

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791126

研究課題名(和文) VLDL受容体過剰発現による自閉症病態モデルの開発

研究課題名(英文) VLDLR overexpression rat: evaluation as an animal model of autism

研究代表者

岩田 圭子 (IWATA KEIKO)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・助教

研究者番号：30415088

研究成果の概要(和文)：自閉症は、対人的相互作用やコミュニケーションの障害、興味・活動の限定された反復的常動的な行動様式などによって特徴付けられる広範性発達障害である。自閉症の病態メカニズムはいまだ不明であり、根本的な治療法は確立されていない。このような背景のもと、自閉症の死後脳において Reelin mRNA の減少とその受容体の一つである VLDL 受容体 (VLDLR : Very Low Density Lipoprotein Receptor) mRNA の増加が報告された。そこで本研究課題では、遺伝子改変技術によって VLDLR 過剰発現ラット (Tg ラット) を作製し、自閉症者に類似の行動学的変化を示すかどうかを解析することにより、本ラットが自閉症の病態モデルと成り得るかを検討することを目的とする。行動実験により Tg ラットに自発運動量の有意な増加、および作業記憶の低下傾向が認められた。一方、社会性や不安に異常は認められなかった。多動や作業記憶の障害は自閉症を含め広範性発達障害に広く認められる症状であり、本ラットの自発運動量の増加および作業記憶の低下傾向は非常に興味深い。また、Tg ラットの脳に組織学的な異常は認められなかった。発達障害や精神疾患の脳に劇的な組織学的異常が認められていないことから、本ラットが劇的な組織学的異常を持たず、上記の行動学的異常を示したことは精神医学的に意義深く、発達障害や精神疾患のモデルとして有用であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that level of VLDLR mRNA was increased in post mortem studies of autistic brain. In this study, we generated transgenic (Tg) rats overexpressing VLDLR and examined its histological and behavioral features. Results indicated that the spontaneous locomotor activity in Tg rats was significantly increased without detectable changes in histology. Additionally, Tg rats tended to show performance deficits in radial maze, suggesting that spatial working memory was slightly impaired. These results suggest that VLDLR level might be involved in locomotor activity and memory function. Patients with neurodevelopmental or psychiatric disorders do not show striking neuroanatomical aberration. Therefore, it is significant for the clinical aspect that these behavioral phenotypes were detected without neuroanatomical abnormality in VLDLR Tg rats.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：分子生物学 神経科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：児童・思春期精神医学

#### 1. 研究開始当初の背景

自閉症は、対人的相互作用やコミュニケーションの障害、興味・活動の限定された反復的常動的な行動様式などによって特徴付けられる広範性発達障害である。自閉症の病態メカニズムはいまだ不明であり、根本的な治療法は確立されていない。このような背景のもと、自閉症の死後脳において Reelin mRNA の減少とその受容体の一つである VLDL 受容体

(VLDLR : Very Low Density Lipoprotein Receptor) mRNA の増加が報告された。さらに、我々は血清中脂質プロファイルを調べたところ、高機能自閉症者の血清中脂質の VLDL 分画のみが、コレステロール・中性脂肪の双方で有意に低下していた。VLDLR は細胞膜タンパク質であり、血清中脂質の VLDL を特異的に細胞内に取り込む性質がある。VLDL の変化はこのような VLDLR の機能を反映していると考えられる。以上の結果より、VLDLR 遺伝子の過剰発現が、自閉症発症の病因に深く関与していると推測される。

#### 2. 研究の目的

本研究課題では、遺伝子改変技術によって作製した VLDLR 過剰発現ラットが、自閉症者に類似の行動学的変化を示すかどうかを解析し、本ラットが自閉症の病態モデルと成り得るかを検討することを目的とする。

