

自閉症者血清の糖脂質解析

研究代表者：松崎秀夫（子どものこころの発達研究センター・教授）

概要	
	<p>我々は自閉症児の血清中中性脂肪 VLDL 分画濃度が低く、自閉症の生物学的早期診断マーカーとして有望であることを見出した。この所見が自閉症の脳の異変にどのように関与するかを説明するため、神経細胞膜上の脂質ラフトの構成要素である糖脂質の代謝異常を想定し、自閉症児と健常児の末梢血中糖脂質濃度を測定した。</p> <p>本研究ではグライコプロテオミクス解析により、自閉症児に特異的な血清中のガングリオシドと N-グリコプロファイルの網羅的解析を進めた。血清中の自己抗体濃度測定は行われなかった。その結果、血中の糖脂質定量に成功し、ガングリオシドも N-グリカンも、種類によっては十分な定量値が得られた。しかし各 10 例ではただちに有意差のある有力な候補が見出されなかった。今後、精度に応じて検体数を増やして検討を進める。</p>
関連キーワード	自閉症、脂質、糖脂質、血清

研究の背景および目的

目的

自閉症は、社会性・コミュニケーション能力の障害・想像力の低下を主徴として 3 歳以前に顕現化する発達障害の一型である。その病因は未だ不明で、病態には脳内シナプス機能の異常、セロトニン・グルタミン酸などの神経伝達物質の異常、免疫機能・エネルギー代謝異常の関与が指摘されている。

我々は自閉症者の血清を 200 例以上収集して、同年齢層の健常者血清を対照に血清中の脂質プロファイル調べた。その結果、超低密度リポ蛋白質 (VLDL) に含まれる中性脂肪・コレステロールの血中濃度が年少者ほど減少しており、特に中性脂肪 VLDL 分画は自閉症の生物学的早期診断マーカーとして有望であることを見出した。全血に含まれる脂肪酸組成も自閉症者で有意な減少がみられたが、その一方で血中遊離脂肪酸は概ね増大していたため、自閉症では血中の VLDL 分解が亢進しており、VLDL に含まれている脂質の分解によって得られる脂肪酸は血中に開放されると結論した。しかし、この所見がどのように自閉症者の臨床所見に結びつくのかは、さらなる検証が必要である。

この仮説を検証するため、本研究では神経細胞膜上の脂質ラフトに着目した血清中糖脂質および抗糖脂質自己抗体の網羅的解析を行う。

特色

本研究の特色は、自閉症者の糖脂質代謝に着目したことである。我々はこれまで発達障害を脂質代謝の観点から網羅的に捉える試みを行い、ひろく自閉症者に共通する脂質代謝所見を見出した。自閉症を規定する生物学的な指標は現在全く見出

されておらず、近年、胎生期の性ステロイド、シナプスの形成異常や脳内炎症の関与が有力な自閉症仮説をなすことから、出生前後の脂質代謝異常はこれらに共通した中間表現型として独自の病態仮説の根幹となる可能性を有している。しかし、自閉症者にみられる VLDL 脂質の特異的な分解、そのためにおこる末梢血中の中性脂肪・コレステロールの低下、遊離脂肪酸の増大が、どのようなメカニズムで中枢神経に関与し、自閉症の臨床所見とリンクしているのか、現時点では説明がつかない。このミッシングリンクを解明するために、自閉症者に認められる脳内シナプス機能の異常、神経伝達物質トランスポーターの膜発現低下から、本研究では自閉症者の神経細胞膜上の脂質ラフトの異変を想定し、脂質ラフトの構成要素である糖脂質の代謝に異常が生じていると仮説を立てた。

脂質ラフトと精神疾患をめぐる研究では、昨今アルツハイマー病研究でアミロイドβの蓄積に必要とされる BACE1 によるβ切断が、神経細胞膜上の脂質ラフトにあるマイクロドメインにおいて行われていることが立証されており、発達障害のメカニズムでも未知の過程が脂質ラフトに存在する可能性は少なくない。こうした新規性と発展性から本研究を申請した。

