

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861059

研究課題名(和文) 自閉症の発症とセロトニン神経系の発達異常の関連 - PETとモデル動物を用いた解析

研究課題名(英文) Role of Pax6 on constructing brain higher function: in vivo brain imaging study on Pax6 mutant rats

研究代表者

平岡 宏太良 (HIRAOKA, KOTARO)

東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・助教

研究者番号：70586049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：転写制御因子Pax6は、大脳、小脳の形成にかかわり神経系の発生発達において重要な因子である。胎生期から成体まで神経幹細胞で発現がみられその増殖と分化のバランスを調整している。ヒトではPAX6の変異のある患者で精神遅滞や自閉症、前頭葉機能障害などの合併が報告されている。本研究ではPax6変異ラットと野生型ラットに対し小動物用MRIにより脳形態画像の撮像を行った。野生型に比べてPax6変異ラットは大脳皮質、海馬、扁桃体、視床、中脳、脳梁の体積が減少していることが明らかとなり、Pax6が高次脳機能の構築にどのように関与しているかについての一端が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Pax6 is a transcription factor which is crucial for the development of the central nervous system. It is thought to be an upstream of gene networks involved in brain patterning, neural migration, and neural circuit formation. Patients with PAX6 mutation have been reported to have mental retardation, frontal lobe dysfunction, or autism occasionally. In this study, we evaluated morphology of the brain in Pax6 mutant and wild type rats using small animal magnetic resonance imaging (MRI). We found decreased volumes of the isocortex, hippocampus, amygdala, thalamus, midbrain, and corpus callosum in Pax6 mutant rats compared to wild type rats. The results shed some light on the role of Pax6 on constructing brain higher function.

研究分野：神経科学

キーワード：Pax6 転写制御因子 高次脳機能 自閉症 脳形態

1. 研究開始当初の背景

自閉症 (autism) は、1) 社会的相互作用の障害、2) 社会的コミュニケーションの障害、および3) 限定的、反復的、常同的な行動、興味、活動をしめず、広範性発達障害である。小児の代表的精神行動異常疾患で、生後半年から1年以内に症状がみられ、その症状は生涯にわたる。その発症頻度としては、166人の新生児あたり一人の割合と近年報告されている。原因としては、他の精神疾患同様、生育等の環境要因も示唆されているが、一卵性双生児では発症の一致率が60~90%と高率であることなどより遺伝的関与も強いことが示されてきた。

我々は自閉症の発症と転写制御因子 Pax6 の関連について注目している。Pax6 は、大脳皮質、海馬、扁桃体、嗅球、視床、小脳の形成にかかわり、胎生期から成体まで神経幹細胞で発現がみられ、その増殖と分化のバランスを調整している。ヒト PAX6 遺伝子はもともと WAGR (Wilms tumor, Aniridia, Genital ridge defects, mental Retardation) 症候群で欠損している 11p12-14 領域に存在する AN2 (無虹彩症の原因遺伝子) として同定が進んだが、PAX6 に変異を有する無虹彩症の患者で、自閉症状や社会性の異常を伴う症例が報告されており、WAGR 症候群の患者の約 20% に自閉症の症状を合併することが知られている。また自閉症患者群のシーケンス解析により、自閉症患者に特異的な新しいミスセンス変異が PAX6 遺伝子内に見出されている (Maekawa et al., Neurosci Lett, 2009)。これらの知見および、PTEN、FMRP、Neuregulin、Foxp2 等 Pax6 により制御される因子に自閉症との関連が強く示唆されているものが多数存在することより自閉症および関連発達障害の発症に関して Pax6 がかわる可能性が高いと考えられる。

ヒトにおける様々な疾患の病因や病態のメカニズムを理解し、また新たな治療薬や予防手段の開発において、in vivo の動物個体を用いた研究は不可欠である。精神疾患の動物モデルを作成することは困難とされてきたが、疾患の遺伝的・生物学的病態の一端が明らかになるにつれ、それらをもとに精神疾患についてのモデル動物も提唱され、精神疾患の研究における有用性が示されるようになってきている。自閉症についても様々な動物モデルが提唱されているが (Tamada et al., PLoS ONE, 2010)、我々のグループも転写制御因子 Pax6 の遺伝子変異ラットを自閉症のモデルとして提唱している (Umeda et al., PLoS ONE, 2010)。Pax6 の変異ラットは、社会性の異常 (攻撃性の増加、引きこもり傾向) や興味の減少といった自閉症のコア症状を認め、また自閉症をはじめとした種々の精神疾患で認めるプレパルス抑制の低下や、超音波発声 (ultrasonic vocalization) の低下を幼若ラットに認める。超音波発声は幼若ラットが母ラットから隔離されるときに発す

