

痛覚制御からの自閉スペクトラム症の分子基盤の解明

広島大学大学院医系科学研究科 細胞分子薬理学

吾郷 由希夫

【要旨】

痛覚過敏やアロディニアといった痛覚感受性の変化は、特に神経障害性疼痛との関連から多くの研究がなされており、そのメカニズムの一端が明らかとなってきている。しかし、一般に器質的あるいは神経の外傷的な変化を直接有さないと考えられる自閉スペクトラム症(autism spectrum disorder; ASD)の痛覚異常のメカニズムは不明である。本研究では、周産期環境要因仮説に基づいたASDモデルである胎生期バルプロ酸投与マウスが、成熟期において痛覚過敏やアロディニアを示すこと、これらの痛覚異常には脊髄でのミクログリアの活性化が関与することを見だし、ASDで認められる痛覚感受性変化の病態分子基盤の一端を明らかにした。

【背景および目的】

自閉スペクトラム症(autism spectrum disorder: ASD)は、社会性やコミュニケーションの障害、常同行動や興味・活動の限局化を中核症状とする神経発達障害の一種であるが、感覚刺激の反応亢進または低反応といった症状から、痛覚感受性の異常がみられる。現在、非定型抗精神病薬リスペリドンやアリピプラゾールがASD患者の易刺激性(かんしゃく、他害など)や興奮性(興奮、パニックなど)に対する薬物療法として米国FDAに承認されているが、中核症状に対する治療薬は無く、また痛覚感受性の変化をコントロールする治療法も見いだされていない。痛覚過敏や、特にアロディニア(異痛症)といった通常では疼痛をもたらさない微小刺激がすべて疼痛として非常に痛く認識される状態は、ASD患者のQuality of Life (QOL)を著しく損なう要因となっているが、ASDの痛覚感受性異常に関する研究はほとんど行われておらず、その神経基盤は未解明である。本研究では、疼痛制御の観点からASDの病態分子機序を明らかにすることを目的に、ASDモデル動物の痛覚感受性と社会性行動に関する行動薬理的、電気生理学的検討を行った。

【方法】

臨床研究から、妊娠中に抗てんかん薬バルプロ酸ナトリウムを服用すると、小児における自閉症の発症率が増加することが報告されている¹⁾。そこで、周産期環境要因に基づくASDモデルとして妊娠期(12.5日目)へのバルプロ酸投与マウスを用いた²⁾。対照群には生理食塩水を投与した。機械刺激性疼痛試験としてフォンフライ試験を、熱刺激性疼痛試験としてホットプレート試験を行い、社会性行動の解析には、2匹1組での社会的相互作用試験を行った。また脊髄後角細胞からの*in vivo*細胞外記録法により、痛覚情報伝達に関する電気生理学的解析を行った。さらに抗Iba1抗体を用いた免疫組織化学染色によりミクログリアの形態学的解析を行った。

【結果】

バルプロ酸を投与した妊娠マウスから出生したオスの成熟(8週齢)マウスは、ホットプレート試験、カプサイシン誘発痛試験において痛覚過敏を示し、またフォンフライ試験での機械性非侵害刺激に対するアロディニアを示した(図1)。一方、これらの行動学的異常は、メスマウスではみられなかった。オスの胎生期バルプロ酸投与マウスでは、4週齢においても痛覚過敏とアロディニアが認められ、幼若期から痛覚感受性の異常を発症していることが明らかになった。

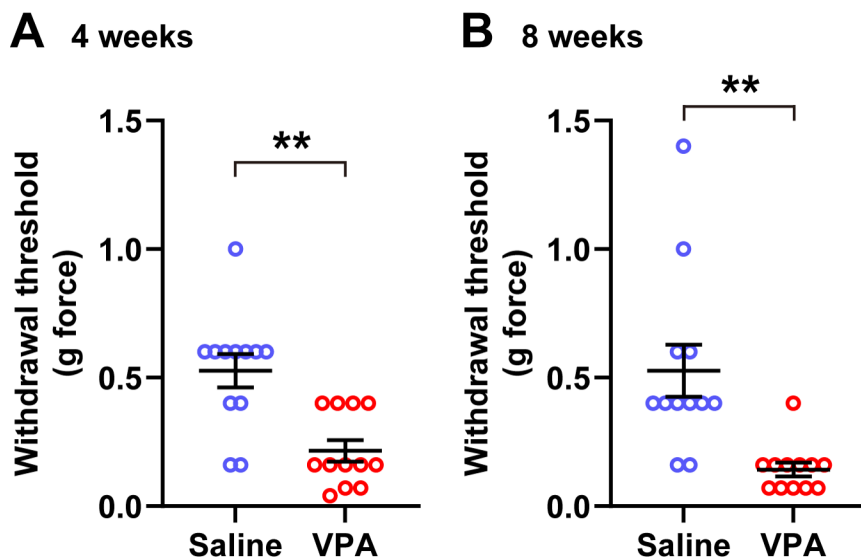


図1 痛覚関連刺激に対して胎生期バルプロ酸投与マウスはアロディニアを示す

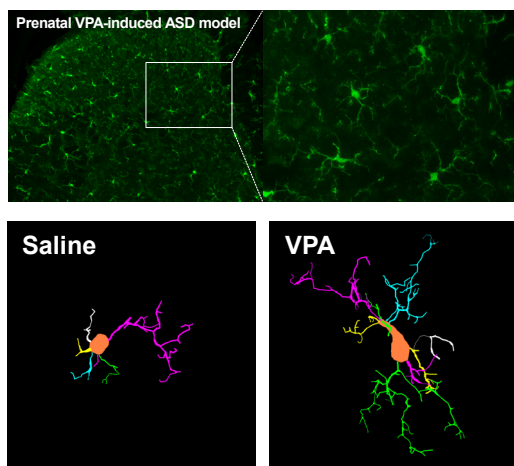
Results are expressed as the mean \pm S.E.M. of 12 mice per group. VPA; valproic acid, $**P < 0.01$

