

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月21日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659190

研究課題名（和文）自閉症治療のための創薬に向けた行動薬理学的モデル動物システムの開発

研究課題名（英文）Behavioral pharmacological study to develop animal model systems for creating drugs to treat autism

## 研究代表者

水口 雅 (MIZUGUCHI MASASHI)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20209753

研究成果の概要（和文）：自閉症の中核症状である社会的相互交流障害の改善に有効な薬物療法を開発することは重要である。結節性硬化症は *TSC1* ないし *TSC2* 遺伝子のハプロ不全に起因し、自閉症をしばしば合併する。本研究は、結節性硬化症モデル動物 *Tsc1<sup>+/-</sup>* および *Tsc2<sup>+/-</sup>* マウスの自閉症様行動異常、mTOR 阻害薬ラパマイシンの投与によるその改善、mTOR 系遺伝子の脳内発現異常のラパマイシン治療による正常化を見いだした。これらはマウスの自閉症様行動における mTOR 信号伝達の重要性を示すとともに、ヒト自閉症の薬物治療における mTOR 阻害薬の有用性を示唆する。

研究成果の概要（英文）： Drug therapy that effectively improves social interaction, a core symptom of autism, is awaited. Tuberous sclerosis complex (TSC) is caused by haploinsufficiency of the *TSC1* or *TSC2* gene, and is often manifested with autism. This study found in animal models of TSC, *Tsc1<sup>+/-</sup>* and *Tsc2<sup>+/-</sup>* mice, distinct autism-like behavioral features, and their recovery, as well as normalization of expression of multiple genes involved in mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling, after treatment with an mTOR inhibitor, rapamycin. These findings indicate the crucial role of mTOR signaling in autism-like behaviors in mice, and suggests the usefulness of mTOR inhibitors in the pharmacological treatment of human autism.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	390,000	3,190,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：自閉症、広汎性発達障害、結節性硬化症、モデル動物、行動薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 自閉症 (autism) は「社会的相互交流の障害」、「コミュニケーションの障害」、「反復的・常同的な行動」を中核症状とする発達障害である。有病率が高く自閉症スペクトラム全体として人口の1%以上に及ぶこと、社会適応の困難が強いこと、薬物治療として中核症状を改善できるものがなく対症療法の域にとどまっていることが現在の問題である。

(2) 自閉症は、結節性硬化症 (tuberous sclerosis complex, 以下 TSC) に代表される遺伝性疾患にしばしば合併する。TSC は *TSC1* ないし *TSC2* 遺伝子のハプロ不全に起因する常染色体優性遺伝疾患で、自閉症を高率 (50%以上) に合併し、既知の病因による自閉症としては最も有病率が高い。また、自閉症全体では顕著な性差がある (男性に多い) のに反し、TSC に合併する自閉症では性差がない。これらの事実から、TSC は自閉症の発症に直接関与していると推測される。TSC の病因は *TSC1*、*TSC2* のいずれかに生じた変異で、結節性硬化症は *TSC1* ないし *TSC2* 遺伝子のハプロ不全に起因する。*TSC1*、*TSC2* の異常は、下流にある mammalian target of rapamycin (mTOR) の機能亢進をもたらし、これが TSC の中心的病態と考えられている。TSC モデルマウスには脳病変が発生しないが、記憶学習障害があることが近年、報告された。しかし自閉症に相当する行動異常については、これまで明らかでなかった。

## 2. 研究の目的

(1) 自閉症の中核症状である「社会的相互交流の障害」を改善する薬物療法を開発するトランスレーショナルリサーチを推進する。こ

の目的に沿ったモデル動物として、樋野、小林らが作成した *Tsc1* ノックアウトマウス (*Tsc1*<sup>-/-</sup>)、*Tsc2* ノックアウトマウス (*Tsc2*<sup>-/-</sup>) を応用できないか、検討する。

(2) 具体的には、両マウスについて種々の行動実験を行い、自閉症様行動異常の有無を観察する。これが認められた場合、mTOR 阻害薬 rapamycin の投与により軽減されるかどうか、検討する。

