

## 学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	大矢 雅樹
論文審査担当者	主査 田中 光一 副査 前原 健寿、平井 伸英
論文題目	Increased glutamate and glutamine levels and their relationship to astrocytes and dopaminergic transmissions in the brains of adults with autism
<p style="text-align: center;">(論文内容の要旨)</p> <p>&lt;要旨&gt;</p> <p>自閉症では興奮-抑制(E/I)バランスが興奮系に偏っていることが示唆されているが、そのメカニズムはいまだ解明されていない。我々は、アストロサイト反応性やドーパミン(DA)神経系の抑制性シグナルの影響を受けて、興奮性神経系活動が増強されていると仮説を立てた。<sup>11</sup>C-SCH23390 PET を用いて DA D1 受容体シグナルを調べ、magnetic resonance spectroscopy (MRS)を用いてグルタミン酸、グルタミン、gamma-aminobutylic acid (GABA)、ミオイノシトール濃度を調べることで、この仮説を検証した。研究には 18 名の高機能自閉症成人男性と 20 名の定型発達(TD)男性が参加した。自閉症群では、TD 群と比較して前帯状皮質(ACC)においてグルタミン酸、グルタミン、ミオイノシトール濃度が上昇し、グルタミンとミオイノシトール濃度の間に正の相関が認められた。自閉症群と TD 群の両群で、ACC の D1 受容体放射性リガンド結合はグルタミン濃度と負の相関を示した。自閉症群のグルタミン酸-グルタミン代謝の亢進は、アストロサイト反応性や、反応性アストロサイトによるグルタミン合成の増強によるのかもしれない。また、DA D1 受容体シグナルはグルタミン合成を生理的に抑制制御する役割を持つと考えられた。</p> <p>&lt;緒言&gt;</p> <p>自閉症は、社会的コミュニケーションの障害、興味の限局、反復行動などを特徴とする発達障害であり、高い自殺率や QOL 低下が報告され、有病率も増加傾向にある。しかしながら、自閉症の治療薬の開発は困難な状況であり、開発のためにはさらなる病態生理の解明が必要である。</p> <p>自閉症の病態生理の有力な仮説の 1 つとして、E/I バランスの不均衡説があり、E/I 比の増加が自閉症と関与しているという報告がある。MRS は興奮性神経伝達物質のグルタミン酸、その代謝物であるグルタミン、抑制性神経伝達物質の GABA を個別かつ同時に測定できるため、E/I バランスを調べるのに有用である。しかし、自閉症に対して、グルタミン酸とグルタミンを分けて測定した研究は 3 報告しか存在せず、その結果は一致していない。また、この 3 研究には従来の MRS シークエンスが用いられている。一方で、spin-echo full-intensity acquisition localized single voxel spectroscopy (SPECIAL) シークエンスは、脳内のグルタミン酸やミオイノシトールのみならず、グルタミンや GABA についても正確に評価できることが報告される。この手法を用いれば、</p>	

自閉症者の ACC における E/I バランスの変化をより正確に調べられる可能性がある。

自閉症における E/I バランス変化のメカニズムはまだ明らかにされていない。しかしアストロサイトは脳内のグルタミン酸、グルタミン、GABA の調節に関与していることもあり、アストロサイトが神経細胞活動を調節していることを支持する報告はいくつかある。また、アストロサイトによる興奮性神経伝達物質の調節が、DA 神経系と関連していることを示唆する動物実験や、自閉症様行動は DA 神経系の機能障害から生じているという報告もある。我々も、いくつかの脳領域において、DA D1 受容体結合能と自閉症症状の関連性を報告した。以上から、DA D1 受容体シグナルは、自閉症における異常なグルタミン酸-グルタミンサイクルと、その結果として生じる E/I バランスの調節障害に関与している可能性が考えられる。しかしこのような過去報告があるにもかかわらず、自閉症者の生体脳において、アストロサイト反応性、E/I バランスの変化、DA 神経系との関連を検討した報告は存在しない。

