

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670491

研究課題名(和文) 発達期の脳mTOR系を標的とした薬物治療により自閉症発症を阻む試み

研究課題名(英文) Prevention of autism by drug therapy targeting mTOR system in developing brain

研究代表者

水口 雅 (MIZUGUCHI, Masashi)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授

研究者番号：20209753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：結節性硬化症はmTOR系の過剰な活性化を主な病態とする遺伝性疾患で、自閉症を高率に合併する。mTOR阻害薬を用いた自閉症の薬物治療を開発する目標に向けた橋渡し研究として、結節性硬化症モデルマウスを用いた薬物治療の実験を行なった。モデルマウスの思春期個体にmTOR阻害薬ラパマイシンを投与したところ、成獣と同等に自閉症様症状(社会的相互作用の低下)が改善した。しかし発達期にラパマイシンを長期投与すると全身状態の悪化、臓器の萎縮など副作用が顕著であり、今後、投与の時期と量を最適化する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Many patients with tuberous sclerosis complex (TSC), a hereditary disorder caused by an excessive activation of the mTOR system, have autism. As a translational research to develop drug therapy of autism, we conducted an experimental study using mouse models of TSC. When TSC mice were given an mTOR inhibitor, rapamycin, their autistic symptom, namely impairment of reciprocal social action, improved. The effect was comparable between adolescent and adult animals. On the other hand, animals who underwent chronic rapamycin treatment during the developmental period showed marked adverse effects, such as deterioration of systemic condition and atrophy of organs. The optimal dose and duration of drug therapy remained to be determined.

研究分野：医歯薬学

キーワード：自閉症 結節性硬化症 モデル動物 行動解析 mTOR系 橋渡し研究

1. 研究開始当初の背景

(1) 結節性硬化症 (tuberous sclerosis complex, 以下 TSC) は *TSC1* または *TSC2* 遺伝子の機能喪失変異に起因する常染色体優性遺伝疾患である。TSC の主な病態は mTOR 系の活性を抑制的に調節する TSC1-TSC2 複合体の機能の低下である。TSC は多くの臓器にさまざまな病変や症状を生じうる。とくに脳の症状として自閉症を高率に合併する。

(2) 申請者は従来 (平成 25 年度まで) の研究で TSC モデルマウスに自閉症様症状 (社会的相互作用の低下) があり、成獣に対する mTOR 阻害薬投与により著しく改善することを見出した (Sato *et al.* Nat. Commun. 2012)。この発見は TSC など mTOR 系の異常によるヒト自閉症の薬物治療の可能性を示す画期的なものであった。しかし発達期における mTOR 阻害薬投与の効果は不明であった。

2. 研究の目的

(1) TSC の動物モデルである *Tsc1*^{+/-} 及び *Tsc2*^{+/-} マウスにおいて、発達期に投与した mTOR 阻害薬に自閉症発症予防効果があるか否かを検討する。

(2) 自閉症の予防・治療に向けた mTOR 阻害薬投与の発達段階に応じた効果、副作用を検討し、至適な投与量と投与時期を見出す。

3. 研究の方法

(1) 平成 26 年度には TSC モデルマウスおよび対照 (野生型) マウスの乳幼仔 (P8~P40) に対して rapamycin 1~6mg/kg を長期投与 (週 3 回の腹腔内注射) し、全身状態および行動を観察した。社会性を評価する行動試験には、従来より成獣に対して用いていた active interaction test を用いた。

(2) てんかんはヒト TSC 患者で高率に見られるが、TSC マウスには見られない。てんかんの合併が社会性の発達に及ぼす影響を調べる目的で、平成 27 年度には乳幼仔 (P13) で実験的にカイニン酸、ペンチレンテトラゾール、NMDA によりてんかん発作を誘発し、発作閾値と行動発達への影響を調べた。

(3) 平成 27~28 年度、行動試験の新しい方法として reciprocal interaction test などを導入し、発達期マウスに対する rapamycin 短期投与の効果を検討した。また幼仔に対する rapamycin 長期投与の影響を脳、肝、腎、胸腺、脾臓について観察するとともに、遺伝子発現の変動の網羅的検討を開始した。

