

審査の結果の要旨

氏名 佐藤 敦志

本研究は対人的相互交流およびコミュニケーションに障害をきたす発達障害である自閉症スペクトラム (以下、自閉症とする) おいて、mammalian target of rapamycin (mTOR)の関与を明らかにするため、自閉症を高率に合併し mTOR 機能の亢進を病態とする結節性硬化症のモデルマウスを用いて自閉症様の行動異常の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. TSC の原因遺伝子である *Tsc1* および *Tsc2* のヘテロ欠失マウス (*Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウス) において、対人的相互交流の障害に相当する行動異常である、新奇マウスに対する探索行動の低下を、social interaction test を用いて評価した。*Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスいずれも、野生型マウスと比較して探索行動が低下し、立ち上がり行動の回数が有意に増加していた。さらに、これらの行動異常はオス、メス双方にみられた。
2. *Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスにおいて、全身状態および神経学的反射の異常は観察されず、新奇マウスに対する探索行動に障害を与えうる行動異常については、社会的優位性、嗅覚、新奇物体への探索行動、不安様行動のいずれにおいても異常はみられなかった。また、運動機能、運動学習、痛覚にも異常はなかった。以上より、*Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスは新奇マウスへの興味・関心が特異的に低下していることが示された。
3. ヒトで成人に相当する生後 3 ヶ月齢以上の *Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスに対して mTOR 阻害剤である rapamycin を 1 日 1 回、2 日間腹腔内投与し、翌日に social interaction test を行った。Rapamycin は 5mg/kg および 10mg/kg の用量で、変異マウスの探索行動を野生型と同程度まで回復させることが明らかとなった。別グループの変異マウスを用いて 5mg/kg の rapamycin で追試を行い、探索行動の低下とともに立ち上がり行動の増加も正常化することが明らかとなった。一方、野生型マウスの行動は rapamycin の影響を受けなかった。*Tsc1*<sup>+/-</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/-</sup>マウスの自閉症様の行動異常は成人相当の時期においても、rapamycin によって正常化が可能であることが示された。

4. オス *Tsc2*<sup>+/+</sup>マウスに 5mg/kg の rapamycin を同様に投与して翌日に脳組織を採取し、mTOR シグナル系に関わる遺伝子の発現解析を行った。*Tsc1*, *Gsk3b*, *Mapk1*, *Eef2k*, *Ulk1*, *Deptor* の発現量が *Tsc2*<sup>+/+</sup>マウスで有意に増加し、*Tsc1* を除く 5 遺伝子は rapamycin 投与後に有意に減少することが明らかとなった。定量 RT-PCR 検討したところ、*Tsc1* の RNA 量が *Tsc2*<sup>+/+</sup>マウスで増加し、rapamycin の投与後に減少していた。
5. 4.と同様にして得られた脳組織を用いて、mTOR シグナル系に関わるタンパク質の発現量およびリン酸化について Western blotting を行ったところ、mTOR 活性の指標である S6K リン酸化が亢進しており、rapamycin 投与後に正常化した。一方、タンパク質の総量については、TSC1, TSC2, S6K, Akt いずれにおいても変化が見られなかった。従って、3.で行った rapamycin 投与は、変異マウスにおいて亢進した mTOR 活性を抑制することで、行動異常の正常化に至ったものと考えられた。

以上、本論文は結節性硬化症のモデルマウスを用いた行動薬理的解析から、*Tsc1*<sup>+/+</sup>マウス、*Tsc2*<sup>+/+</sup>マウスにおける自閉症様の行動異常を明らかにした。また、rapamycin を用いて mTOR シグナル系の亢進を抑制することで、この行動異常が成人に相当する時期においても治療可能であることを示した。本研究はこれまで有効な手立てがなかった、薬物による自閉症の根本治療の確立に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。