

自閉スペクトラム症の特性・症状と脳内グルタミン酸代謝物・GABAの 関連性についての検討

—超高磁場 MRI 装置を用いた MRS 画像研究—

久保田 学¹⁾、吉原 雄二郎¹⁾、岡田 知久²⁾、上床 輝久¹⁾、村井 俊哉¹⁾

¹⁾ 京都大学大学院 医学研究科 脳病態生理学講座 (精神医学)

²⁾ 京都大学大学院医学研究科附属 脳機能総合研究センター

<要 旨>

自閉スペクトラム症 (ASD) は、社会的コミュニケーションの困難さや反復的常同運動、非定型的な感覚処理を特徴とする神経発達症である。ASD の病態に脳内の興奮性 (グルタミン酸)・抑制性 (GABA) 物質の変化が関与する可能性が考えられている。MR スペクトロスコピー (MRS) の活用により、関心領域内におけるグルタミン酸代謝物や GABA などの脳内代謝物計測が可能となる。本研究では、代謝物を高精度に計測できる超高磁場 MRI 装置を用いて知的障害のない成人の ASD 群および定型発達 (TD) 群を対象に MRS 撮像を行い、ASD の特性や症状・機能との関連性を調べることを目的とした。結果、関心領域内におけるグルタミン酸代謝物、GABA 量は ASD 群と TD 群の間に有意な群間差を認めなかった。自閉症スペクトラム指数とこれらの代謝物との間にも有意な相関を認めなかった。一方で、前部帯状皮質におけるグルタミン酸およびグルタミン値と感覚特性尺度との間に有意な相関を認め、脳内興奮性物質が感覚特性のメカニズムに関与する可能性が考えられた。さらに、それらの相関の一部には診断の交互作用が認められ、脳内興奮性物質が ASD の感覚特性の病態の一部に関与する可能性も考えられた。本研究は少数の ASD 者を対象とした臨床研究であり、得られた結果に関しても探索的要素が強い。しかしながら、脳内の興奮性・抑制性物質の変化という視点から ASD の病態を解明するための足がかりとなった点については意義が大きいと考える。

<キーワード> 自閉スペクトラム症、MR スペクトロスコピー、グルタミン酸、GABA

【はじめに】

自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder : ASD) は、主要な神経発達症の一つであり、社会的コミュニケーションの困難さや反復的常同運動、非定型的な感覚処理を特徴とする。

これまでの研究から、ASD の病態の一部に脳内の興奮性 (グルタミン酸)・抑制性 (GABA) 物質の変化が関与する可能性が想定されている。例えば動物研究からは、ASD モデルマウスにおいてグルタミン酸神経伝達の変化や脳内の興奮性・抑制性バランスの変化が示されている (Antoine et al., 2019; Montanari et al., 2022)。一方で、グルタミンはアストロサイト内でグルタミン酸から

変換・合成されるが、ASD におけるアストロサイトの機能異常の可能性も報告されている (Gzielo and Nikiforuk, 2021)。臨床研究においては、MRI 装置を用いた MR スペクトロスコピー (magnetic resonance spectroscopy : MRS) や脳磁図 (magnetoencephalography : MEG) 等の手法により、こうした動物研究の知見をヒト脳内において検証することができる。特に MRS の活用により、関心領域内におけるグルタミン酸代謝物すなわちグルタミン酸 (Glu)、グルタミン (Gln)、それらの混合物 (Glx) や GABA の脳内代謝物計測が可能となり、これらの計測値は興奮性および抑制性神経活動の状態を反映すると考えられてい

る(Kubota et al., 2021; Takado et al., 2020)。ASD を対象とした過去の臨床 MRS 研究からは、GABA 代謝物の低下が報告されている一方で、グルタミン酸代謝物については脳領域により増加、低下の両方の報告があり、必ずしも結果は一致していない(Cochran et al., 2015; Horder et al., 2018; Oya et al., 2023; Tebartz van Elst et al., 2014)。またこれらの脳内代謝物と ASD の特性や症状との関連性に関しては、少数の MRS 研究から、グルタミン酸代謝物や GABA の状態が ASD 特性に関与する可能性が報告されている。例えば左背外側前頭前皮質の GABA 値と認知的共感性との間の相関の傾向が報告されている(Maier et al., 2022)が、この結果は ASD 群と定型発達 (typical development : TD) 群の両群を併せて行なった相関解析であることには留意する必要がある。このように、ASD を対象とした MRS 研究の数はまだ十分とは言えず、さらに知見を蓄積していく必要がある。