4. 研究成果

(1) 平成 26 年度の研究の結果、TSC マウスと対照マウスの両方において、rapamycin の幼仔期長期投与 (1~6mg/kg、週 3 回) は全身状態に対して、体重増加不良、毛並み不良、易刺激性、移動量の減少などの悪影響を用量依存性にもたらした。また TSC マウスにおいて、rapamycin による行動面での効果 (社

会性の改善) は明らかでなかった。

(2) 平成 27 年度の研究の結果、てんかん発作閾値に関して TSC マウスと野生型マウスの間に顕著な差はなかった。

(3) 平成 27~28 年度の研究の結果、思春期~成獣に対する行動試験として reciprocal interaction test の有用性、思春期 (P31~35) から成獣における rapamycin 投与の社会性改善効果が示された。また rapamycin 長期投与により TSC マウスの異常に重い脳重量が減少する効果、胸腺、脾臓が萎縮し肝臓が脂肪肝に陥る副作用が観察された。

(4) 本研究を通じ、mTOR 阻害薬は成獣期のみならず思春期においても TSC にともなう社会性障害を改善する効果を有すること、発達期に長期投与した場合全身性の副作用が出現する可能性があることが明らかとなった。これによりヒト TSC 患者の発達期における治療の有用な基礎データを蓄積することができた。

<引用文献>

Sato A, Kasai S, Kobayashi T, Takamatsu Y, Hino O, Ikeda K, Mizuguchi M. Rapamycin reverses impaired social interaction in mouse models of tuberous sclerosis complex. Nature Communications 2012; 3: 1292.

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 8 件)

Nguyen TQ, Saitoh M, Trinh HT, Doan NM, Mizuno Y, Seki M, Sato Y, Ogawa S, Mizuguchi M. Truncation and microdeletion of EVC/EVC2 with missense mutation of EFCAB7 in Ellis-van Creveld syndrome. Congenital Anomalies 査読有, 2016; 56(5): 209-216. doi: 10.1111/cga.12155

水口雅. 結節性硬化症—治療法の進歩—。日本小児科学会雑誌, 査読無, 2016; 120(4): 721-727.

Mimaki M, Shiihara T, Watanabe M, Hirakata K, Sakazume S, Ishiguro A, Shimojima K, Yamamoto T, Oka A, Mizuguchi M. Holoprosencephaly with cerebellar vermis hypoplasia in 13q deletion syndrome: Critical region for cerebellar dysgenesis within 13q32.2q34. Brain and Development, 査読有, 2015; 37(7): 714-718. doi: 10.1016/j.braindev.2014.10.009.

水口雅. 神経皮膚症候群 結節性硬化症. Clinical Neuroscience, 査読無, 2015; 33(4): 459-462.

Takamatsu Y, Hagino Y, Sato A,

Takahashi T, Nagasawa SY, Kubo Y, Mizuguchi M, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Improvement of learning and increase in dopamine level in the frontal cortex by methylphenidate in mice lacking dopamine transporter. *Current Molecular Medicine*, 査読有, 2015; 15(3): 245-252. PMID: 25817856

Hagino Y, Kasai S, Fujita M, Setogawa S, Yamaura H, Yanagihara D, Hashimoto M, Kobayashi K, Meltzer HY, Ikeda K. Involvement of cholinergic system in hyperactivity in dopamine-deficient mice. *Neuropsychopharmacology*, 査読有, 2015; 40(5): 1141-1150. doi: 10.1038/npp.2014.295.

水口雅. 結節性硬化症の中樞神経症状と治療. *脳と発達*, 査読無, 2015; 47(2): 106-111.

水口雅. 小児の治療指針 結節性硬化症. *小児科診療*, 査読無, 2014; 77(Suppl): S807-809.