予想される結果と意義

本研究で標的とする糖脂質はガングリオシドを想定している。

ガングリオシドは母乳にも含まれていて、胎生期から出生後まで脳の発達には重要と知られている。サブタイプが複数存在することが分かっており、自閉症者の髄液中に GM1 が多い (Nordin et

al 1998)、自閉症者の血中に抗 GM1 抗体が多い (Mostafa & AL-ayadhi 2011) との報告がある。しかし、自閉症に限らず、ヒト血中のガングリオシド増大を報告した例はない。通常血中に糖脂質は存在するものの、きわめて微量で従来の技術では検出不能と考えられているためである。ただし、多くの脂質は BBB を通過しないが、ガングリオシドは BBB を通過するため、もし自閉症者の血中に多く出てくるなら、本研究の解析によってこの所見を見出すことができれば、むしろ有力な診断マーカーになる可能性がある。仮にガングリオシド

の検出が困難であっても、自己抗体は先行報告もあり、糖鎖に対する血中自己抗体が癌などの疾患バイオマーカーとして多く開発されていることから、比較的成果が得られやすい。また、この研究で自閉症に特異的な糖脂質の特定ができれば、同定した候補分子の合成酵素をつぶした動物が自閉症モデルになるかどうかを検討することにより、その糖脂質が自閉症の臨床症状とどれだけ関与が深いかを調べるのが可能となり、ひいては自閉症の根治療法の開発にもつながる可能性がある。

研究の内容および成果

これまでに独自に収集した 10 歳未満の自閉症児の末梢血血清 30 例と、年齢をマッチングさせた健常児の末梢血血清 30 例を用いて、グライコブロットング解析により自閉症児に特異的な血中糖脂質と血中糖タンパク質の N-グリカンプロファイルの解析を探索する予定で計画を進めた。まずパイロットスタディとして、自閉症児・健常児ともに 10 例ずつでの検証を行った。

血清中の糖脂質はきわめて微量であるため、解析には抗セラミド抗体を固定化した磁気ビーズでスフィンゴ糖脂質画分を濃縮したのち、グライコブロットング解析に供した。得られた結果を基に、我々が保有する自閉症者の血中脂質プロファイルデータとの相関を探る多変量解析を行った。

得られた結果を図 1・図 2 に示す。

解析の結果、血中の糖脂質定量に成功し、ガングリオシドも N グリカンも、種類によっては十分な定量値が得られた。しかし各 10 例ではただちに有意差のある有力な候補が見出されなかった。今後、精度に応じて検体数を増やして検討を進める。

自己抗体の検索については血中糖タンパク質の N-グリカンプロファイルの解析と糖脂質糖鎖をディスプレイしたマイクロアレイによる自己抗体の探索を行う予定であったが、必要な研究費が工面できず行われなかった。

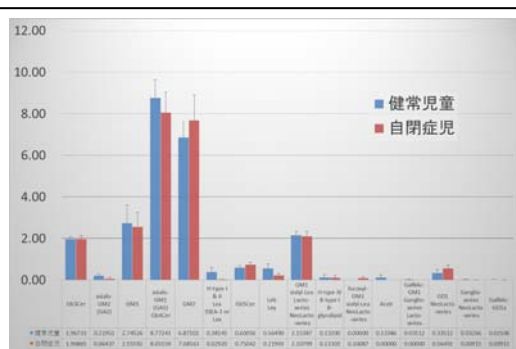


図 1. 血清中のガングリオシド濃度

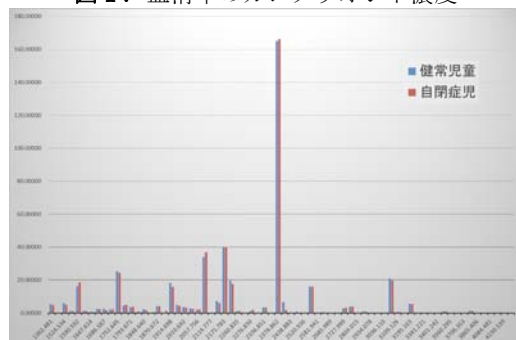


図 2. 血清中の N-グリカン濃度

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

なし

「特記事項」

本研究は北海道大学大学院・先端生命科学研究院の西村紳一郎先生との共同研究により行われた。

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

申請中のものはない。

平成 26 年度に、JST のシーズ発掘試験、A-STEP、CREST 等への研究費申請を検討している。