るマザーコールであり、超音波発声の低下は自閉症のコミュニケーション異常に対応する動物モデルの表現型の一つに挙げられている。

セロトニン神経系は感情、痛み、睡眠や筋緊張の調節に関わっている。自閉症の発症とセロトニン神経系の異常の関連についてはこれまで様々な研究により示されてきた。約 30% の自閉症患者では血中のセロトニン濃度の上昇がみられたという報告がある一方で、血中の 99% のセロトニンを含む血小板を除いた乏血小板血漿ではセロトニン濃度が自閉症患者で有意に低下していることが報告されている (Spivak et al., Neuropsychobiology, 2004)。

また自閉症/自閉症スペクトラム障害患者では、セロトニン受容体やトランスポーターの遺伝的多型が報告されていたり、選択的セロトニン再取り込み阻害剤が自閉症の強迫的行動や常同運動に有効であることが報告されている (Hollander et al., Lancet, 2003)。自閉症モデルの動物では、Pax6 の変異ラットで血漿および海馬におけるセロトニン濃度の低下がみられた (Umeda et al., PLoS ONE, 2010) (図 1)。また、ヒト 14q11-13 重

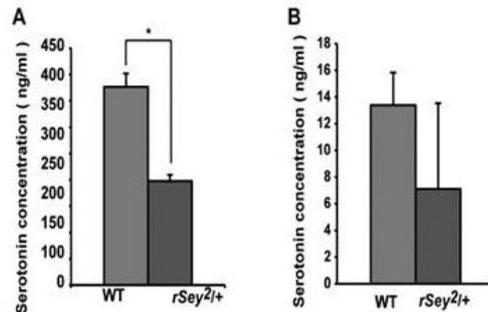


図1 Pax6変異ラット (rSey2/+) は野生型ラット (WT) に比べて乏血小板血漿においてセロトニン濃度の有意な低下を認め (A)、海馬ではにおけるセロトニンの低下傾向を認めた (B)。

複をモデル化したマウスでは、成体期には小脳、中脳、嗅脳においてセロトニンの量の減少がみられ、若年期には調べた脳領域すべてにおいて (大脳皮質、海馬、小脳、視床下部、中脳、橋および延髄) においてセロトニン量は野生型に比べて減少がみられ、脳内におけるセロトニンの減少が行動異常に関与している可能性が示唆されている (Tamada et al., PLoS ONE, 2010)。

研究代表者は陽電子放射断層撮影 (Positron Emission Tomography, 以下 PET) を用いた認知症患者のアセチルコリン神経系のイメージング (Hiraoka et al., Neuroimage, 2009, Hiraoka et al., Eur Neurol, 2012)、健常被験者のヒスタミン神経系のイメージングの研究 (Shibuya et al., Front Syst Neurosci, 2012)、核磁気共鳴画像法 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) を用いた認知症患者の脳の体積や形態の計測を行った研究 (Hiraoka et al., J Neurol Sci, 2010,

Hiraoka et al., J Neurol, 2011)等をこれまで行ってきた。近年小動物の撮像に特化した PET や MRI が開発され、非侵襲的に in vivo での脳の機能や形態の画像解析が可能となり、生きた状態での脳の代謝の測定や同一個体における経時的な脳機能・形態の変化を測定するなど、動物実験に活用されている(図 2)。

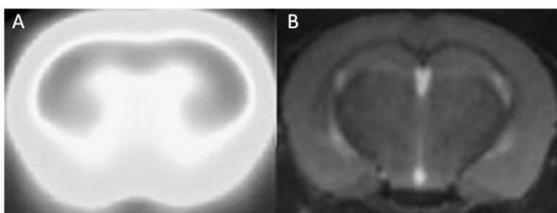


図2 ラットの脳のPETを用いた糖代謝イメージング(A)とMRIによる形態イメージング(B)