## 3. 研究の方法

(1) 成熟した *Tsc1*<sup>+/-</sup> および *Tsc2*<sup>+/-</sup> マウスについて全身状態を調べた後、open field test、pole test、rotarod test、social interaction test、tube test、novel object test、food exploring test、light-dark box test を施行した。社会的相互交流を評価する social interaction test では、初めて接触する同性のマウスに対する active interaction (相互交流に相当) の時間および rearing (後肢による立ち上がり) の回数を計測した。

(2) rapamycin (sirolimus) 2, 5, 10 mg/kg ないし溶媒 (DMSO) を 24 時間間隔で 2 回、マウスに腹腔内投与した。翌日、social interaction test を行った。

(3) rapamycin 投与前後におけるマウス脳内の mRNA を抽出し、mTOR 関連遺伝子の発現パターンをマイクロアレイにより解析した。タンパクの発現およびリン酸化について Western ブロッティングにより検討した。

## 4. 研究成果

(1) *Tsc1*<sup>+/-</sup> および *Tsc2*<sup>+/-</sup> マウスは両者とも social interaction test において社会的相

互交流の障害(active interaction の減少)を示した。これは rearing の増加をともなっていた。全身状態および他の行動試験に顕著な異常はなかった。行動異常に関して、雌雄による違い(性差)はなかった。

(2) *Tsc1*<sup>+/-</sup>および *Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスの両者において、rapamycin (5~10mg/kg) 投与により上記の行動異常(active interaction の減少と rearing の増加)は改善し、野生型と同程度となった。rapamycin の効果に性差はなかった。なお、野生型マウスに rapamycin を投与しても、social interaction test における行動に有意な変化は見られなかった。

(3) *Tsc2*<sup>+/-</sup>マウス脳内では、複数の mTOR 関連遺伝子の発現量が異常に増加しており、rapamycin 投与後に正常化することが確認された。タンパクの発現ないしリン酸化については現在、解析が進行中である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Mizuno Y, Takahashi K, Igarashi T, Saito M, Mizuguchi M. Congenital infection-like syndrome with intracranial calcification. *Brain and Development*, 査読有, 33(6): 530-533, 2011. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03877604>
- ② Takahashi K, Oka A, Mizuguchi M, Saitoh M, Takita J, Sato A, Mimaki M, Kato M, Ogawa S, Igarashi T. Interstitial deletion of 13q14.13-q32.3 presenting with Arima syndrome and bilateral retinoblastoma. *Brain and Development*, 査読有, 33(4):353-356, 2011. <http://www.sciencedirect.com/>

[science/journal/03877604](http://www.sciencedirect.com/science/journal/03877604)

- ③ 水口雅. 神経皮膚症候群研究の進歩-NF1 (神経線維腫症 I 型) と TSC (結節性硬化症) -, 脳と発達、査読無、42(2):150-152, 2010. <http://www.meteo-intergate.com>

[学会発表] (計2件)

- ① Sato A, Kasai S, Takamatsu Y, Kobayashi T, Hino O, Ikeda K, Mizuguchi M. Autism-like behaviors in mouse models of tuberous sclerosis complex and their recovery by rapamycin. 2<sup>nd</sup> AsCNP, Grand Hilton Seoul Hotel (Korea), 2011年9月23日
- ② 佐藤敦志, 高松幸雄, 曾良一郎, 水口雅, 池田和隆: アリピプラゾールがドーパミントランスポーター欠損マウスの多動および協調運動障害に与える効果. 第20回日本臨床精神神経薬理学会・第40回日本神経精神薬理学会 合同年会, 仙台国際センター (宮城県), 2010年9月15日

[図書] (計2件)

- ① 水口雅、結節性硬化症、日本臨牀 68 巻増刊号：新時代の脳腫瘍学-診断・治療の最前線-、日本臨牀社、東京、2010、pp. 208-213
- ② 水口雅、結節性硬化症。小児科診療 73 巻増刊号：小児の治療指針、診断と治療社、東京、2010、pp. 750-752.

[その他]

東京大学発達医科学ホームページ

<http://www.development.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水口 雅 (MIZUGUCHI MASASHI)  
東京大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：20209753

(2) 研究分担者

池田 和隆 (IKEDA KAZUTAKA)  
財団法人東京都医学総合研究所・精神行動  
医学研究分野・副参事研究員  
研究者番号：60281656

(3) 連携研究者

なし