脳内物質と特性・症状との詳細な関連を検証するためには、MRS 撮像の S/N 比の向上や代謝物信号分離の緻密化が必要である。超高磁場 MRI 装置を用いた MRS の活用により、Glu と Gln の信号分離、GABA の安定した計測が可能となり、ASD の脳内病態基盤を詳細に検証することができる(Okada et al., 2022)。

京都大学では、国内でも数えるほどしかない超高磁場 MRI (7T MRI) 装置が導入され、臨床研究に応用されている(Siemens 社の MAGNETOM 7T MRI 装置 : 右上図)。これまでに、short-TE STEAM MRS 撮像法により Glu や GABA、グルタミン酸を高安定性にて計測し (Okada et al., 2021)、後部帯状皮質・一次運動野の hand knob 領域・鳥距溝の 3 領域間で Glu と GABA に

相違があり、そのバランス比も異なることを示した(Okada et al., 2021)。さらに我々は、MRS 撮像にあたり STEAM 法より強い信号強度が得られる SPECIAL シークエンス(Kubota et al., 2023; Mekle et al., 2009; Oya et al., 2023)を新規導入し、7T MRI 用にパラメーター最適化を行なった。

上記背景を踏まえ、本研究では、7T MRI 装置を用いて知的障害のない成人の ASD 群および TD 群を対象に MRS 撮像を行い、ASD 特性や感覚症状の評価尺度を用いて、ASD の特性や症状・機能との関連性を調べることを目的とした。



【方法】

大学の倫理委員会の承認に基づく実施許可を得て、研究を開始した。対象者には書面同意を得た後に研究検査を実施した。

17 名の ASD を持つ者および 16 名の TD の者を対象とし、7T MRI 撮像 (T1 強調画像・上記シークエンスを用いた MRS) および症状・認知機能検査を行った。ASD 特性の評価には自閉症スペクトラム指数 (Autism-Spectrum Quotient : AQ) を用いた。AQ は社会的スキル、注意の切り替え、細部への注意、コミュニケーション、想像

力の5つの下位尺度からなる自己記入式評価尺度で、点数が高いほど ASD 特性が強いことが示唆される。また、感覚特性の評価には青年・成人感覚プロファイル (Adolescent/Adult Sensory Profile : AASP) を用いた(Brown et al., 2001)。AASP は味覚・嗅覚、動き、視覚、触覚、活動レベルおよび聴覚の感覚カテゴリーをカバーする自己評価評定質問票であり、低登録、感覚探求、感覚過敏、感覚回避の4項目の尺度からなる。高得点はその項目の傾向の強さを示唆する。

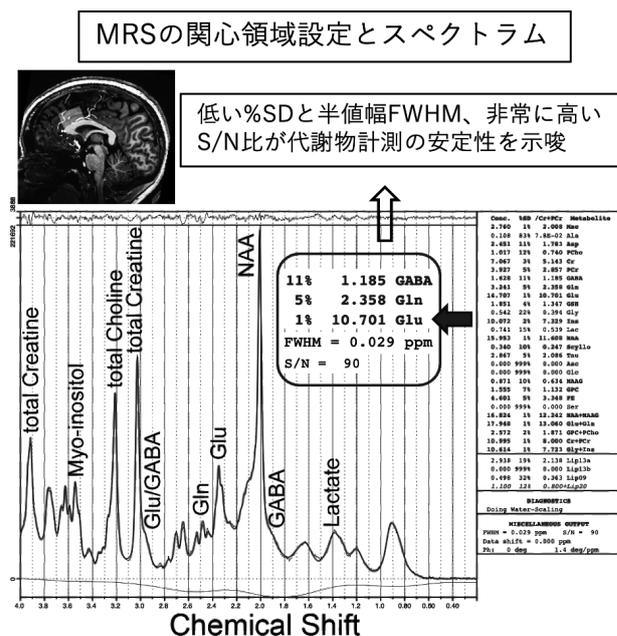
MRS データに関しては、解析ソフト lmodel (Provencher, 1993) を使用して代謝物の定量解析を行った。代謝物のうち quality control を行った Glu、Gln、GABA のデータを統計解析に用いた。解析については、これら Glu、Gln、GABA の代謝物データの群間比較および ASD 群・TD 群それぞれにおける AQ・AASP スコアとの相関を SPSS を用いて探索した。また、有意な相関が出た場合は、事後検定として ASD 群・TD 群それぞれの相関係数が有意に異なるかどうか、Fisher の z 変換による検定にて検証した。

