

自閉症における性ホルモンの新たな分子病態の解明

柳下 楠

埼玉医科大学 医学部 薬理学

【研究の背景】

自閉症は社会的コミュニケーションの障害と常同的・反復的行動とが見られる発達障害である。また、有病率に顕著な男女差が見られ、男児の発症率は女児の4~6倍にも上る。性差が発生する原因については、男性ホルモンであるテストステロンの関与が考えられている。羊水中のテストステロン濃度を計測し、生後の行動を観察した結果、テストステロン濃度と自閉的行動に相関関係が認められている¹⁾。また、ラット血清中のテストステロン濃度を上昇させると、生後の仔ラットにおいて自閉症様行動が観察される²⁾。これらのことより、胎児期に脳が曝露されるテストステロンの濃度が異常に高くなった時に自閉症が引き起こされると、「超高濃度テストステロン仮説」が提唱されている³⁾。しかし、脳の発生期におけるテストステロンの分子的な発症メカニズムは明らかになっていない。

【目 的】

本研究は、社会性を構築する神経機構に対するテストステロンの影響を、自閉症発症に関連するタンパク質とテストステロンとの相互作用という観点から明らかにすることを目的としている。また、自閉症研究における有用な動物モデルを提示し、今後の研究の発展に繋げることを目指す。

【方 法】

神経疾患に関する基礎研究では、マウスやラットをモデル動物として用いた研究が大きな役割を果たしている。特に、マウスは近交系が確立されており、遺伝子導入を行いやすいことなどから、多くの疾患モデルが創出されてきた。しかし、社会的コミュニケーションが損傷する自閉症の研究においては、マウスをモデル動物として用いることにはデメリットも存在する。それは、社会性の行動試験を行うに当たり、高度な社会を構築しない実験用マウスでは、結果が明確にならないことがあるという点である⁴⁾。そこで、我々は新たなモデル動物として、デグー (*Octodon Degus*) を提唱する。デグーは高度な社会性を有しており、可聴音域の言語を用いて相互にコミュニケーションを取っていることが明らかになっている⁵⁾。その言語体系は実に多様で、15以上ものレパートリーを有している。デグーは、これらのことや昼行性であることなどから、ヒトに最も近いげっ歯類とも言われている。本研究では、デグーの自閉症モデル動物としての妥当性を評価するため、デグーにおける自閉症関連遺伝子を単離し、その配列をヒトの配列等と比較解析した。本研究においては、自閉症関連分子として、シナプス接着因子 neuroligin (Nlgn) と neurexin (Nrxn) に着目している。

Nrxn・Nlgn とテストステロンの関係を調べるために、培養細胞系を用いて Nrxn と Nlgn をそれぞれ強制発現させ、混合することでシナプス様の接着構造を形成する培養系を立ち上げた。この培養系の培地中にテストステロンを添加し、シナプス接着因子の結合度合を検証することで、テストステロンが結合にどのように影響するのか検討した。また、テストステロンを付加した磁気ビーズを用いてプルダウンアッセイを行うことで、標的タンパク質がどれだけテストステロンとの結合能を有するかを検討した。

【結 果】

デグーの自閉症関連分子のアミノ酸配列解析では、大変興味深いことに、家族性自閉症の原因のひとつと考えられている Nlgn4 において、デグーの配列はヒトの配列と 97%類似しており、他のげっ歯類の類似率をはるかに凌ぐことが明らかになった。本研究で得られたデグーの Nlgn 配列情報を NCBI データベースに登録した(GenBank MH215558, MH215559, MH215560, MH215561)。また、Nrxn・Nlgn をそれぞれ別個に培養細胞に発現させ、混合することでシナプス様の接着構造を形成する培養系を立ち上げた。この培養系にテストステロンを添加し、Nrxn・Nlgn の結合に影響するかを検討したところ、テストステロンの添加により結合が阻害されていることを示した。また、テストステロンを付加した磁気ビーズとのプルダウンアッセイにより、テストステロンと Nrxn が直接結合することが示された。

【考 察】

アミノ酸配列比較解析より、デグー型の Nlgn4 はヒト型に酷似していることが示された。Nlgn4 は家族性自閉症の原因の一つであるが、マウスの Nlgn4 はヒトとの相同性が低いことに加え、脳での発現量も少ないことから、遺伝子改変マウスを用いた研究が困難であった。本研究から、デグー脳内では、解析に充分量な Nlgn4 が発現しており、その配列がヒトの配列と酷似していることから、デグーの自閉症研究モデル動物への十分な妥当性が示唆される。デグー型の Nlgn4 を詳しく解析することやデグー脳を用いた実験を進めることで更なる自閉症研究の発展が期待される。

また、性ホルモンの自閉症発症に対する分子メカニズムとして、Nrxn・Nlgn の結合に対する阻害作用が示唆された。今後は、他の性ホルモンによる Nrxn・Nlgn 結合への効果や、生体脳内での性ホルモンの作用を観察することで、テストステロンの自閉症発症分子メカニズムを明らかにしていく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

自閉症は近年、診断数が増えたことなどから、認知度が急上昇している。しかし、発症の原因をはじめ、多くの誤解や風評が根強く残っていることも事実である。その理由の一つとして、発症メカニズムに不明な部分が多く、正しい啓蒙が行えないことが挙げられる。そこで、本研究を通して自閉症の発症メカニズムが明らかになることで、自閉症に対する正しい情報や知識を広めることが可能となり、当人や家族への周りの理解と協力を促すことに繋がると考えている。

【参考・引用文献】

- 1) Baron-Cohen S, Auyeung B, Nørgaard-Pedersen B, Hougaard DM, Abdallah MW, Melgaard L, Cohen AS, Chakrabarti B, Ruta L, Lombardo MV. Elevated fetal steroidogenic activity in autism. *Mol Psychiatry*. 2015 Mar;20(3):369-76.
- 2) Xu XJ, Zhang HF, Shou XJ, Li J, Jing WL, Zhou Y, Qian Y, Han SP, Zhang R, Han JS. Prenatal hyperandrogenic environment induced autistic-like behavior in rat offspring. *Physiol Behav*. 2015 Jan;138:13-20.
- 3) Baron-Cohen S, Lombardo MV, Auyeung B, Ashwin E, Chakrabarti B, Knickmeyer R. Why are autism spectrum conditions more prevalent in males? *PLoS Biol*. 2011 Jun;9(6):e1001081.
- 4) Latham N, Mason G. From house mouse to mouse house: the behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 2004;86:261-289
- 5) C.V. Long. Vocalisations of the degu *Octodon degus*, a social caviomorph rodent. *Bioacoustics* 2007;16:223-244