, T. M., Roboon, J., Kitao, Y., Matsuyama, T., Nakada, M., and Hori, O. (2018) N-myc downstream-regulated gene 2 protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia, *Glia*. 査読有
2. Le, T. M., Takarada-Iemata, M., Ta, H. M., Roboon, J., Ishii, H., Tamatani, T., Kitao, Y., Hattori, T., and Hori, O. (2018) Ndr2 deficiency ameliorates neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis, *Journal of neurochemistry*. 査読有
3. Hattori, T., Kaji, M., Ishii, H., Jureepon, R., Takarada-Iemata, M., Minh Ta, H., Manh Le, T., Konno, A., Hirai, H., Shiraishi, Y., Ozaki, N., Yamamoto, Y., Okamoto, H., Yokoyama, S., Higashida, H., Kitao, Y., and Hori, O. (2017) CD38 positively regulates postnatal development of astrocytes cell-autonomously and oligodendrocytes non-cell-autonomously, *Glia* 65, 974-989. 査読有
4. Ta, H. M., Le, T. M., Ishii, H., Takarada-Iemata, M., Hattori, T., Hashida, K., Yamamoto, Y., Mori, K., Takahashi, R., Kitao, Y., and Hori, O. (2016) Atf6alpha deficiency suppresses microglial activation and ameliorates pathology of experimental autoimmune encephalomyelitis, *Journal of neurochemistry* 139, 1124-1137. 査読有
5. Kezuka, D., Takarada-Iemata, M., Hattori, T., Mori, K., Takahashi, R., Kitao, Y., and Hori, O. (2016) Deletion of Atf6alpha enhances kainate-induced neuronal death in mice, *Neurochemistry international* 92, 67-74. 査読有
6. Yoshikawa, A., Kamide, T., Hashida, K., Ta, H. M., Inahata, Y., Takarada-Iemata, M., Hattori, T., Mori, K., Takahashi, R., Matsuyama, T., Hayashi, Y., Kitao, Y., and Hori, O. (2015) Deletion of Atf6alpha impairs astroglial activation and enhances neuronal death following

brain ischemia in mice, *Journal of neurochemistry* 132, 342-353. 査読有

7. Okamoto, M., Iguchi, T., Hattori, T., Matsuzaki, S., Koyama, Y., Taniguchi, M., Komada, M., Xie, M. J., Yagi, H., Shimizu, S., Konishi, Y., Omi, M., Yoshimi, T., Tachibana, T., Fujieda, S., Katayama, T., Ito, A., Hirotsune, S., Tohyama, M., and Sato, M. (2015) DBZ regulates cortical cell positioning and neurite development by sustaining the anterograde transport of Lis1 and DISC1 through control of Ndel1 dual-phosphorylation, *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 35, 2942-2958. 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

- Tsuyoshi Hattori, The role of CD38, an Autism-associated molecule, for glial development and demyelination The role of CD38 for glial development and demyelination 2017年 第60回日本神経化学会大会(招待講演)(国際学会)
- Tsuyoshi Hattori, The role of CD38 for glial development and demyelination, NAD/CD38 A3 Meeting 2017(招待講演)(国際学会)
- Tsuyoshi Hattori, The role of CD38 for glial development and demyelination, 第20回グリア研究会、2015年、名古屋市立大学医学部
- Tsuyoshi Hattori, The role of CD38 for glial development and demyelination, 第58回日本神経化学会、2015年大宮ソニックシティ
- Tsuyoshi Hattori, The role of CD38 for glial development and demyelination, 第58回日本神経化学会、2015年神戸国際会議場
- 服部剛志、堀修 自閉症関連因子 CD38 のグリア細胞発達に与える影響、日本解剖学会 中部地方会、2015年、福井大学医学部

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

金沢大学医薬保健学研究域 神経解剖学ホームページ

<http://med03.w3.kanazawa-u.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

服部 剛志 (HATTORI Tsuyoshi)
金沢大学・医学系・准教授
研究者番号： 50457024

(2)研究協力者

堀 修 (HORI Osamu)
金沢大学・医学系・教授

宝田 美佳 (TAKARADA Mika)
金沢大学・医学系・助教

石井 宏史 (ISHII Hiroshi)
金沢大学・医学系・助教

東田 陽博 (Higashida Haruhiro)
金沢大学・子どものこころの発達研究センター
・特任教授