

ADHD の iPS 細胞より分化させた大脳皮質の解析

江口典臣, 張 丹夢, 曾良一郎

神戸大学大学院医学研究科 精神医学分野

【研究の背景】

注意欠如・多動性障害 (Attention Deficit Hyperactivity Disorder, ADHD) は多動、不注意、衝動性を主な特徴とする発達障害の一つである。ADHD の主症状は幼児期から顕在化し、成人後も約三分の一に不注意などの残遺症状が継続すると報告されており、患者の生活や社会に与える影響は大きい。更なる有効な治療法の開発が望まれる一方で、その病態は未だ不明な点が多い。

【目 的】

本研究では、MRI を用いた研究で ADHD 患者では大脳野皮質の発達が遅延しているという報告 (Shaw et al. 2007) に注目し、ADHD の患者の iPS 細胞から、大脳皮質の細胞から構成される神経組織 (大脳皮質オルガノイド) を分化誘導することで、ADHD の病態メカニズムの解明に迫ることを目的とした。

【方 法】

DSM-5 に従い ADHD と診断された患者 (18 歳、男性) から同意を得て、末梢血単核球を採取し、Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc の 4 つの遺伝子をセンダイウイルスベクターを用いて導入し、iPS 細胞を作成した。ADHD 群として、実験には 3 つの細胞株を用いた。健常者由来の iPS 細胞は、理化学研究所バイオリソース研究センターから二つの細胞株 (Okita et al. 2011, Nakagawa et al. 2014) の提供を受け実験に使用した。これらを発表者が先行研究で報告した方法を用い (Eguchi et al. 2018)、大脳皮質オルガノイドへ分化誘導させた。分化誘導 35 日目の大脳皮質オルガノイドの免疫染色を行い、組織中に構成される大脳皮質の層構造を模した構造 (大脳皮質様構造) を評価した。

【結 果】

健常群、ADHD 群の iPS 細胞いずれに由来する組織も、神経細胞に発現する TUJ1 や終脳の細胞に発現する FOXP1 が確認でき、大脳皮質オルガノイドへ分化したと考えられた。これらの組織中に構成された大脳皮質様構造は、ADHD 群では、健常群と比較して、神経細胞の層である皮質板 (CP) が有意に薄い一方、神経幹細胞の層である脳室帯 (VZ) と、CP、VZ を合わせた構造全体の厚さは差がないことが明らかとなった (図 1)。また、CP を構成する神経細胞のうち、皮質第 5 層、第 6 層となる細胞に発現する Tbr1、Ctip2 に注目し、これらが陽性となる細胞の細胞数を計測したところ、いずれの細胞も ADHD 群では健常群より有意に細胞数が多かった (図 2)。以上のように、ADHD 群の大脳皮質様構造は、神経細胞の層が薄い一方で、そこに含まれる神経細胞の数は少ないという結果が得られた。