2. 研究の目的

本研究の目的は、Pax6 ヘテロ変異ラットに対して小動物用 MRI を用いた脳の形態計測および小動物用 PET を用いた脳機能計測を行うことにより、Pax6 が高次脳機能の構築にどのように関与しているか明らかにすることである。

自閉症モデルである Pax6 変異ラットおよび野生型ラットを用いて、同一個体の幼若期、若年期、成体期において、小動物用 PET、MRI を用いた非侵襲的な in vivo イメージングを行い、各発達段階における脳の各領域の体積やセロトニン神経系の機能を計測する。さらに、行動解析により評価される自閉症に関連した症状の発現との関連をみることにより、自閉症の症状・病態とセロトニン神経系の発達異常の関連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) MRI 撮像

Pax6 変異ラット 29 匹と野生型ラット 31 匹に対し成体期(生後 10 週)に 7 テスラの小動物用 MRI により T2 強調画像の撮像を行った。

(2) データ解析

Region-of-interest(ROI)解析と

Deformation Based Morphometry (DBM) 解析により脳の各領域の体積の異常を解析した。

4. 研究成果

野生型に比べて Pax6 変異ヘテロ接合ラットは大脳皮質、海馬、扁桃体、視床、中脳、脳梁の体積が減少していることが明らかとなった(図 3)。また ROI 解析で、Pax6 変異ラットにおいて野生型と比較して灰白質全体で平均 3.4%、白質全体で平均 3.6%、の体積減少を認め、扁桃体、脳梁、視床、海馬、大脳皮質、中脳において 3.5-7.0%の体積減少を認めた。

今後 MRI にて体積の減少を認めた脳領域に加えて、先行研究で形成に Pax6 の関与が明

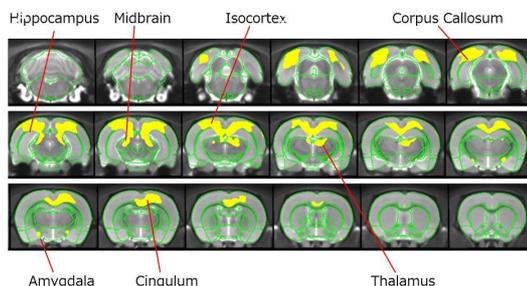


図3 DBM解析においてPax6変異型において野生型と比較して体積減少を認めた脳部位

らかとなっている小脳、嗅球について組織学的解析を進め、それらの部位における微細構造の異常について明らかにしたい。

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 6 件)

Harada R, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Hiraoka K, Watanuki S, Shidahara M, Miyake M, Ishikawa Y, Matsuda R, Inami A, Yoshikawa T, Tago T, Funaki Y, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y, [(18)F]THK-5117 PET for assessing neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease, European journal of nuclear medicine and molecular imaging, 査読有り, Vol. 42, No. 7, 2015, pp. 1052-61, doi: 10.1007/s00259-015-3035-4

Hiraoka K, Tashiro M, Grobosch T, Maurer M, Oda K, Toyohara J, Ishii K, Ishiwata K, Yanai K, Brain histamine H1 receptor occupancy measured by PET after oral administration of levocetirizine, a non-sedating antihistamine, Expert opinion on drug safety, 査読有り, Vol. 14, No. 2, 2015, pp. 199-206, doi: 10.1517/14740338.2015.989831

Kurokawa D, Sano H, Nagamoto H, Omi R, Shinozaki N, Watanuki S, Kishimoto KN, Yamamoto N, Hiraoka K, Tashiro M, Itoi E, Muscle activity pattern of the shoulder external rotators differs in adduction and abduction: an analysis using positron emission tomography, Journal of shoulder and elbow surgery, 査読有り, Vol. 23, No. 5, 2014, pp. 658-64, doi: 10.1016/j.jse.2013.12.021

Sato H, Ito C, Tashiro M, Hiraoka K,

Shibuya K, Funaki Y, Iwata R, Matsuoka H, Yanai K, Histamine H₁ receptor occupancy by the new-generation antidepressants fluvoxamine and mirtazapine: a positron emission tomography study in healthy volunteers, *Psychopharmacology*, 査読有り, Vol. 230, No. 2, 2013, pp. 227-34, doi: 10.1007/s00213-013-3146-1