【結果】

ASD 群と TD 群の平均年齢はそれぞれ 30.3 歳と 35.3 歳で有意差はなかったものの、TD 群の平均年齢の方が高い傾向にあった。両群とも男性は 13 人で、男女の割合に有意差はなかった。AQ 合計点の平均は ASD 群で 30.6 点と、TD 群の 17.4 点より有意に高かったが、過去の ASD の MRI 研究で報告されている一般的な得点よりは低かった。AASP の各尺度の得点については、ASD 群の平均は低登録 38.5 点、感覚探求 36.4 点、感覚過敏 39.8 点、感覚回避 40.6 点であり、TD 群の平

均とは低登録 26.0 点、感覚探求 37.8 点、感覚過敏 32.7 点、感覚回避 30.7 点であった。感覚探求以外の3項目に関して、ASD 群の方が有意に高値であった。

MRS データの定量解析については、先行研究に準じて、水濃度を参照として灰白質・白質・脳脊髄液の割合で補正した。前部帯状皮質 (ACC) における MRS 定量解析・代謝物スペクトラムの例を次に示す。従来の一般的な 3T MRI 装置による MRS データに比べて高いシグナルノイズ比 (S/N 比) や半値幅 (FWHM) が得られ、主要代謝物に関しては概してばらつきの少ない安定した結果が得られた。



MRS 解析結果、群間比較に関しては ACC における Glu、Gln、GABA の定量値は ASD 群と TD 群の間に有意な群間差を認めなかった。

相関解析については、これらの代謝物と AQ 合計点の間には有意な相関はみられなかった。また、MRS 定量値と AASP の4つの尺度との相関については、TD 群ではいずれの尺度との間にも有意

な相関はみられなかった。一方で、ASD 群では Glu 値と Gln 値それぞれが AASP の感覚追求 (Glu, Pearson's $r = -0.64$, $p = 0.005$; Gln, $r = -0.62$, $p = 0.008$) と有意な負の相関を示し、また Gln 値と感覚過敏 ($r = -0.61$, $p = 0.009$) とが有意な正の相関を示した。事後検定では、これらの有意な相関の中で、Gln 値と感覚過敏との相関については TD 群と ASD 群とでその相関が有意に異なることが示された ($z = 2.8$, $p = 0.006$)。

【考察】

本研究では、ASD 特性を持つ成人を対象に、超高磁場 MRI による MRS 撮像を行い、脳内のグルタミン酸代謝物・GABA と特性・症状との関連を探索した。結果、ACC におけるグルタミン酸代謝物および GABA 量は ASD 群と TD 群の間で有意差はみられなかったが、グルタミン酸代謝物と一部の感覚特性尺度との間に有意な相関が認められ、脳内興奮性物質が感覚特性のメカニズムに関与する可能性が示唆された。これらの相関のうち、Gln 量と感覚過敏の得点との相関については TD 群と ASD 群とで有意な差があり、両者の関連性の変化が ASD の病態の一部をなす可能性が考えられた。

過去の ASD における MRS 研究の結果は必ずしも一致していないが、近年のメタ解析では、ASD では白質における Glu・Gln の混合物 (Glx) の量の低下、前頭皮質における GABA 量 (クレアチン比) の低下、前頭前皮質における Glu の増加が報告されている。一方で、年齢がこれら代謝物に与える影響についても報告されており (Du et al., 2023)、解釈には注意が必要である。今回の我々の研究ではこれら代謝物の群間差がみられ

なかったが、その理由としてサンプル数の少なさ以外に、対象が平均年齢 30 代の成人であり、発達過程にある児童・思春期の脳内ネットワークとは異なる分子メカニズムが働いている可能性が考えられる。また、脳部位により興奮性・抑制性物質の状態が異なるため、今後は複数の脳領域において検討していく必要があるであろう。