また、電気生理学的解析から、胎生期バルプロ酸投与マウスの脊髄後角表層において、コントロールマウスではみられない自発発火を示す細胞が観察され、さらにフォンフライフィラメント刺激やカプサイシンにより誘起される発火頻度がコントロールマウスに比べ増加していた。

さらに、オスの胎生期バルプロ酸投与マウスの脊髄後角において、Iba1陽性細胞の数や蛍光強度(輝度)、細胞面積が増加しており、ミクログリアの活性化が認められた。胎生期バルプロ酸投与マウスに対して、混餌によりコロニー刺激因子1受容体阻害薬PLX3397を投与したところ、脊髄でのミクログリア数が減少し、機械的アロディニアの改善がみられた(図2)。さらに、ミクログリア選択的免疫毒素であるMac1-saporinの髄腔内急性投与によっても、アロディニアが改善された。

これらの痛覚異常、さらに社会性行動の障害は、TRPV1アンタゴニストの単回投与により改善した。またその時、社会性行動と関連する側坐核や大脳皮質前頭前野において、神経活動を反映するc-Fosタンパク質の発現増加がみられた。胎生期のバルプロ酸曝露により、TRPV1を介する機能の異常亢進が生じており、これは、痛覚感受性の増加や社会性行動の障害と密接に関連していることが示唆された。

胎生期のバルプロ酸(VPA)投与によるミクログリアの増殖と形態学的変化



PLX3397を290 mg/kgで普通食に配合し、マウスに自由摂取させた。

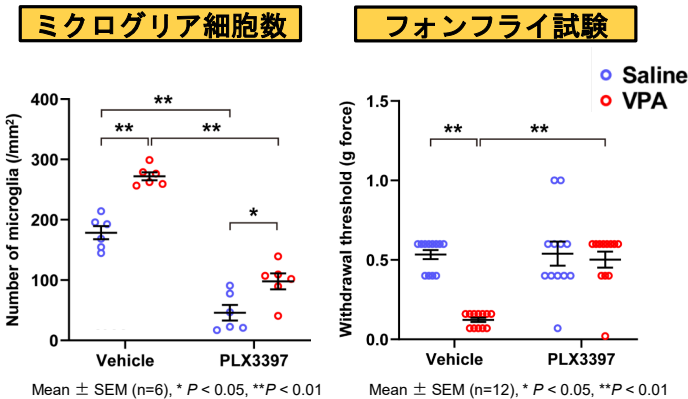


図2 ミクログリア枯渇により胎生期バルプロ酸投与マウスのアロディニアが改善した

【考察】

胎生期は脳発達形成が著しく、外的刺激に対する防御機構が未熟な時期であるため、出生後の脳機能に対する環境要因の影響が非常に大きい時期である。ASDの発症割合は約40人に1人であり、世界的に増加傾向にあると報告されている。ASDは一卵性双生児の発症一致率が約90%であることから、その発症には遺伝的要因の寄与が大きいと考えられるが、孤発例の患者が多いこと、健常者両親には存在せず、患者に突然変異として生じる*de novo*変異の発生など、直接的な遺伝的要因以外の関与についても注目される。本研究では、ASDに伴う痛覚感受性の異常を、胎生期のバルプロ酸曝露といったマウスモデルを用いて再現し、さらにアロディニアの発症において、脊髄ミクログリアの増殖、活性化との関連を明らかにした³⁾。特に、一過的な脊髄内ミクログリアの発現抑制がアロディニアを改善した結果は、グリア細胞であるミクログリアが動的に疼痛制御に関わっていることを示すものと考えられる。また痛覚の異常は、成熟期のメスマウスではみられず、オスマウスでのみ認められたことから、性差の存在が示唆された。自閉症児の男女比は全体で4対1程度と報告されているが、マウスモデルでの痛覚感受性における性差との関連については不明である。胎生期バルプロ酸投与マウスの痛覚異常や社会性行動の障害にはTRPV1の機能変化が関わっている可能性を見いだしたが、ミクログリアの活性化とどのように関連するのか、更なる研究が必要である。

過去の遺伝子改変動物を用いた研究から、発達期における感覚神経などの末梢神経系の機能維持は、社会性行動や認知に関わる脳神経回路・機能にも密接に関わることが示唆されている⁴⁾。今後さらに、疼痛制御の面から、発達障害発症の分子基盤の解明と緩和・創薬（新規薬/ドラッグリポジショニング含む）を目指し、ASDのQOL向上を早期に実現するための治療ストラテジーを構築したい。

【文献】

- 1) Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ et al. (2013) Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA* 309: 1696-1703.
- 2) Kataoka S, Takuma K, Hara Y et al. (2013) Autism-like behaviours with transient histone hyperacetylation in mice treated prenatally with valproic acid. *Int J Neuropsychopharmacol* 16: 91-103.
- 3) Imado E, Sun S, Abawa AR et al. (2022) Prenatal exposure to valproic acid causes allodynia associated with spinal microglial activation. *Neurochem Int* 160: 105415.
- 4) Orefice LL, Zimmerman AL, Chirila AM et al. (2016) Peripheral Mechanosensory Neuron Dysfunction Underlies Tactile and Behavioral Deficits in Mouse Models of ASDs. *Cell* 166: 299-313.