そこで本研究は、自閉症者において、グルタミン合成に関連するアストロサイト反応性や、DA D1 受容体シグナルに変化が生じ、それに関連して興奮性神経系活動が亢進しているという仮説を立てた。我々は MRS 撮像を行い、E/I バランスの評価のためのグルタミン酸、グルタミン、GABA 濃度を、アストロサイト反応性の評価のためのミオイノシトール濃度を測定した。<sup>11</sup>C-SCH23390 を用いて DA D1 受容体結合能を評価した。先行研究では自閉症脳における ACC の構造的および機能的特性の破綻が報告されていることから、我々も同部位に注目した。参加者は高機能自閉症の成人に限定し、E/I バランスの性差の影響を考慮して男性とした。

#### <方法>

年齢、知能指数、利き手が一致する 18 人の自閉症者と 20 人の TD 者を評価した。参加者はすべて成人男性で、非喫煙者であり、モノアミン作用薬を服用していなかった。自閉症の参加者の中に、物質使用障害、双極性障害、統合失調症の診断基準を満たす者はいなかった。すべての自閉症者において IQ スコアが 75 点以上であり、高機能自閉症であると考えられた。自閉症者については、自閉症スペクトラム指数(AQ)を用いて自閉症症状を評価した。

すべての被験者に MRS 検査を行い、GABA、グルタミン、グルタミン酸、ミオイノシトール濃度を測定した。MRS データの解析には LCModel software を使用した。またすべての被験者は DA D1 受容体機能を調べるために <sup>11</sup>C-SCH23390 PET 検査を受けた。FreeSurfer software を使用し、ACC の関心領域を設定した。PMOD software を用いて <sup>11</sup>C-SCH23390 の結合能を定量化した。

#### <結果>

成人自閉症者の ACC では、TD 者と比較してグルタミン酸、グルタミン、ミオイノシトール濃度が有意に増加し、GABA 濃度には有意差は認められなかった。自閉症者の ACC では、ミオイノシトールとグルタミン濃度の間に有意な正の相関が認められたが、TD 者では認められなかった。さらに、AQ の注意の切り替えスコアと ACC のグルタミン、ミオイノシトール濃度との間に有意な正の相関が認められた。

DA D1 受容体結合能には群間差はなかった。両群で、ACC の DA D1 受容体結合能とグルタミン濃度との間に負の相関がみられたが、ミオイノシトールやグルタミン酸濃度との間には有意な

相関は認められなかった。

#### <考察>

本研究では SPECIAL シークエンスによる MRS データを用いることで、ACC におけるグルタミン酸、グルタミン、GABA 濃度を評価することができた。結果として、自閉症者では興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸とグルタミン濃度が上昇していることが示された。また、被験者を男性に限定したことで、E/I バランスの性差による影響を除くことができた。自閉症症状を伴う脆弱 X 症候群においても、本研究と一致する E/I バランスの変化が報告されている。

本研究では成人の自閉症者でミオイノシトール濃度の上昇が認められたが、これはアストロサイトの自閉症病態への関与を報告する先行研究と一致している。アストロサイトは、特異的な酵素である glutamine synthetase を介して、脳内のグルタミン合成に重要な役割を果たしているが、本研究でもアストロサイトマーカーであるミオイノシトール濃度とグルタミン濃度に相関がみられた。先行研究でも、反応性アストロサイトによって誘導されるグルタミン酸-グルタミンサイクルのホメオスタシスの乱れが、自閉症の病態に関連している可能性が示唆されている。さらに、本研究では、ミオイノシトール、グルタミン濃度と自閉症症状に相関も認めた。これらの結果より、反応性アストロサイトは興奮性神経系活動の亢進と関連し、これらが自閉症症状と関連している可能性がある。本知見が自閉症の薬物治療法の開発に応用が期待される。

一方、本研究では成人の自閉症者と TD 者の両方で、ACC における DA D1 受容体結合能とグルタミン濃度の負の相関がみられた。これは、DA D1 受容体機能の活性化がグルタミン合成に関与しており、この関連性は自閉症病態に限ったものではなく、生理的な関係である可能性がある。動物実験でも、グルタミン合成は DA 神経細胞によって調節されていることが示唆されていることもあり、我々はこの関係性を生体脳において示すことができた。