平岡宏太良, 特発性正常圧水頭症の疫学・診断・病態に関する研究, *東北醫學雑誌*, 査読無し, Vol. 125, No. 1, 2013, pp. 79-82

Shidahara M, Tashiro M, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Watanuki S, Hiraoka K, Miyake M, Iwata R, Tamura H, Arai H, Kudo Y, Yanai K, Evaluation of the biodistribution and radiation dosimetry of the 18F-labelled amyloid imaging probe [18F]FACT in humans, *EJNMMI research*, 査読有り, Vol. 3, No. 1, 2013, pp. 32, doi: 10.1186/2191-219X-3-32

〔学会発表〕(計11件)

平岡宏太良, 特発性正常圧水頭症における脳内アミロイド沈着とシャント術による治療反応性の関連, 第54回日本核医学会学術総会, 2014年11月6日, 大阪国際会議場(大阪府大阪市)

平岡宏太良, 特発性正常圧水頭症における脳内アミロイド沈着とシャント術による治療反応性の関連, 第37回神経科学大会, 2014年9月11日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

Hiraoka K, Amyloid deposits and response to shunt surgery in idiopathic normal-pressure hydrocephalus, *Hydrocephalus* 2014, 2014年9月6日, Bristol (England)

平岡宏太良, 研究紹介, 第3回腫瘍分子イメージングセミナー, 2014年8月2日, 休暇村支笏湖(北海道千歳市)

平岡宏太良, 特発性正常圧水頭症における脳内アミロイド沈着とシャント術による治療反応性の関連, 第55回日本神経学会学術大会, 2014年5月21日, 福岡国際会議場(福岡県福岡市)

平岡宏太良, iNPHにおける脳内アミロイド沈着とシャント術による治療反応性の関連, 第15回日本正常圧水頭症学会, 2014年2月3日, 大阪大学(大阪府吹田市)

平岡宏太良, 特発性正常圧水頭症における脳内アミロイド沈着とシャント術による治療反応性の関連, 厚生労働省認知症対策総合研究事業 アミロイドイメージングを用いたアルツハイマー病発症リスク予測法の実用化に関する多施設臨床研究 平成25年度班会議, 2014年1月27日, 京都大学東京オフィス(東京都港区)

平岡宏太良, 11C-doxepin-PETによる抗ヒスタミン薬 levocetirizine の脳内ヒスタミン H₁ 受容体占拠率の測定, CYRIC 共同利用実験第34回研究報告会, 2013年12月9日, 東北大学サイクロトロン・RI センター(宮城県仙台市)

平岡宏太良, 11C-doxepin-PETによる抗ヒスタミン薬 levocetirizine の脳内ヒスタミン H₁ 受容体占拠率の測定, 第53回日本核医学学術総会, 2013年11月8日, 福岡国際会議場(福岡県福岡市)

平岡宏太良, 11C-doxepin-PETを用いた抗ヒスタミン薬 levocetirizine の脳内ヒスタミン H₁ 受容体占拠率の測定, 第129回日本医学放射線学会 北日本地方会, 2013年10月4日, 東北大学(宮城県仙台市)

平岡宏太良, 11C-doxepinを用いたPETによる抗ヒスタミン薬 levocetirizine の脳内ヒスタミン H₁ 受容体占拠率の測定, NEURO2013, 2013年6月20日, 国立京都国際会館(京都府京都市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.cyr.ic.tohoku.ac.jp/kakuigaku/index.html>

6. 研究組織
(1)研究代表者
平岡 宏太良(HIRAOKA, Kotaro)
東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・助教
研究者番号: 70586049

(2)研究分担者
無し

(3)連携研究者

無し

(4)研究協力者

大隅 典子 (OSUMI, Noriko)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：00220343

住吉 晃 (SUMIYOSHI, Akira)
東北大学・加齢医学研究所・助教
研究者番号：80612530

川島隆太 (KAWASHIMA, Ryuta)
東北大学・加齢医学研究所・教授
研究者番号：90250828