

マーモセットモデルを用いる自閉症の脳分子病態予測法の開発

渡邊 恵

国立精神・神経医療研究センター 微細構造研究部

【研究の背景】

近年の自閉スペクトラム症 (ASD) の死後脳トランスクリプトーム解析により、さまざまな遺伝子発現異常が明らかになってきた。ASD には多様性があることが知られているが、死後脳トランスクリプトームにも個人間で大きなばらつきがあり、サブタイプに分けられることがわかってきた。ASD サブタイプの同定は発症メカニズムの解明や治療法の開発に重要と考えられるが、脳の分子病態は容易に知ることができないため、これに代わる方法が必要である。脳の遺伝子発現に関連した血液バイオマーカーがあれば、臨床においても有用である。

胎生期にバルプロ酸に曝露されたマーモセット(バルプロ酸マーモセット)は、ASD 様の行動異常を示すことが知られている。このモデルの大脳皮質トランスクリプトームは、ヒト ASD の死後脳トランスクリプトームと高い相関を示す(Watanabe et al. 2021, Noguchi et al. 2024)。特にヒト ASD の中で、炎症関連遺伝子の発現亢進が強いサブタイプとの相関が強いことから、このモデルは炎症型サブタイプをよく再現していると考えられる。したがってバルプロ酸マーモセットにおける血液バイオマーカーは、ヒトの ASD のサブタイプの同定に応用できる可能性がある。ASD の発症メカニズムの一つとして DNA メチル化の異常が示唆されているが、DNA メチル化は短期的な環境変化の影響を受けにくく安定しており、ASD のバイオマーカーとして有効である可能性がある。

【目 的】

ASD モデルマーモセット(バルプロ酸マーモセット)において、血球細胞由来 DNA のメチローム解析を行い、エピゲノム異常を明らかにする。

【方 法】

妊娠マーモセットに妊娠 60 日からバルプロ酸(200 mg/kg/日)を 7 日間胃内投与し、生まれた仔を ASD モデルとして用いた。3 ヶ月齢のバルプロ酸個体とコントロール個体各 5 匹から血液を採取し、血球成分を凍結保存した。これから DNA を抽出し、Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS) 用ライブラリー作成キットを用いてライブラリーを作成した。サンプルあたり約 5000 万ペアリードのシーケンスを行い、Bismark を用いたアラインメント後、解析ツール DSS (Dispersion shrinkage for sequencing data)を用いて、差次的メチル化サイトを解析した。

【結 果】

シーケンスで得られた約 800 万個の CpG サイトのメチル化データから、最低カバレッジ数を 30 としてフィルターをかけ、約 180 万個の CpG サイトを解析対象として得た。このうち、遺伝子のアノテーションが可能なものは約 140 万個であった。転写開始サイトの前後 2 kb のプロモーター領域に含まれるサイトは約 120 万個であった。アノテーション可能なサイトのうち、約 190 個が FDR<0.05 の基準で有意なメチル化率の変化を示した。そのうち、メチル化率の低下を示したサイトは約 55%であった。差次的メチル化サイトを持つ遺伝子には、細胞接着および構造制御、転写制御・シグナル伝達、神経発生・シナプス機能等に関与する遺伝子群が含まれていた。この中には NRXN2 など、ASD との関連性が示唆されている遺伝子(SFARI 遺

伝子)が複数含まれていた。

【考 察】

本研究で得られた結果は、バルプロ酸マーマセットの血球細胞由来 DNA におけるメチル化の異常を示唆している。バルプロ酸マーマセットの脳では、ミクログリアを中心に、炎症関連遺伝子の亢進がみられることがわかっている。ミクログリアは造血系の起源を持つ細胞であり、血球と近い性質を持つと考えられ、両者で共通したエピゲノム変化が生じている可能性がある。今後、ミクログリアや他の細胞種におけるメチル解析を行い、血球と脳のメチル化の関係が詳細に明らかにできれば、血液を用いて脳の分子病態を予測することが可能になると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究の結果、血液バイオマーカーを ASD の診断に応用できる可能性が示された。今後さらに解析を進めることにより、血液を用いる生物学的手法に基づく診断に発展できる可能性がある。これによって、診断の客観化や治療の最適化につながることを期待される。

【参考・引用文献】

Watanabe, S., Kurotani, T., Oga, T., Noguchi, J., Isoda, R., Nakagami, A., Sakai, K., Nakagaki, K., Sumida, K., Hoshino, K., Saito, K., Miyawaki, I., Sekiguchi, M., Wada, K., Minamimoto, T., Ichinohe, N. Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. *Nature Communications* 12: 5388 (2021).

Noguchi, J., Watanabe, S., Oga, T., Isoda, R., Nakagaki, K., Sakai, K., Sumida, K., Hoshino, K., Saito, K., Miyawaki, I., Sugano, E., Tomita, H., Mizukami, H., Watakabe, A., Yamamori, T., Ichinohe, N. Altered projection-specific synaptic remodeling and its modification by oxytocin in an idiopathic autism marmoset model. *Communications Biology* 7: 642 (2024).