

## 2. 自閉スペクトラム症の酸化ストレス

松崎 秀夫\*

**抄録**：近年の自閉スペクトラム症研究では、特有の酸化ストレス所見、あるいはその変化を示唆する生体中のエネルギー代謝所見が提示され、臨床応用が検討されてきた。これまでの研究成果によれば、酸化ストレス所見には自閉スペクトラム症の診療標的としての可能性がある。筆者のグループでも、臨床研究法に基づき、ミトコンドリアの機能を高めるアミノ酸の効果を確認する臨床試験を進めているが、自閉スペクトラム症の表現型の神経基盤はいまだ不明であり、酸化ストレスやミトコンドリア機能と自閉スペクトラム症の関連を問うアプローチでメカニズムの解明を目指す試みは、まだ緒に就いたばかりである。自閉スペクトラム症と酸化ストレスの関連を問う介入研究は、今後の自閉スペクトラム症の解明や診療手段開発において、ますます重要な位置を占めるものと推測される。

日本生物学的精神医学会誌 31 (2) : 76-79, 2020

**Key words** : autism spectrum disorder, oxidative stress, mitochondria, glutathione, reactive oxygen species, OXPHOS

### 1. 自閉スペクトラム症における酸化ストレス

自閉スペクトラム症における酸化ストレスの役割は、過酸化脂質、グルタチオン (Glutathione : GSH) および活性酸素種 (Reactive Oxygen Species : ROS) に対する抗酸化物質の測定により、長く議論されていた<sup>2)</sup>。カリフォルニア大学デービス校の大規模コホート研究 CHARGE STUDY によって自閉スペクトラム症の環境要因を精査する取り組みがなされ、成因における酸化ストレスの重要性がより認識されている<sup>8)</sup>。自閉スペクトラム症では、末梢血中 GSH レベルの低下および酸化型 GSH 濃度の上昇を示す<sup>5)</sup>。自閉スペクトラム症者の死後脳では、小脳および側頭葉において GSH 酸化還元比の有意な乱れが認められる<sup>15)</sup>。一方、24 名の自閉スペクトラム症者の背部前帯状皮質および背側前頭前皮質における GSH を磁気共鳴スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy : MRS) で解析した報告では、健常成人に比して有意な変化はなかった<sup>4)</sup>。しかし、生きている自閉スペクトラム症者の脳内で有意な GSH 変化を示す所見は未だに出てい

ない。

近年では自閉スペクトラム症にミトコンドリア機能障害の合併を指摘する報告が相次いでいる。Giulivi らはカリフォルニア州の自閉スペクトラム症児童 364 人から 10 名 (2 ~ 5 歳) を選び、リンパ球中のミトコンドリア機能と mtDNA を評価した<sup>8)</sup>。健常児童のリンパ球と比較した結果、自閉スペクトラム症児でミトコンドリアの過酸化水素生産量は高く、NADH 酸化能は低く、血漿中のピルビン酸濃度は高かった<sup>8)</sup>。さらにこの研究では、mtDNA の過剰複製が自閉スペクトラム症児検体の半数に認められた<sup>8)</sup>。メタ解析報告によると、自閉スペクトラム症の一般集団におけるミトコンドリア病の有病率は 5.0% であり、一般集団 (約 0.01%) よりもはるかに高い<sup>16)</sup>。また、乳酸・ピルビン酸・ユビキノンのバイオマーカーの分散および平均値は自閉スペクトラム症と一般集団とで有意に異なり、ミトコンドリア病を合併する自閉スペクトラム症の約 80% は遺伝的異常との関連がなく、二次的なミトコンドリア機能障害の可能性があった<sup>16)</sup>。

自閉スペクトラム症者の脳内電子伝達系・

#### Oxidative stress in ASD

\* 福井大学子どものこころの発達研究センター (〒 910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3) Hideo Matsuzaki : Research Center for Child Mental Development University of Fukui. 23-3, Matsuokashimoaizuki, Eiheiji-cho, Yoshida-gun, Fukui 910-1193, Japan)