#### 3. 研究の方法

- ①<sub>r</sub> VLDLR-Tg の作製
- ②<sub>r</sub> 脳病理組織学的評価
- ③<sub>r</sub> 行動学的評価。

#### 4. 研究成果

##### ①<sub>r</sub> VLDLR-Tg の作製

ラット VLDLR cDNA に CAG promoter を連結した DNA 断片を、ラット受精卵に顕微鏡下で注入した。この受精卵を雌性ラットの卵管に移植し、妊娠・満期正常出産を経て嫡出仔を得た。この嫡出仔の遺伝子スクリーニングを行い、VLDLR 遺伝子の増幅を確認して VLDLR-Tg とした。これを用いた交配を行い F1 世代を得た。F1 の成長および繁殖能に異常は認められなかった。また、Tg ラットの脳における VLDLR mRNA の過剰発現が確認された。

##### ②脳病理組織学的評価

本 Tg ラットの脳に組織学的な異常がないことを確認した。

##### ③行動学的評価

Tg ラットにおいて自発運動量が有意に増加していた。またその増加は light time, dark time どちらにも認められた。続いて放射状 8 方向迷路課題によって空間認知における作業記憶を評価したところ、Tg において記憶の低下傾向が認められた。一方、社会性および不安に異常は認められなかった。

#### 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 7 件)

・ Iwata K, Matsuzaki H, Takei N, Manabe T, Mori N. (2010) Animal models of autism: an epigenetic and environmental viewpoint. *Journal of Central Nervous System Disease*, 2, 37-44.

・ Suzuki K, Iwata Y, Matsuzaki H, Anitha A, Suda S, Iwata K, Shinmura C, Kamenno Y, Tsuchiya KJ, Nakamura K, Takei N, Mori N. (2010) Reduced expression of apolipoprotein E receptor type 2 in peripheral blood lymphocytes from patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 34, 1007-10.

・ Iwata, K., Ogata, S., and Taguchi, H. (2010) Novel Events in Mitochondria: Increase of Poly(ADP-ribosylation) in Human Promyelocytic Leukemia HL-60 Cell Line during Differentiation by Nicotinamide. *Process Biochemistry* 45, 54-59.

・ Iwata Y, Yamada K, Iwayama Y, Anitha A, Thanseem I, Toyota T, Hattori E, Ohnishi T, Maekawa M, Nakamura K, Suzuki K, Matsuzaki H, Tsuchiya KJ, Suda S, Sugihara G, Takebayashi K, Yamamoto S, Iwata K, Mori N, Yoshikawa T. (2010) Failure to confirm genetic association of the FXYD6 gene with schizophrenia: the Japanese population and meta-analysis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 153B, 1221-7

・ Suzuki K, Okada K, Wakuda T, Shinmura C, Kamenno Y, Iwata K, Takahashi T, Suda S, Matsuzaki H, Iwata Y, Hashimoto K, Mori N. (2010) Destruction of dopaminergic neurons in the midbrain by 6-hydroxydopamine decreases hippocampal cell proliferation in rats: reversal by fluoxetine. *PLoS One*, 17;5(2):e9260.

・ Fujita-Shimizu A, Suzuki K, Nakamura K, Miyachi T, Matsuzaki H, Kajizuka M, Shinmura C, Iwata Y, Suda S, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Sugihara G, Iwata K, Yamamoto S, Tsujii M, Sugiyama T, Takei N, Mori N. (2010) Decreased

serum levels of adiponectin in subjects with autism. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 34, 455-8.

・ Kajizuka M, Miyachi T, Matsuzaki H, Iwata K, Shinmura C, Suzuki K, Suda S, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Sugiyama T, Takei N, Mori N. (2010) Serum levels of platelet-derived growth factor BB homodimers are increased in male children with autism. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 34, 154-8.

〔学会発表〕（計 1 件）

Iwata, K., Matsuzaki, H., Izumo, N., Ichitani, Y., Mori, N., (2010) VLDLR overexpression rat: evaluation as an animal model of autism. Society for neuroscience 2010, San Diego, California, November13-16

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：高機能自閉症の発症危険度を判定する方法およびマーカー

発明者：森則夫、中村和彦、鈴木勝昭、土屋賢治、岩田圭子、松崎秀夫

権利者：国立大学法人 浜松医科大学

種類：特許

番号：2010JP006114

出願年月日：2010. 10. 14

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩田 圭子 (IWATA KEIKO)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・助教

研究者番号：30415088

(2) 研究分担者 ( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：