感覚症状は ASD における主要な特徴の一つであり、米国精神医学会の診断基準 DSM-5 の「診断基準 B」に含まれている。感覚特性には質感やにおい、触覚、視覚、聴覚の入力に対する過敏性と低緊張性の両方が含まれる。ASD における非定型的な感覚処理は発達の早期にみられ、小児期以降の診断を予測するのみならず、成人における社会機能や認知機能の高次障害を予測し、社会性やコミュニケーション症状における独立した変化を説明できる可能性がある (Robertson and Baron-Cohen, 2017)。脳内グルタミン酸代謝物や GABA との関連については、過去の少数の研究から、学童期の ASD における右側頭頭頂接合部の Glx と感覚障害との負の相関、および成人 ASD における感覚運動領域の GABA と触覚過敏症状との間の正の相関が報告されている (Pierce et al., 2021; Sapey-Triomphe et al., 2019)。また別の研究では、成人の ASD 群・TD 群をひとまとめにしたサンプルで、AASP のいくつかの尺度と GABA との間の相関が報告されている (Umesawa et al., 2020)。今回の我々の結果からは、新たに ACC におけるグルタミン酸代謝物が ASD における感覚症状の一部を説明できる可能性が示唆された。本研究結果を踏まえ、今後は脳内の興奮性・抑制性バランスの変化やアストロサイト機能と ASD の感覚症状との関連性について、さまざまな手法を用いて多面的に検証していく必要があると考え

られる。

【参考文献】

Antoine, M.W., Langberg, T., Schnepel, P., Feldman, D.E., 2019. Increased Excitation-Inhibition Ratio Stabilizes Synapse and Circuit Excitability in Four Autism Mouse Models. *Neuron* 101, 648-661 e644.

Brown, C., Tollefson, N., Dunn, W., Cromwell, R., Fillion, D., 2001. The Adult Sensory Profile: measuring patterns of sensory processing. *Am J Occup Ther* 55, 75-82.

Cochran, D.M., Sikoglu, E.M., Hodge, S.M., Edden, R.A., Foley, A., Kennedy, D.N., Moore, C.M., Frazier, J.A., 2015. Relationship among Glutamine, gamma-Aminobutyric Acid, and Social Cognition in Autism Spectrum Disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 25, 314-322.

Du, Y., Chen, L., Yan, M.C., Wang, Y.L., Zhong, X.L., Xu, C.X., Li, Y.B., Cheng, Y., 2023. Neurometabolite levels in the brains of patients with autism spectrum disorders: A meta-analysis of proton magnetic resonance spectroscopy studies (N = 1501). *Mol Psychiatry* 28, 3092-3103.

Gzielo, K., Nikiforuk, A., 2021. Astroglia in Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci* 22.

Horder, J., Petrinovic, M.M., Mendez, M.A., Bruns, A., Takumi, T., Spooren, W., Barker, G.J., Kunnecke, B., Murphy, D.G., 2018. Glutamate

and GABA in autism spectrum disorder—a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models. *Transl Psychiatry* 8, 106.

Kubota, M., Kimura, Y., Shimojo, M., Takado, Y., Duarte, J.M., Takuwa, H., Seki, C., Shimada, H., Shinotoh, H., Takahata, K., Kitamura, S., Moriguchi, S., Tagai, K., Obata, T., Nakahara, J., Tomita, Y., Tokunaga, M., Maeda, J., Kawamura, K., Zhang, M.R., Ichise, M., Suhara, T., Higuchi, M., 2021. Dynamic alterations in the central glutamatergic status following food and glucose intake: in vivo multimodal assessments in humans and animal models. *J Cereb Blood Flow Metab*, 271678X211004150.

Kubota, M., Takahata, K., Matsuoka, K., Sano, Y., Yamamoto, Y., Tagai, K., Tarumi, R., Suzuki, H., Kurose, S., Nakajima, S., Shiwaku, H., Seki, C., Kawamura, K., Zhang, M.R., Takahashi, H., Takado, Y., Higuchi, M., 2023. Positron Emission Tomography Assessments of Phosphodiesterase 10A in Patients With Schizophrenia. *Schizophr Bull* 49, 688-696.