【松崎 秀夫 E-mail : matsuzah@u-fukui.ac.jp】

OXPHOS 遺伝子の発現を調べた研究は、脳領域に特異的な違いを示している<sup>3)</sup>。自閉スペクトラム症者の前頭皮質における発現解析は、5つの Complex すべての発現低下を示したが、中でも Complex I の欠損がもっとも顕著であった<sup>3)</sup>。前頭皮質域の Complex 活性をさらに調べた報告では I, III および V が自閉スペクトラム症者において有意に活性の低下を示した<sup>9)</sup>。側頭葉では、自閉スペクトラム症者は 5つの Complex 全体で発現低下を認めたが<sup>3, 19)</sup>、活性では I および IV のみがタンパク質含量に直接関係する活性レベルの低下を示した<sup>19)</sup>。筆者らは、自閉スペクトラム症のミトコンドリア機能障害の原因探索を目的として、自閉スペクトラム症児および健常児の死後脳の OXPHOS 遺伝子 84 種の発現を定量比較した<sup>1)</sup>。その結果、Complex I・III・IV・V を構成する遺伝子のいくつかで脳領域特異的に発現の減少が確認され、特に ATP5A1, ATP5G3 と NDUFA5 はすべての脳領域において一貫して発現の減少を示した<sup>1)</sup>。

## 2. 自閉スペクトラム症の診療標的としての酸化ストレス

Zimmerman らは自閉スペクトラム症に認められる酸化ストレス所見に着目し、ブロッコリーに多く含まれる抗酸化物質 Sulforaphane の自閉スペクトラム症への効果を検討した。彼らは中等度～重度の自閉スペクトラム症男性 44 名を対象に、プラセボ対照二重盲検ランダム化試験を行い、18 週間の Sulforaphane 連日経口投与によって対象者の社会的相互作用、異常行動、コミュニケーション能力が改善することを見いだした<sup>18)</sup>。これらの評価尺度は Sulforaphane の投与を中止した時点で服用前のレベルに戻ったため、彼らは酸化ストレス所見が自閉スペクトラム症の診療標的になると結論した<sup>18)</sup>。

Macfabe らは腸内細菌の働きに着目し、腸内細菌から産生される腸溶性短鎖脂肪酸、プロピオン酸を脳内に投与したラットは自閉スペクトラム症様の行動および酸化ストレス所見を示し、同ラットでは脳内アシルカルニチンの増大を認めた<sup>11)</sup>。これらは、プロピオン酸の腸内代謝物・酪酸を脳内投与することでも再現された<sup>20)</sup>。そして大規模コホートの結果、自閉スペクトラム症児の 17% に特定のアシルカルニチン増大と GSH 減少が認められ、自閉スペクトラム症児の約半数がミトコンドリア機能不全のバイオマーカーを発現すると推定した<sup>7)</sup>。また、Hsiao らは自閉スペクトラム症の特徴を示す母体の

免疫活性 (MIA) マウスモデルの腸内細菌叢が通常と異なることを示し、MIA マウスにヒトの腸内細菌の一種である *Bacteroides fragilis* を経口投与すると、自閉スペクトラム症様の異常行動が緩和されることを報告した<sup>10)</sup>。これらの知見は、腸内細菌の状態を改善することで自閉スペクトラム症の症状を軽減できる可能性を示唆している。

Naviaux は、神経細胞が細胞外からのストレスにさらされるとミトコンドリアが働き、細胞外へのプリン体の分泌亢進によってストレスを軽減させる現象を見いだして cell danger response と名付け、自閉スペクトラム症の発症には細胞外プリン分泌上昇に伴う神経細胞の興奮が関与するとの仮説を提唱した<sup>13)</sup>。さらに彼らは、尿素のポリスルホン化誘導体であるスラミンが細胞外プリン分泌に対する神経細胞の反応を抑えることに着目し、自閉スペクトラム症モデルマウスにスラミンを投与してマウスの表現型が改善することを示した<sup>12)</sup>。彼らはこれらの前臨床研究成果を I / II 相の無作為化臨床治験に進め、5名の自閉スペクトラム症児 (4～17 歳) にスラミンの低用量投与を行い、言語能力や社会性の障害を軽減すると報告した<sup>14)</sup>。症例数はごく少数であるが言語能力の回復が認められる点は稀有であり、第 III 相への飛躍が期待される。

