

マルチオミクス手法を駆使した母胎環境起因性 ADHD の発症機構の解明

國村和史

九州大学 生体防御医学研究所 個体機能制御学部門 免疫遺伝学分野

【研究の背景】

これまでに幾つかの疫学研究において、妊娠中の母体アレルギーは子どもが生後に注意欠如・多動症 (ADHD: Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder) を発症するリスク因子であることが報告されている^{1,2)}。しかし、こうした母胎環境から子の脳発達に影響を及ぼす責任分子とその分子基盤は未だブラックボックスである^{3,4)}。これらのメカニズムを詳細に明らかにするには、本現象を反映する疾患モデルマウスを用いて多階層かつ網羅的な探索、および介入・摂動実験による検証が不可欠である。また、母から子へ影響を与える臓器として“胎盤”に着目した基礎研究は乏しく、神経発達症の成因に迫る上で鍵になりうると考えた。

【目 的】

最近私は、遺伝子改変に依らず、アレルギー病態に起因する特定のサイトカイン X が血中で亢進するという“母胎環境変化のみ”で発症する ADHD マウスモデルを独自に見出した。そこで本マウスを用いて妊娠期から成獣期にかけて「胎盤—脳連関」に注目したマルチオミクス解析を行い、発症・重篤化の原因になりうる分子を同定・検証し、母体アレルギー下の環境要因によって成立する ADHD の発症機構の解明を目指すこととした。

【方 法】

独自に見出した ADHD モデルマウス(野生型妊娠マウスへサイトカイン X を静注)と多様なマルチオミクス手法(トランスクリプトミクス/プロテオミクス/メタボロミクス)を組み合わせ、①ADHD 脳の形成・発達過程における遺伝子・代謝変化の理解、②胎盤—胎児脳連関に着目した ADHD 発症のトリガーとなる液性因子の探索、③胎盤由来物質によって変動する胎児/新生児ニューロン・グリアの機能解析を行った。

【結 果】

本モデルマウスでは産仔が 6 週齢で多動・不注意・衝動性に該当する ADHD 様行動を示し、ADHD 治療薬であるアトモキセチン(選択的ノルアドレナリン再取り込み阻害剤)の投与で改善することを発見した。そこで 6 週齢の全脳を網羅的メタボローム解析に供したところ、ADHD 群の脳内では対照群と比べて ADHD に関わるとされる複数の神経伝達物質や TCA 回路に関わる代謝産物の増減が認められた。また、解析結果からミクログリアの活性化を示唆する代謝変化⁵⁾が認められたため、ADHD 群と対照群の全脳から CD11b⁺ミクログリアを磁気ビーズにて単離し、マイクロアレイ解析を実施した。その結果、いわゆる神経傷害型(M1)ミクログリアの偏向/活性化が示唆された。さらに、離乳期より CSF-1R 阻害剤添加飼料(PLX5622)⁶⁾を用いて飼育することで 6 週齢時点の脳内ミクログリアを完全に消失させたところ、本モデルマウスの ADHD 様行動がキャンセルされることを見出した。

次に、サイトカイン X の投与による母胎環境変化の誘発後 48 時間時点の胎盤・母体血・胎児血に注目し、bulk RNA-seq によるトランスクリプトーム解析、Olink Target による定量的プロテオーム解析、Nano-LC/HRMS/MS (DIA 法: Data

Independent Acquisition)による高深度ノンターゲット・プロテオーム解析を実施した。その結果、特徴的な遺伝子セットが胎盤組織で変動しており、さらにミクログリア活性化能が報告されているタンパク質 Y が ADHD 群の胎児血でのみ最も増加するタンパク質であることを見出した。実際、*in vitro* で正常胎盤細胞にサイトカイン X を加えるとタンパク質 Y の遺伝子発現が亢進した。また、mixed glial culture 法により培養した新生児由来ミクログリアにタンパク質 Y を添加すると炎症性サイトカインの遺伝子発現が亢進し、タンパク質 Y の受容体に対する選択的阻害剤の存在下では発現亢進が認められなくなることを確認した。

【考 察】

アレルギー疾患に伴って増加するサイトカイン X は、妊娠中に胎盤組織に作用してその性質を変化させ、タンパク質 Y の産生を促すことが示唆された。さらにタンパク質 Y は胎児脳内ミクログリアを神経傷害型に変容させ、ミクログリアを介した神経炎症により正常なシナプス形成の阻害とモノアミン系障害を引き起こし、子の ADHD 様表現型に繋がっていることが想定された。今後胎盤におけるタンパク質 Y の産生細胞の特定、ADHD 表現型への影響度に関して *in vivo* で検証を進め、脳内のイメージング解析やシングルセル RNA-seq 解析、空間的トランスクリプトーム解析を組み合わせることで、ニューロン/グリアのネットワークを含めた全貌を解明していきたい。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

子孫の様々な疾患の発症・重症度が誕生前の母胎環境によって決まり始めることは DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 学説として知られつつあり、神経発達症と DOHaD の関連を報告した疫学研究は着実に増えている。近年では妊娠時のウイルス感染を模した母体免疫活性化モデルによる自閉スペクトラム症の研究が進んでいるが、母体アレルギーと胎児脳発達の関連性や ADHD の病態形成機構については不明な点が多い。

本研究ではこのコンテキストにおいて母体アレルギーと ADHD の関係を解き明かす鍵になりうるマウスモデルと分子メカニズムを見出しており、将来的にヒト出生コホート研究やバイオバンク検体での検証へと展開することで、母胎環境に起因する ADHD の発症を予見、または未然に防ぐための先制医療戦略が構築できる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. Instanes, J. T. *et al.* Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Offspring of Mothers with Inflammatory and Immune System Diseases. *Biological Psychiatry* **81**, 452-459 (2017).
2. Cowell, W. J., Bellinger, D. C., Wright, R. O. & Wright, R. J. Antenatal active maternal asthma and other atopic disorders is associated with ADHD behaviors among school-aged children. *Brain, Behavior, and Immunity* **80**, 871-878 (2019).
3. Meyer, U. Neurodevelopmental Resilience and Susceptibility to Maternal Immune Activation. *Trends in Neurosciences* **42**, 793-806 (2019).
4. Kwon, H.-K., Choi, G. B. & Huh, J. R. Maternal inflammation and its ramifications on fetal neurodevelopment. *Trends in Immunology* **43**, 230-244 (2022).
5. Bernier, L.-P., York, E. M. & MacVicar, B. A. Immunometabolism in the Brain: How Metabolism Shapes Microglial Function. *Trends in Neurosciences* **43**, 854-869 (2020).
6. Han, J. *et al.* Inhibition of colony stimulating factor-1 receptor (CSF-1R) as a potential therapeutic strategy for neurodegenerative diseases: opportunities and challenges. *Cellular and Molecular Life Sciences* **79**, 219 (2022).