図 1

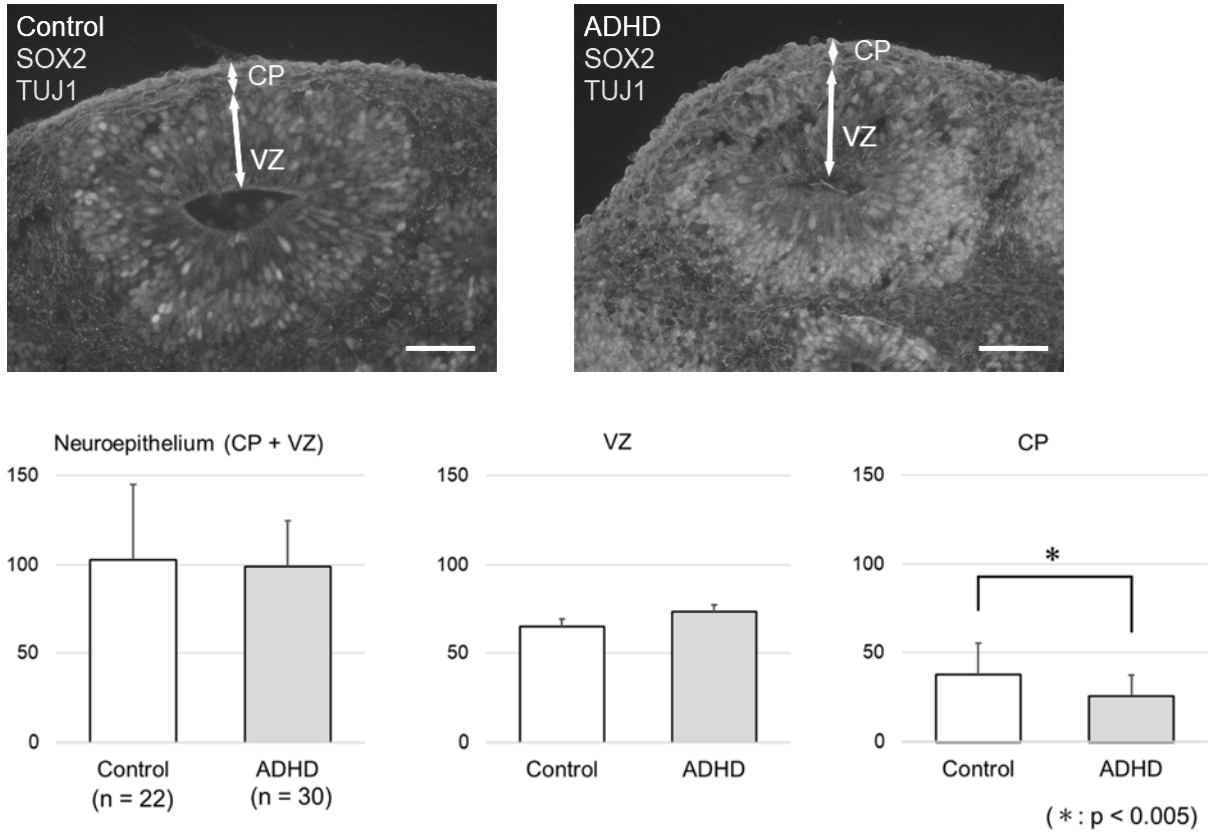
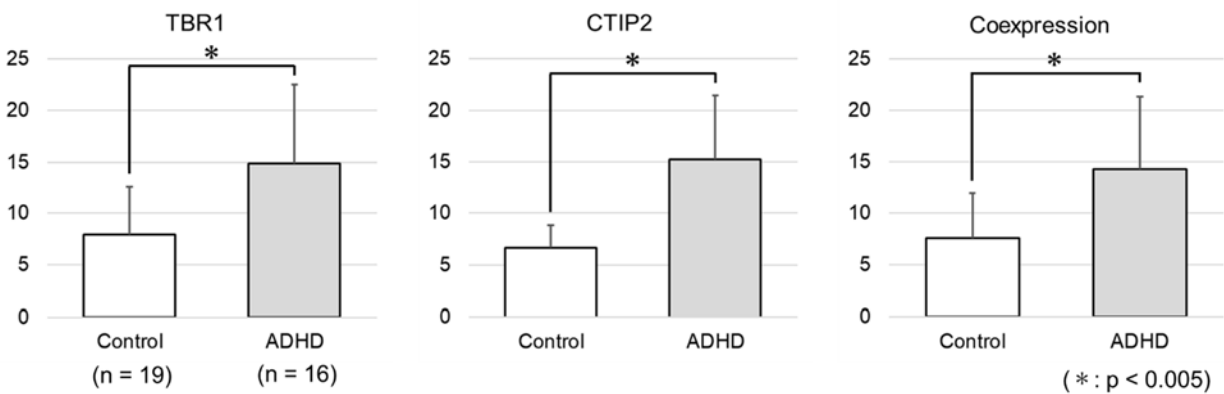


図 2



【考 察】

本研究で得られた結果は、MRI を用いた研究で得られた大脳皮質の発達遅延と関連している可能性が考えられ、ADHD では胎生初期の大脳皮質の発生に変化が生じているという可能性を示唆するものと考えられる。また、層構造が薄いにも関わらず細胞数は多いことから、単一の神経細胞の大きさが小さい、神経幹細胞からの分化能に変化を生じている、神経細胞の層へ移動するために必要な遊走能に変化を生じている、等の仮説が考えられる。今後はこれらの仮説を検証する実験を行っていく。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

実験的に得られた大脳皮質様構造とヒトの大脳皮質が相同であるかの確認は不可能であるが、本研究で得られた大脳オルガノイドは ADHD の病態を反映した生物モデルとして有用である可能性が考えられ、今後さらなる病態メカニズムの解明や、新たな治療薬の開発にも利用可能であると期待される。

【参考・引用文献】

Shaw P, Eckstrand K, Sharp W, Blumenthal J, Lerch JP, Greenstein D, Clasen L, Evans A, Giedd J, Rapoport JL. Attention-deficit/hyperactivity disorder is characterized by a delay in cortical maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Dec 4;104(49):19649-54.

Okita K, Matsumura Y, Sato Y, Okada A, Morizane A, Okamoto S, Hong H, Nakagawa M, Tanabe K, Tezuka K, Shibata T, Kunisada T, Takahashi M, Takahashi J, Saji H, Yamanaka S. A more efficient method to generate integration-free human iPSC cells. *Nat Methods*. 2011 May;8(5):409-12.

Nakagawa M, Taniguchi Y, Senda S, Takizawa N, Ichisaka T, Asano K, Morizane A, Doi D, Takahashi J, Nishizawa M, Yoshida Y, Toyoda T, Osafune K, Sekiguchi K, Yamanaka S. A novel efficient feeder-free culture system for the derivation of human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep*. 2014 Jan 8;4:3594.

Eguchi N, Sora I, Muguruma K. Self-organizing cortex generated from human iPSCs with combination of FGF2 and ambient oxygen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Apr 15;498(4):729-735.