## 3. 自閉スペクトラム症の近縁疾患における酸化ストレス

アンジェルマン症候群 (AS) は、UBE3A 遺伝子を含む母親由来の 15q11-q13 の欠失により自閉スペクトラム症に類似した症候をもたらす遺伝性の神経発達障害である。Santini らは UBE3A 遺伝子の欠失を再現した AS モデルマウスを用いて、抗酸化物質 MitoQ 10-methanesulfonate (MitoQ) が AS マウスの海馬 CA1 領域の活性酸素レベルを増加させ、かつ、海馬のシナプス可塑性の障害を改善することで、AS マウスが示す不自然な恐怖記憶を欠損させることを見いだした<sup>17)</sup>。この知見はミトコンドリアの ROS を標的とする戦略が AS 患者に有益であることを示している<sup>17)</sup>。しかし、自閉スペクトラム症への臨床効果はまだ試されていない。

22q13.3 の欠失によって定義される Phelan-McDermid 症候群 (PMS) は、自閉スペクトラム症に類似した症状を呈する。Frye らは Complex I ~ Complex IV の遺伝子を含め 22q13 内に 6 つのミトコンドリア遺伝子が存在することから、ミトコンドリア複合体の活性異常で PMS 症状の変化を説明

できるかどうか検討した<sup>6)</sup>。Complex I, II, II + IIIおよびIVの活性を51人のPMS者で測定したところ、59%にComplex IおよびIVの異常が見いだされ、22q13領域内の遺伝子の破壊と一致した。この活性異常は特定の遺伝子欠失とは関連していなかったが、自閉スペクトラム症症状と関連していた。これらのデータは、ミトコンドリア異常、特にComplex IおよびIV活性の異常が、PMSにおける表現型を説明し得ることを示唆している<sup>6)</sup>。

#### 4. おわりに

筆者のグループでも、臨床研究法に基づき、ミトコンドリアの機能を高めるアミノ酸の効果を確認する臨床試験を進めている（自閉スペクトラム症に対する5-アミノレブリン酸サプリメントの有効性を検討する二重盲検ランダム化比較試験：jRCTs051190017）が、自閉スペクトラム症の表現型の神経基盤はいまだ不明であり、酸化ストレスやミトコンドリア機能と自閉スペクトラム症の関連を問うアプローチでメカニズムの解明を目指す試みは、まだ緒に就いたばかりである。本稿で紹介した自閉スペクトラム症の介入研究報告でも、作用機序については仮説の域にとどまっている。この遠因には、生きているヒト脳内の酸化ストレスやミトコンドリア機能を解析する手法が乏しい点が挙げられる。したがって今後の自閉スペクトラム症の酸化ストレス研究のカギを握るのは脳画像を併用した介入研究であろう。これまでも自閉スペクトラム症者の神経イメージング研究が多く存在するが、特筆すべき所見はまだ出ていない。今後、エビデンスを構築するうえで、このジャンルの研究の進展に期待したい。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。開示すべき利益相反は存在しない。