#### <結論>

われわれは、自閉症者脳の ACC において、グルタミン濃度の上昇を伴う E/I バランスの変化が反応性アストロサイトと関連していることを示した。反応性アストロサイトによって誘導されるグルタミン酸-グルタミン代謝の亢進は、自閉症に見られる E/I バランスの不均衡を引き起こす病的要因の一つである可能性がある。本研究結果は、アストロサイト反応性のグルタミン酸-グルタミン代謝における役割や自閉症症状との関係、グルタミン合成における DA 受容体の抑制的役割を示唆している。

# 論文審査の要旨および担当者

報告番号	甲第 6871 号	大矢 雅樹
論文審査担当者	主査 田中 光一 副査 前原 健寿、平井 伸英	
<b>【論文審査の要旨】</b>		
<b>1. 論文内容</b>		
本論文は、成人の自閉症の脳におけるグルタミン酸、GABA、ドーパミン受容体の変化を調べた論文である。		
<b>2. 論文審査</b>		
<u>1) 研究目的の先駆性・独創性</u>		
自閉症の有力な病態仮説に、興奮性/抑制性バランス(E/I バランス)の不均衡仮説がある。Magnetic resonance spectroscopy (MRS)は、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸、その代謝産物であるグルタミン、抑制性神経伝達物質である GABA を非侵襲的に測定でき、臨床研究には有用な手法である。しかし、従来の方法では、グルタミン酸とグルタミンを分けて測定することが難しく、さらに測定誤差が大きいという欠点があった。このような背景の下、MRS の上記欠点を克服できる spin-echo full-intensity acquisition localized single voxel spectroscopy (SPECIAL)シークエンスプロトコルを用いて成人自閉症患者における E/I バランスの変化を調べた。さらに、E/I バランスに影響を与えることが知られているドーパミン神経伝達に関して、PET を用いた D1 受容体の発現変化も同時に解析した。SPECIAL シークエンスプロトコルの使用及び同一患者からの D1 受容体の測定は、評価に値するものである。		
<u>2) 社会的意義</u>		
本研究で得られた主な結果は以下の通りである。		
1. 成人自閉症患者の前帯状皮質(ACC)では、対照群と比較してグルタミン酸、グルタミン、ミオイノシトール濃度の増加が認められたが、GABA 濃度に変化はなかった。		
2. 自閉症の ACC では、対照群では認められなかったグルタミンとミオイノシトール濃度の間に正の相関が認められた。		
3. 自閉症患者において、注意の切り替えスコアと ACC のグルタミンとミオイノシトール濃度の間に正の相関が認められた。		
4. ドーパミン D1 受容体の結合能は、自閉症患者と対照群で優位な差は認められなかった。		
以上のように申請者は、自閉症患者で興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸、その代謝産物であるグルタミンの濃度が上昇していることを明らかにした。これは臨床的にも極めて有用な研究成果であると言える。		

### 3) 研究方法・倫理観

研究には、SPECIAL シークエンスによる MTS データを用いて、ACC のグルタミン酸、グルタミン、ミオイノシトールの濃度を測定している。また、D1 受容体の結合能は 11C-SCH23390 を用いた PET で測定している。本手法は十分な解剖学的知識・磁気共鳴分光法の測定手技の裏付けのもとに遂行されており、申請者の研究方法に対する知識と技術力が十分に高いことが示されると同時に、本研究が極めて周到な準備の上に行われてきたことが窺われる。

### 4) 考察・今後の発展性

さらに申請者は本研究の結果について、反応性アストロサイトによるグルタミン酸—グルタミンサイクルの亢進が自閉症患者における E/I バランスの不均衡に関与する可能性を考察している。これは先行研究と照らし合わせても極めて妥当な考察であり、今後の研究にてさらに発展することが期待される。

### **3. その他**

特になし。

### **4. 審査結果**

以上を踏まえ、本論文は博士（医学）の学位を申請するのに十分な価値のあるものと認められた。