Maier, S., Duppers, A.L., Runge, K., Dacko, M., Lange, T., Fangmeier, T., Riedel, A., Ebert, D., Endres, D., Domschke, K., Perlov, E., Nickel, K., Tebartz van Elst, L., 2022. Increased prefrontal GABA concentrations in adults with autism spectrum disorders. *Autism Res* 15, 1222-1236.

- Mekle, R., Mlynarik, V., Gambarota, G., Hergt, M., Krueger, G., Gruetter, R., 2009. MR spectroscopy of the human brain with enhanced signal intensity at ultrashort echo times on a clinical platform at 3T and 7T. *Magn Reson Med* 61, 1279-1285.
- Montanari, M., Martella, G., Bonsi, P., Meringolo, M., 2022. Autism Spectrum Disorder: Focus on Glutamatergic Neurotransmission. *Int J Mol Sci* 23.
- Okada, T., Fujimoto, K., Fushimi, Y., Akasaka, T., Thuy, D.H.D., Shima, A., Sawamoto, N., Oishi, N., Zhang, Z., Funaki, T., Nakamoto, Y., Murai, T., Miyamoto, S., Takahashi, R., Isa, T., 2022. Neuroimaging at 7 Tesla: a pictorial narrative review. *Quant Imaging Med Surg* 12, 3406-3435.
- Okada, T., Kuribayashi, H., Kaiser, L.G., Urushibata, Y., Salibi, N., Seethamraju, R.T., Ahn, S., Thuy, D.H.D., Fujimoto, K., Isa, T., 2021. Repeatability of proton magnetic resonance spectroscopy of the brain at 7 T: effect of scan time on semi-localized by adiabatic selective refocusing and short-echo time stimulated echo acquisition mode scans and their comparison. *Quant Imaging Med Surg* 11, 9-20.
- Oya, M., Matsuoka, K., Kubota, M., Fujino, J., Tei, S., Takahata, K., Tagai, K., Yamamoto, Y., Shimada, H., Seki, C., Itahashi, T., Aoki, Y.Y., Ohta, H., Hashimoto, R.I., Sugihara, G., Obata, T., Zhang, M.R., Suhara, T., Nakamura, M., Kato, N., Takado, Y., Takahashi, H., Higuchi, M., 2023. Increased glutamate and glutamine levels and their relationship to astrocytes and dopaminergic transmissions in the brains of adults with autism. *Sci Rep* 13, 11655.
- Pierce, S., Kadlaskar, G., Edmondson, D.A., McNally Keehn, R., Dydak, U., Keehn, B., 2021. Associations between sensory processing and electrophysiological and neurochemical measures in children with ASD: an EEG-MRS study. *J Neurodev Disord* 13, 5.
- Provencher, S.W., 1993. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med* 30, 672-679.
- Robertson, C.E., Baron-Cohen, S., 2017. Sensory perception in autism. *Nat Rev Neurosci* 18, 671-684.
- Sapey-Triomphe, L.A., Lambertson, F., Sonie, S., Mattout, J., Schmitz, C., 2019. Tactile hypersensitivity and GABA concentration in the sensorimotor cortex of adults with autism. *Autism Res* 12, 562-575.
- Takado, Y., Takuwa, H., Sampei, K., Urushihata, T., Takahashi, M., Shimojo, M., Uchida, S., Nitta, N., Shibata, S., Nagashima, K., Ochi, Y., Ono, M., Maeda, J., Tomita, Y., Sahara, N., Near, J., Aoki, I., Shibata, K., Higuchi, M.,

2020. MRS-measured Glutamate versus GABA reflects excitatory versus inhibitory neural activities in awake mice. bioRxiv.

Tebartz van Elst, L., Maier, S., Fangmeier, T., Endres, D., Mueller, G.T., Nickel, K., Ebert, D., Lange, T., Hennig, J., Biscaldi, M., Riedel, A., Perlov, E., 2014. Disturbed cingulate glutamate metabolism in adults with high-functioning autism spectrum disorder: evidence in support of the excitatory/inhibitory imbalance hypothesis. *Mol Psychiatry* 19, 1314-1325.

Umesawa, Y., Atsumi, T., Chakrabarty, M., Fukatsu, R., Ide, M., 2020. GABA Concentration in the Left Ventral Premotor Cortex Associates With Sensory Hyper-Responsiveness in Autism Spectrum Disorders Without Intellectual Disability. *Front Neurosci* 14, 482.