#### 文 献

- 1) Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, et al (2013) Downregulation of the expression of mitochondrial electron transport complex genes in autism brains. *Brain Pathol*, 23 (3) : 294-302.
- 2) Chauhan A and Chauhan V (2006) Oxidative stress in autism. *Pathophysiology*, 13 (3) : 171-181.
- 3) Chauhan A, Gu F, Essa MM, et al (2011) Brain region-specific deficit in mitochondrial electron transport chain complexes in children with autism. *J Neurochem*, 117 (2) : 209-220.
- 4) Endres D, Tebartz van Elst L, Meyer SA, et al (2017) Glutathione metabolism in the prefrontal brain of adults with high-functioning autism spectrum disorder : an MRS study. *Mol Autism*, 8 (10) : 1-11.
- 5) Frustaci A, Neri M, Cesario A, et al (2012) Free radical biology and medicine oxidative stress-related biomarkers in autism : systematic review and meta-analyses. *Free Radic Biol Med*, 52 (10) : 2128-2141.
- 6) Frye RE, Cox D, Slattery J, et al (2016) Mitochondrial dysfunction may explain symptom variation in Phelan-McDermid Syndrome. *Sci Rep*, 6 : 1-12.
- 7) Frye RE, Melnyk S and Macfabe DF (2013) Unique acyl-carnitine profiles are potential biomarkers for acquired mitochondrial disease in autism spectrum disorder. *Transl Psychiatry*, 3 (1) : e220.
- 8) Giulivi C, Zhang YF, Omanska-Klusek A, et al (2010) Mitochondrial dysfunction in autism. *JAMA*, 304 (21) : 2389-2396.
- 9) Gu F, Chauhan V, Kaur K, et al (2013) Alterations in mitochondrial DNA copy number and the activities of electron transport chain complexes and pyruvate dehydrogenase in the frontal cortex from subjects with autism. *Transl Psychiatry*, 3 : e299.
- 10) Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al (2013) Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155 (7) : 1451-1463.
- 11) Macfabe DF, Cain DP, Rodriguez-capote K, et al (2007) Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats : Possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behav Brain Res*, 176 (1) : 149-169.
- 12) Naviaux JC, Wang L, Li K, et al (2015) Antipurinergic therapy corrects the autism-like features in the Fragile X (Fmr1 knockout) mouse model. *Mol Autism*, 6 : 1.
- 13) Naviaux RK (2018) Antipurinergic therapy for autism-An in-depth review. *Mitochondrion*, 20 : 1-15.
- 14) Naviaux RK, Curtis B, Li K, et al (2017) Low-dose suramin in autism spectrum disorder : a small, phase I/II, randomized clinical trial. *Ann Clin Transl Neurol*, 4 (7) : 491-505.
- 15) Rose S, Melnyk S, Pavliv O, et al (2012) Evidence of oxidative damage and inflammation associated with low glutathione redox status in the autism brain.

- Transl Psychiatry, 2 : e134.
- 16) Rossignol DA and Frye RE (2012) Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders : a systematic review and meta-analysis. *Mol Psychiatry*, 17 (3) : 290-314.
  - 17) Santini E, Turner KL, Ramaraj AB, et al (2015) Mitochondrial superoxide contributes to hippocampal synaptic dysfunction and memory deficits in angelman syndrome model mice. *J Neurosci*, 35 (49) : 16213-16220.
  - 18) Singh K, Connors SL, Macklin EA, et al (2014) Sulforaphane treatment of autism spectrum disorder (ASD). *Proc Natl Acad Sci*, 111 (43) : 15550-15555.
  - 19) Tang G, Gutierrez Rios P, Kuo SH, et al (2013) Mitochondrial abnormalities in temporal lobe of autistic brain. *Neurobiol Dis*, 54 : 349-361.
  - 20) Thomas RH, Foley KA, Mephram JR, et al (2010) Altered brain phospholipid and acylcarnitine profiles in propionic acid infused rodents : further development of a potential model of autism spectrum disorders. *J Neurochem*, 113 : 515-529.

---

**■ ABSTRACT**

---

**Oxidative stress in ASD**

Hideo Matsuzaki

*Research Center for Child Mental Development University of Fukui*

The increasing evidence suggests that oxidative stress findings have emerged in recent bioenergetics studies of autism spectrum disorders (ASD) . According to previous research, oxidative stress findings have potential as a clinical target for ASD. A link between ASD and oxidative stress will be explored in the research upcoming.

---

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 31 (2) : 76-79, 2020)

---