〔学会発表〕(計 12 件)

水口雅. 結節性硬化症の診断・治療ガイドライン. 結節性硬化症の神経症状の診断と治療. 第 4 回日本結節性硬化症学会学術総会, 大阪大学医学部(大阪府吹田市), 2016 年 11 月 12 日

上田有里子, 下田木の実, 葛西真梨子, 竹中暁, 太田さやか, 佐藤敦志, 水口雅, 岡明. 結節性硬化症を基礎疾患として有する急性脳症の 2 例. 第 65 回日本小児神経学会関東地方会, 千葉大学医学部(千葉県千葉市), 2016 年 9 月 24 日

水口雅. 結節性硬化症、急性脳症. 第 9 回みやこ小児神経臨床懇話会、ホテルグランヴィア京都(京都府京都市), 2016 年 6 月 18 日

水口雅. 結節性硬化症の現状と今後—結節性硬化症にともなう自閉症の薬物治療. 第 58 回日本小児神経学会学術集会, 京王プラザホテル(東京都新宿区), 2016 年 6 月 3~5 日

Sato A, Tanaka M, Takamatsu Y, Kasai S, Kobayashi T, Hino O, Ikeda K, Mizuguchi M. *TSC2* haploinsufficiency causes more severe autistic-like behavioral deficit than *TSC1* in mice. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Taipei (Taiwan), 2015 年 5 月 14~17 日

岩崎博之, 水野葉子, 太田さやか, 下田木の実, 高橋長久, 三牧正和, 岡明, 水口雅. *TSC1* 遺伝子のホモ欠失により片側肥大をきたした結節性硬化症の一女兒. 第 2 回日本結節性硬化症学会学術総会, 東京大学医学部(東京都文京区),

2014 年 11 月 15 日

高橋長久, 太田さやか, 下田木の実, 水野葉子, 岩崎博之, 三牧正和, 武笠晃丈, 斎藤真木子, 水口雅. 多形膠芽腫を合併した結節性硬化症の 1 例. 第 2 回日本結節性硬化症学会学術総会, 東京大学医学部(東京都文京区), 2014 年 11 月 15 日

水口雅. 結節性硬化症—治療の進歩—. 第 118 回日本小児科学会学術集会、大阪国際会議場(大阪府大阪市), 2015 年 4 月 17~19 日

水口雅. 結節性硬化症をモデルとした自閉症薬物治療の試み. 第 6 回北海道小児神経研究会、KKR ホテル札幌(北海道札幌市), 2014 年 11 月 22 日

水口雅. 見逃してはならない治療法のある、あるいは今後期待できる小児神経疾患: 診断と治療の最前線—結節性硬化症の中樞神経症状と治療. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(静岡県浜松市), 2014 年 5 月 29~31 日

佐藤敦志, 高松幸雄, 小林敏之, 樋野興夫, 水口雅. 結節性硬化症モデルマウスにおいて *Tsc2* 変異はより重度の自閉症様行動と関連する. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(静岡県浜松市), 2014 年 5 月 29~31 日

岩崎博之, 太田さやか, 下田木の実, 水野葉子, 高橋長久, 三牧正和, 岡明, 斎藤真木子, 水口雅. エペロリムスにて上衣下巨細胞星細胞腫による水頭症が改善した結節性硬化症の 1 女性例. 第 56 回日本小児神経学会学術集会, アクトシティ浜松(静岡県浜松市), 2014 年 5 月 29~31 日

〔図書〕(計 7 件)

日本泌尿器科学会, 日本結節性硬化症学会(編)金原出版, 結節性硬化症に伴う腎血管筋脂肪腫診療ガイドライン. 2016, pp. 1-4.

五十嵐隆, 尾内一信, 清水俊明, 岡明(監)マルホ株式会社, 小児科診療 UP-to-DATE, vol. 18. 2016, pp. 26-30.

日本結節性硬化症学会(編)診断と治療社, 結節性硬化症の診断と治療最前線. 2016, pp. 27-33, 54-60.

新島新一, 山本仁, 山内秀雄(編)医学書院, こどもの神経疾患の診かた. 2016, pp. 210-214.

日本小児科学会(監修)国立成育医療研究センター小児慢性特定疾病情報室(編)診断と治療社, 小児慢性特定疾病診断の手引き, 2016, pp. 795-801.

日本臨牀社(編)日本臨牀社, 別冊日本臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 29, 神経症候群(第 2 版) その他の神経疾

患を含めて IV, 2014, pp. 773-776.
日本臨牀社(編) 日本臨牀社, 別冊日本
臨牀, 新領域別症候群シリーズ, No. 31,
神経症候群(第2版) その他の神経疾
患を含めて VI, 2014, pp. 162-165.

〔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

東大発達医科学 HP :

<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)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神

行動医学研究分野・分野長

研究者番号: 60281656