

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

Duchenne 型筋ジストロフィー脳病態に及ぼす AQP4 の影響

研究代表者 芦田 雪¹⁾
研究分担者 五十嵐 博中²⁾, 青木 吉嗣¹⁾

1) 国立精神神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部

2) 新潟大学 脳研究所附属統合脳機能研究センター

研究要旨

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 患者の自閉スペクトラム症 (ASD) などの認知機能障害の発症には、脳に発現する短縮型ジストロフィン・アイソフォームの1つである Dp140 の欠失が関与することが示されている。我々は Dp140 を欠失した DMD モデル (mdx52) マウスが ASD 様の社会性行動異常を呈することを明らかにしたが、Dp140 の局在や機能は未だ不明である。また近年、脳の機能維持に重要な役割を果たすとして注目されているアクアポリン (AQP) 4 は、 $\alpha 1$ -シントロフィンを介してジストロフィンの C 末端と結合するため、Dp140 は AQP4 と機能的・構造的関連性を有している可能性がある。そこで本研究は、AQP4 機能促進化合物 (TGN-073) が mdx52 マウスの社会性行動に影響を及ぼすかについて検討を行った。その結果、TGN-073 投与により mdx52 マウスの社会性行動異常の有意な改善が認められた。以上より、TGN-073 投与による AQP4 の活性化が、Dp140 欠失に伴う ASD 様社会性行動異常を改善する可能性が示された。

A. 研究目的

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) は、DMD 遺伝子の変異により進行性の筋萎縮および筋力低下を呈する遺伝性筋疾患である。主に骨格筋機能に異常が認められる一方で、DMD 患者の約 3 割に自閉スペクトラム症 (ASD) などの認知機能障害が認められる。興味深いことに、DMD における ASD には、短縮型ジストロフィン・アイソフォームの1つである Dp140 の欠失が関与する可能性が報告されている (Ricotti *et al.*, *Dev Med Child Neurol*, 2016)。我々はこれまでに全長型アイソフォームの Dp427 に加えて Dp140 を欠失した DMD モデル (mdx52) マウスが、ASD 様の社会性行動異常を呈すること、そのメカニズムには Dp140 欠失に伴う扁桃体外側基底核における錐体細胞からのグルタミン酸放出機能の低下が関与する事を明らかにした (Hashimoto *et al.*, *Prog Neurobiol*, 2022)。しかしながら、脳における Dp140 の局在

やその詳細な機能は未だ不明である。

近年、水輸送チャンネルであるアクアポリン (AQP) 4 は、中枢神経系における老廃物除去や神経細胞の興奮性維持に重要であることが示唆されている。また、AQP4 は $\alpha 1$ -シントロフィンを介してジストロフィンの C 末端と結合することから、Dp140 が AQP4 と機能的・構造的関連性を有している可能性がある。そこで本研究は、新潟大学 脳研究所 統合脳機能研究センターの五十嵐博中教授らの研究グループが開発した AQP4 の機能促進化合物である TGN-073 に着目し、共同研究によって TGN-073 が野生型および mdx52 マウスに及ぼす影響について検討し、Dp140 の脳における機能を AQP4 に着目して明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

1. 倫理的配慮

本研究は国立精神・神経医療研究センターの組

換え DNA 実験安全委員会, 実験動物倫理問題検討委員会の承認を受け実施した.

2. 実験動物および実験プロトコール

野生型 (C57BL/6J) マウスおよび mdx52 マウスをそれぞれ生理食塩水投与群と TGN-073 投与群に分けた. TGN-073 投与群には Huber ら (*Neuroreport*, 2018) の方法に準じ, 生理食塩水に溶解した TGN-073Na (200 mg/kg) を腹腔内投与し, 生理食塩水投与群には等量の生理食塩水を同様の方法で投与した. TGN-073 または生理食塩水投与 30 分および 2 時間後に社会性行動試験を行った. なお, TGN-073Na は新潟大学脳研究所合脳機能研究センターの五十嵐博中教授に分与頂いた.

C. 研究結果

TGN-073 投与 30 分後, 野生型および mdx52 の両マウスにおいて社会性行動に変化は認められなかった. 一方, 投与 2 時間後では, 野生型マウスの社会性行動に変化は認められなかったが, mdx52 マウスにおいて生理食塩水投与群と比較し TGN-073 投与群において社会性行動異常の改善が認められた ($P = 0.0108$).

また, 投与 2 時間後において, 社会性行動試験中の総移動距離および平均移動速度は両マウスで TGN-073 投与による影響は認められなかったことから, TGN-073 投与後の mdx52 マウスの社会性行動の変化は運動機能の変化による可能性は低いと示唆される.

D. 考察

本研究の結果から, TGN-073 投与による AQP4 の活性化は Dp140 欠失に伴う ASD 様社会性行動異常を改善する可能性が示された. これまでに我々は, mdx52 マウスにおける社会性行動異常には, 扁桃体外側基底核の錐体細胞におけるグルタミン酸放出障害が関与することを明らかにしている (Hashimoto et al., *Prog Neurobiol*, 2022). また, 脳のアストロサイトは三者間シナプスにおいて細胞外環境維持の役割を有している. AQP4 は脳においてアストロサイトに限局して発現し, 細胞間隙に放出されたグルタミン酸を取り込む興奮性アミノ酸トランスポーター (EAAT) や, 神経興奮後の K^+ クリアランスを保持する K^+ チャネル (KIR4.1) と共局在し, 機能的に関連しているこ

とが知られる. これらの知見から, AQP4 の活性化に伴う三者間シナプス機能の変化により, mdx52 マウスにおける扁桃体外側基底核の錐体細胞におけるグルタミン酸放出機能障害が改善された可能性が考えられる.

E. 結論

本研究の結果, TGN-073 による AQP4 の活性化により mdx52 マウスが呈する ASD 様の社会性行動異常が一時的に改善される可能性が示唆された. 今後は AQP4 の活性化により mdx52 マウスの社会性行動異常が改善された機序について, アストロサイトによるプレシナプスからのグルタミン酸放出機能の調節に着目して検討を進めていく予定である.

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1. 芦田雪, 五十嵐博中, 本橋紀夫, 青木吉嗣: mdx52 マウスが呈する社会性行動異常における AQP4 の役割. 第 16 回筋ジストロフィー治療研究会, 北海道, 2023 年 11 月 11-12 日.
2. 芦田雪, 五十嵐博中, 竹内絵里, 本橋紀夫, 関口正幸, 青木吉嗣: mdx52 マウスが呈する社会性行動異常における AQP4 の役割. 第 10 回筋ジストロフィーの CNS 障害研究会, 大阪府, 2024 年 2 月 23 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし