

2) マウス乳幼仔に対する mTOR 阻害薬投与の予備実験

TSC モデルマウス (*Tsc1*^{+/-}マウス、*Tsc2*^{+/-}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 を週 3 回腹腔内注射し、全身状態および行動を観察した。P40 以降に行動実験を施行した。

(倫理面への配慮)

動物実験は東京都医学総合研究所において、実験計画に関する審査と許可を受けて、諸規則を遵守しながら行った。

C. 研究結果

1) ヒト TSC 患者の自閉症における効果の検討

ヒト TSC 患者で SEGA または AML 治療を主たる目的として投与された everolimus (原則として SEGA では 3mg/m²、AML では 10mg (成人量)) は、腫瘍を縮小させる効果以外に、精神神経症状に対して下記のような効果を発揮することが記載された (水口 2015)。

- ・ 笑顔が増えた。
- ・ 活発になった。
- ・ 挨拶するようになった。
- ・ 人との関わりを楽しむようになった。
- ・ 問題行動 (自傷、癇癪) が減った。
- ・ 興味の幅が広がった。
- ・ QOL が向上した。

2) マウス乳幼仔に対する mTOR 阻害薬投与の予備実験

TSC マウス、対照マウスの両方において、rapamycin (1~6mg/kg、週 3 回) は全身状態に対して、用量依存性に下記の悪影響をもたらした。

- ・ 体重増加不良 (1~6mg/kg)
- ・ 毛並み不良 (1~3mg/kg で軽度、6mg/kg で著明)
- ・ 易刺激性 (3mg/kg で軽度、6mg/kg で著明)

- ・ 移動量の減少 (3~6mg/kg)

TSC マウスにおいて、rapamycin 投与群と vehicle 投与群の間で社会性に関する差は認められなかった。

D. 考察

TSC モデルマウスと同様に、ヒト TSC 患者においても mTOR 阻害薬に自閉症 (様) 症状の改善効果があることが示された。とくに「挨拶するようになった」、「人との関わりを楽しむようになった」、「問題行動が減った」、「興味の幅が広がった」などは自閉症の中核症状である「対人関係障害」、「興味・行動の限定」が改善された事実を示しており、今後の研究の展開に希望を持たせるものであった。いっぽうで、これらの症状の多くは定量的評価が困難であり、今後の研究に置いては適切な指標の作成・応用が最も大きな課題であることも明らかとなった。

マウス乳幼仔に対する rapamycin 投与については、現行の投与計画では副作用の方が大き過ぎ、効果を判定し得ないことが明らかとなった。今後の実験では投与量ないし投与期間の短縮を図る。いっぽう、mTOR 活性を過度に下げると易刺激性など違うタイプの発達障害をもたらす可能性、脳内 mTOR 活性のマーカーの必要性など今後の研究で重要と思われる課題が浮かび上がった。

E. 結論

ヒト TSC 患者において抗腫瘍薬として投与された mTOR 阻害薬 everolimus が自閉症症状を改善した事実が、複数の日本人症例において報告された。

TSC モデルマウス乳幼仔に対する mTOR 阻害薬 rapamycin の投与は、量と回数が多過ぎると全身的副作用が出現してむしろ有害である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1) 論文発表

<原著論文>

1. 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. *Curr Mol Med*, in press.
2. 水口雅 (2014) 小児の治療指針—結節性硬化症. *小児科診療* 77(Suppl): S807-809.

<その他総説・著書>

3. 水口雅 (2014) 神経皮膚症候群(母斑症)—結節性硬化症. *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, pp773-776. 大阪: 日本臨牀社.
4. 水口雅. てんかん症候群—Sturge-Weber症候群. *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, pp162-165. 大阪: 日本臨牀社.

2) 学会発表

5. 水口雅 (2014) 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—結節性硬化症の中核神経症状と治療. 第56回日本小児神経学会学術集会, 浜松, [2014/5/30]
6. 水口雅 (2014) 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、札幌、[2014/11/22]

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

3. 結節性硬化症遺伝子変異による中枢神経系の異常とmTOR阻害剤による回復状況の検出

担当責任者

小林 敏之 順天堂大学大学院医学研究科・分子病理病態学専攻・准教授

研究要旨

*Tsc1/Tsc2*複合変異のmTORC1活性化への影響を調べるため、ダブルヘテロ変異体マウスの脳のmTORC1経路の様子を、*Tsc1*、*Tsc2*単独ヘテロマウスの場合と比較検討した。複合変異は単独変異に比べた場合、脳全体のmTORC1活性亢進をさらに助長するものでは無いと推察された。また、新規のmTORC1関連経路と長期投与における副作用に関連する経路を解明するため、モデル実験系として*Tsc2*欠損マウス腎腫瘍細胞株に対するラパマイシン処理実験を行った。その結果、ラパマイシン長期処理により、ERKの活性化が生じていることが確認された。今後、このモデル系を用いた分析とラパマイシン投与マウスの脳を用いた分析により、治療に関わる新規知見を得ていく予定である。

A. 研究目的

TSCの多様な症状の発生には、様々な遺伝的要因や環境要因が関与すると考えられる。症状の軽微なTSC患者同士の婚姻等により、*TSC1/TSC2*複合変異を持つ症例が予想されるが、その臨床症状の重篤度に対する影響については全くわかっていない。*Tsc1* KO、*Tsc2* KOマウスの交配により得られるダブルヘテロ変異体マウスは、複合変異の影響を調べるための良いモデルであると言える。そこで、本研究事業では、ダブルヘテロ変異体マウスの自閉症様社会性行動異常を*Tsc1* KO、*Tsc2* KOマウスと比較検討し(佐藤ら)、本分担課題においてmTORC1の活性化状況を調べた。

一方、*TSC1*、*TSC2*変異によるmTORC1活性化は下流の様々な反応を惹起することが知られている。mTORC1阻害剤の連続的長期投与により、種々の副作用が生じることが知られているが、mTORC1を直接的に抑制するのではなく、それらの下流の反応を個別に抑制することにより、治療効果を維持したままで副作用を軽減することができる可能性がある。そこで本分担課題では、下流の抑制ポイントのオプションとなる新規経路を特定すると共に、mTORC1阻害剤の長期

投与によって増強される、副作用に関連する経路の特定を進めた。

B. 研究方法

1) 脳の蛋白分析

マウスの脳を摘出し、液体窒素で凍結保存を行った(佐藤ら)。総蛋白の抽出は、凍結組織をLaemmliのサンプルバッファーで溶解して行い、蛋白濃度の定量はDC Proteinアッセイ(Bio-Rad社)を用いて行った。ウェスタン・ブロット解析は、Envison(DAKO社)を二次抗体として用いて行い、検出はECL発光試薬(GEヘルスケア社)またはSuperSignal West Femto Max.Sensitivity Substrate(Thermo Sci.社)を用いて行った。使用した1次抗体は抗リン酸化S6(T389、Clone108D2、Cell Signaling Tech.社)等である。

2) 新規mTORC1関連経路の特定と長期投与の影響の解析

本年度はまず、*Tsc2* KOマウス由来の*Tsc2*欠損腎腫瘍細胞株MKOC1-277(Kobayashi T, *et al.* Proc Jpn Acad 79D, 23, 2003)を用いたモデル実験系の構築を行った。すなわち、培養下のMKOC1-277に対してラパマイシン短期処理

(20 nM、24 時間)、及び、長期投与(20 nM、1/10 継代で 10 継代以上)を行い(コントロールは DMSO)、1)と同様に蛋白を抽出してウェスタンブロット分析を行った。用いた抗体は抗リン酸化 ERK (T202/Y204, clone20G11, Cell Signaling Tech. 社)等である。

(倫理面への配慮)

該当無し。

C. 研究結果

1) 脳の蛋白分析

調べた条件下では、*Tsc1/Tsc2* ダブルヘテロ変異体マウスの脳において、*Tsc1*、*Tsc2* 単独のヘテロ変異体の脳よりも mTORC1 の活性 (S6K1 リン酸化を指標) がさらに亢進している様子は観察されなかった。

2) 新規 mTORC1 関連経路の特定と長期投与の影響の解析

MKOC1-277 細胞に対してラパマイシン処理を行ったところ、最初の 5 日程度で細胞増殖の抑制が生じ、細胞の形態が平坦な状態になることが観察された。しかしその後、2 週間程度で細胞増殖の亢進が認められ、細胞の形態もより上皮様に近い形態を示すようになることが解った。この長期に処理した細胞の分析を進めたところ、ERK のリン酸化が亢進していることが判明した。

D. 考察

脳全体の mTORC1 活性化について、*Tsc1* あるいは *Tsc2* の単独変異に比して、複合変異はさらなる活性亢進を誘発しないものと推察される。しかし、脳全体を用いたウェスタンブロットでは検出されない、領域特異的な変化などが生じている可能性は完全に否定できない。次年度以降において、組織標本等を用いた領域特異

的な分析を行うことが必要だと考える。

ラパマイシン処理による MKOC1-277 の増殖抑制、その後の増殖再活性化は、ラパマイシン長期処理によって各種反応のリモデリングがあることを推察させる。そのリモデリングの中に ERK の活性化が含まれ、副作用発生の一つの要因となっている可能性がある。一方、ERK の活性化は、TSC の腫瘍性病変の治療の際に問題となっている、ラパマイシン不応答性や再増大の分子基盤の観点からも興味深い。

E. 結論

マウス脳において *Tsc1/Tsc2* 複合変異は、単独変異に比べ、脳全体の mTORC1 のさらなる活性亢進を誘発するものではないと推察される。

MKOC1-277 細胞において ERK はラパマイシン長期投与により活性化される。ERK の活性化はラパマイシン長期投与による副作用に関連する可能性がある。今後、この培養系と共に、ラパマイシン投与マウスの脳を試料として、新規 mTORC1 関連経路と副作用に関連する経路の特定を進める。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1) 論文発表

<原著論文>

1. Ito Y, Kawano H, Kanai F, Nakamura E, Tada N, Takai S, Horie S, Arai H, Kobayashi T, Hino O. Establishment of *Tsc2*-deficient rat embryonic stem cells. *Int J Oncol*, in press.
2. Hobbs RM, La HM, Makela JA, Kobayashi T, Noda T, Pandolfi PP. Distinct germline progenitor subsets defined through *Tsc2*-mTORC1 signaling. *EMBO Rep*, in press.
3. Shiono M, Kobayashi T, Takahashi R, Ueda M, Ishioka C, Hino O (2014) Transgenic expression of the N525S-tuberin variant in *Tsc2* mutant (Eker)rats causes dominant

embryonic lethality. *Sci Rep* 4:5927.

4. Yasuda S, Sugiura H, Katsurabayashi S, Shimada T, Tanaka H, Takasaki K, Iwasaki K, Kobayashi T, Hino O, Yamagata K (2014) Activation of Rheb, but not of mTORC1, impairs spine synapse morphogenesis in tuberous sclerosis complex. *Sci Rep* 4:5155.

2) 学会発表

5. 小林敏之, 樋野興夫 (2014) 結節性硬化症モデル動物と細胞のシステムを用いた新規腫瘍治療法開発の戦略. 第2回日本結節性硬化症学会学術総会, 東京 [2014/11/15].
6. 河野春奈, 伊藤敬孝, 堀江重郎, 小林敏之, 樋野興夫 (2014) *Tsc2*欠損胚性幹細胞の遺伝子発現異常. 第73回日本癌学会学術総会, 東京 [2014/9/25-27].

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

委託業務成果報告(業務項目)

4. 結節性硬化症患者の自閉症スペクトラム障害に対するエベロリムスの改善効果に関する臨床研究

担当責任者

波多野 孝史 東京慈恵会医科大学大学院医学研究科・泌尿器科学・講師

研究要旨

結節性硬化症(TSC)は多彩な症状を呈し、大きく生命予後に関わる腫瘍性病変と、社会的予後あるいは生活の質に関わる精神神経症状が問題となる。mTOR阻害剤の導入によって腫瘍性病変の治療は進歩したが、同時に精神神経症状とくに自閉症スペクトラム障害(ASD)の治療にも役立つ可能性が基礎研究の成果から示唆され、いくつか症例報告もされている。我々はこれを検証するため、mTOR阻害剤エベロリムスの投与対象となるTSC患者に対し、投与前後でASD症状がどのように変化するか観察する前向き研究を立ち上げることにした。mTOR阻害剤がTSC患者の精神神経症状に与える効果の報告はほとんどないため、今後のデータ蓄積に期待が集まる。

A. 研究目的

結節性硬化症(以下、TSCとする)は多彩な症状を呈し、年余にわたってその管理治療を要する。生命予後に直結する脳腫瘍(上衣下巨細胞性星細胞腫: subependymal giant cell astrocytoma, SEGA)、腎腫瘍(腎血管筋脂肪腫: renal Angiomyolipoma, renal AML)、肺病変などのみならず、社会的予後を規定する精神神経症状もその重要な対象である。TSCに合併する精神神経症状はTSC-associated neuropsychiatric disorders(TAND)と総称され、知的障害、自閉症スペクトラム障害(autism spectrum disorder, ASD)、不安、抑うつなど多岐にわたる。

ASDは対人相互交流の障害、反復的常同的行動からなる発達障害で、TSC患者のおよそ半数に合併し、知的障害を伴うと合併率はさらに高い。ASDはTSC患者の生活能力や社会適応を大きく阻害するが、その対応は療育および対症療法としての薬物療法に限られており、新たな治療法の開発が急務である。

近年、mTOR阻害剤ラパマイシンがTSCモデル動物のASD症状を改善することが明らかとなった。ヒトにおいても、TANDに含まれる行動や情緒の異

常が軽減したとの症例報告が続いており、実際にASDの根本的治療薬として有効であると期待される。

本研究では、TSC患者の脳腫瘍および腎腫瘍に対して保険適応を有するmTOR阻害剤エベロリムスについて、これらの腫瘍に対する治療として投薬をうけた患者のASD症状が改善するか、客観的な診断基準および評価尺度を用いた前向き観察によって検討する。

B. 研究方法

JR 東京総合病院 結節性硬化症外来を受診するTSC患者に対する前向き観察研究計画を、同院ならびに東京都医学総合研究所にて作成し、それぞれの機関で倫理委員会の承認を得る手続きを行った。

本研究はヘルシンキ宣言2013年改訂版、「臨床研究に関する倫理指針」ならびに「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して行われる。参加者のプライバシー保護については、「臨床研究に関する倫理指針」(平成20年厚生労働省告示第415号)を遵守して個人情報適切に保護して行う。

C. 研究結果

本年度は前向き観察研究の実施計画を以下のように作成した。

・参加対象者：4歳以上 TSC 確定診断例で、SEGA または renal AML を合併すると診断されており、その治療目的でエベロリムスの投与が適切であるもの。ただし、renal AML は 15 歳以上が投与適応となっている。

・同意の取得：参加対象者の条件に合致する患者において、本研究の内容を患者本人および代理者へ文書で説明し、書面による自発的同意が得られたものを参加者とする。

・投薬前評価：JR 東京総合病院 結節性硬化症外来におけるエベロリムス投与前のルーチン検査に加え、精神科外来を受診して ASD の有無に関する診察をうけるとともに、行動異常に関する評価尺度（SCQ, SRS-2, ABC-J）を記入する。

・前向き観察対象の決定：投薬前評価によって「ASD あり」と診断されたものについて、エベロリムスの投与開始後も精神科的評価を継続する。「ASD なし」であったものは、以後通常の診療を継続するものとする。

・投薬後評価：投薬後、参加者は月 1 回の外来受診にてルーチンのフォローアップ検査を受けるとともに、評価尺度を記入し提出する（ABC-J は毎月、SCQ と SRS-2 は 3 ヶ月ごと）。観察期間は投薬後 6 ヶ月までとし、以降は患者ごとに通常の診療へ移行する。

・データ解析：得られたデータは匿名化のち東京都医学総合研究所で収集し、評価尺度スコアの投薬前後における変化等を解析する。

・研究期間：平成 27 年 4 月からの参加者募集を開始し、現在は平成 29 年 3 月までに観察を負える予定としている。この間に 10 名の「ASD あり」の参加者を目標としている。

D. 考察

TSC の多彩な病変に対する管理は、mTOR 阻害剤の導入によって大きく進歩した。本邦でも数年前より SEGA および renal AML に対してエベロリムスが使用可能となった。renal AML は TSC 患者の大多数に発生し、生命予後に最も関わる病変のひとつである。TSC においては両側に多発するため摘出術を行いにくく、mTOR 阻害剤による恩恵を特にうけるものと思われる。

このように腫瘍性病変を管理しえた患者においては、知的障害、ASD などの精神神経症状（TAND）が社会的予後や生活の質を規定すると考えられる。TSC に関する近年の動物研究により、ASD 症状は皮質結節やてんかんの合併がなくても、TSC の分子病態である mTOR シグナル伝達系の亢進のみによって生じること、mTOR 阻害剤によってこの異常を是正すると発達期以降も ASD 症状を治療できることが明らかとなった（Sato; Tsai）。難治性てんかんを合併する TSC 患者に対するエベロリムスの治験では、Responder rate（発作が半減した患者の割合）が 60%と抗てんかん薬として有効であった。同時に評価した行動面の変化において、社会性に関する複数の項目がエベロリムス投与後に有意に改善していた。難治性てんかんの改善による二次的効果の可能性はあるものの、ヒトにおいても mTOR 阻害剤によって ASD 症状が改善する可能性を示唆している。

TSC と ASD に関するこのような背景と、ASD の根本的治療薬がいまだに開発されていないというニーズから、TSC 合併 ASD における mTOR 阻害剤の治療効果を検討する意義は十分にある。しかし、すでに知られている mTOR 阻害剤の副作用（特に免疫抑制、間質性肺炎などの重篤なもの）、ASD 治療薬の開発戦略が確立していない現状を加味すると、ASD 治療薬としての治験には患者のリスクが高すぎると考えた。先行

研究から「発達期を超えても効果がある」「脳病変等によらず mTOR の抑制のみで効果がある」と仮説を立てることができる。これに合致する条件として、renal AML に対してエベロリムスによる治療を行う（15 歳以上の）TSC 患者という参加者を主に想定した観察研究が有用であると考えに至った。

E. 結論

TSC 患者がしばしば合併する ASD に対して mTOR 阻害剤が治療効果をもつか検討するため、エベロリムスを用いて renal AML あるいは SEGA を治療する患者における ASD 症状を前向きにフォローする観察研究を実施することとした。この取り組みは現時点で先行報告がない先進的なものであり、今後のデータ蓄積が待たれる。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1) 論文発表
なし

2) 学会発表

1. 波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久 (2014) 小児 TSC-AML に対するエベロリムスの使用経験. 第23回日本小児泌尿器科学会総会, 横浜 [2014/7/9-11]. 日本小児泌尿器科学会雑誌, 23(2)2014 p38
2. 波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久, 石井元, 穎川晋 (2014) TSC-AML に対するエベロリムスの効果 腫瘍成分別検討. 第45回腎癌研究会, 東京 [2014/7/20]. 腎癌研究会, No 44 p54
3. 波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久, 北条智, 石井元, 岸本幸一, 穎川晋 (2014) 結節性硬化症に伴う腎血管筋脂肪腫に対するエベロリムス投与が性腺におよぼす影響. 第79回日本泌尿器科学会東部総会, 横浜 [2014/10/12-14]. 第79回日本泌尿器科学会東部総会抄録集, p156

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

5. 結節性硬化症患者の自閉症スペクトラム障害に対するエベロリムスの改善効果に関する臨床研究

担当責任者

油井 邦雄 芦屋大学大学院発達障害教育研究所・精神医学・教授

研究要旨

自閉症スペクトラム障害(ASD)の社会性障害、特にコミュニケーション障害は社会不適応を生じるが、有効な治療法はない。ASDの病態として、我々は多価不飽和脂肪酸(PUFAs)の体内濃度での ω -3濃度の上昇と ω -6の濃度の減少を見出した。 ω -6PUFAのアラキドン酸が神経伝達に重要な役割を果たすことから、本研究課題の前段階と取組として、 ω -6： ω -3 PUFAsの濃度比が4：1のアラキドン酸製品による社会性障害の改善度を検索した。この製品は神経伝達のバイオマーカー transferrin, ceruloplasmin, superoxide dismutaseの血漿濃度を高め、社会性障害を有意に著明に改善した。しかし、この治療群に中の10%は言語的コミュニケーションの改善が社会適応レベルに至らなかった。そこで、結節硬化症の自閉症スペクトラム障害でラパマイシン阻害薬を用いて、その効果を検証して、社会適応レベルの至らない言語性コミュニケーションの改善度を検索して、新たな創薬の展開を図ることになった。

A. 研究目的

ASDの10%はいかなる治療でも言語的コミュニケーションの改善が社会適応レベルに至らない。そこで、結節性硬化症の自閉症スペクトラム障害でmTOR阻害薬を用いて、その効果を検証して、社会適応レベルの至らない言語性コミュニケーションの改善度を検索して、新たな創薬の展開を図ることになった。

B. 研究方法

言語的コミュニケーションの改善について、神経伝達機能を持つ ω -6 PUFAのアラキドン酸/ ω -3 PUFAの比が4/1のアラキドン酸製品での改善度を21例のASDで検索し、神経伝達バイオマーカーの血漿濃度を調べた。これは本研究課題の導入のための臨床試験である。この実践を踏まえて、本研究課題での診断、症状評価尺度の整備、結節硬化症の神経伝達バイオマーカーの選別を行った。

(倫理面への配慮)

本検索は実施医療機関(神戸市、藤本内科クリニック)の倫理委員会を独立行政法人医薬品・医療機器総合機構に登録した後に、この倫理委員会で

倫理審査を行って承認を得た。

C. 研究結果

アラキドン酸製品は神経伝達のバイオマーカー transferrin, ceruloplasmin, superoxide dismutaseの血漿濃度を高め、社会性障害を有意に著明に改善したが、10%の症例では言語的コミュニケーションの改善が社会適応レベルに至らなかった。そこで、結節硬化症の自閉症スペクトラム障害でラパマイシン阻害薬を用いる新たな創薬の展開を図ることになった。その過程で本研究課題での診断、症状評価尺度の整備、結節硬化症の神経伝達バイオマーカーの選別を行った。

D. 考察

言語的コミュニケーションの改善が社会適応レベルに至らない症例では、ラパマイシンなど新しい神経伝達系の関与が疑われた。

E. 結論

本研究課題の症例の選択基準、その診断、症状評価尺度の整備を行い得た。さらに、結節硬化症

の神経伝達バイオマーカの選別を行い得た。

F. 健康危険情報

mTOR 阻害剤エベロリムスは結節性硬化症の腎血管筋脂肪腫（腎 AML）および上衣下巨細胞性星細胞腫（SEGA）に認可されている。リスクの予知に関する多数の報告があつて、副作用の予防は容易である。

G. 研究発表

1) 論文発表

<原著論文>

1. Yui K, Sato A, George Omataka. Mitochondrial Dysfunction and its Relationship with mTOR Signaling and Oxidative Damage in Autism Spectrum Disorders. *Minirev Med Chem*, in press.
- <その他総説・著書>
2. 油井邦雄 (2014) 脳ペプチドに関わる精神神経疾患の病態と治療的展望：ミトコンドリアの機能障害との関連. *日本生物医学的精神医学会誌* 25(2),85-89.
 3. 油井邦雄. 自閉症スペクトラム障害の病態類型とバイオマーカ. *日本生物医学的精神医学会誌*, in press.

2) 学会発表

4. 油井邦雄 (2014) 自閉症スペクトラム障害の実践的治療の展望. 第110回日本精神神経学会, 横浜, [2014/6/27].
5. 油井邦雄 (2014) 精神神経疾患の新しい治療薬の展望. 第36回日本生物医学的精神医学会, 奈良, [2014年/10/1].
6. 油井邦雄 (2014) 自閉症スペクトラム障害の抗酸化能と治療的展開. 第24回日本神経精神薬理学会, 名古屋, [2014/11/22].

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅲ. 学会等発表実績

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「結節性硬化症における自閉症スペクトラム障害のmTOR阻害剤を用いた薬物療法に関する研究」

機関名 公益財団法人 東京都医学総合研究所

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果(発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所(学会等名)	発表した時期	国内・外の別
Tsc2 haploinsufficiency is associated with the more severe autism-related behavioral deficits in mouse models of tuberous sclerosis complex/ ポスター	<u>Sato A</u> , Takamatsu Y, Kasai S, <u>Kobayashi T</u> , Hino O, <u>Ikeda K</u> , <u>Mizuguchi M</u>	29th International College of Neuropsychopharmacology	2014/6/22-26	海外
Autistic-like behavioral deficits in mouse models of tuberous sclerosis complex are severer in Tsc2 mutation than in Tsc1 mutation/ ポスター	<u>Sato A</u> , Takamatsu Y, Miho T, Kasai S, <u>Kobayashi T</u> , Hino O, <u>Ikeda K</u> , <u>Mizuguchi M</u>	53rd annual Meeting of American College of Neuropsychopharmacology	2014/12/7-11	海外
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/ ポスター	佐藤敦志, 高松幸雄, 小林敏之, 樋野興夫, 水口雅	第56回日本小児神経学会学術集会	2014/5/29-31	国内
mTOR阻害剤による自閉症治療の可能性/ 口頭	佐藤敦志	第110回日本精神神経学会学術総会	2014/6/27	国内
結節性硬化症の脳機能障害と薬物治療の可能性/ 口頭	佐藤敦志	第2回日本結節性硬化症学会学術総会	2014/11/15	国内
自閉症スペクトラム障害の新規治療薬開発/ 口頭	佐藤敦志	第4回研究交流フォーラム	2015/2/2	国内
ドーパミントランスポーター欠損マウスにおけるメチルフェニデートとアトモキセチンの週齢別効果/ ポスター	長澤セーラ幸恵, 高松幸雄, 佐藤敦志, 柏井洋文, 久保有美子, 水口雅, 曾良一郎, 池田和隆	第24回日本臨床精神神経薬理学会・第44回日本神経精神薬理学会合同年会	2014/11/21	国内
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—結節性硬化症の中核神経症状と治療/ 口頭	水口雅	第56回日本小児神経学会学術集会	2014/5/30	国内
結節性硬化症をモデルとした自閉症薬物治療の試み/ 口頭	水口雅	第6回北海道小児神経研究会	2014/11/22	国内
Tsc2欠損胚性幹細胞の遺伝子発現異常/ ポスター	河野春奈, 伊藤敬孝, 堀江重郎, 小林敏之, 樋野興夫	第73回日本癌学会学術総会	2014/9/25	国内
結節性硬化症モデル動物と細胞のシステムを用いた新規腫瘍治療法開発の戦略/ 口頭	小林敏之, 樋野興夫	第2回日本結節性硬化症学会学術総会	2014/11/15	国内
小児TSC-AMLに対するエペロリムスの使用経験/ 口頭	波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久	第23回日本小児泌尿器科学会総会	2014/7/9	国内
TSC-AMLに対するエペロリムスの効果 腫瘍成分別検討/ ポスター	波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久, 石井元, 颯川晋	第45回腎癌研究会	2014/7/20	国内

結節性硬化症に伴う腎血管筋脂肪腫に対するエペロリムス投与が性腺におよぼす影響/ 口頭	波多野孝史, 稲葉裕之, 遠藤勝久, 北条智, 石井元, 岸本幸一, 颯川晋	第79回日本泌尿器科学会 東部総会	2014/10/12	国内
自閉症スペクトラム障害の実践的治療の展望/ 口頭	油井邦雄	第110回日本精神神経学会	2014/6/27	国内
精神神経疾患の新しい治療薬の展望/ 口頭	油井邦雄	第36回日本生物学的精神医学会	2014/10/1	国内
自閉症スペクトラム障害の抗酸化能と治療的展開/ 口頭	油井邦雄	第24回日本神経精神薬理学会	2014/11/22	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文 (発表題目)	発表者氏名	発表した場所 (学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
結節性硬化症モデルマウスの自閉症様行動におけるmTORシグナル系の関与	佐藤敦志, 笠井慎也, 小林敏之, 高松幸雄, 樋野興夫, 池田和隆, 水口雅	日本神経精神薬理学会雑誌	2014	国内
mTOR. 精神科領域の用語解説	佐藤敦志, 池田和隆	分子精神医学	2014	国内
自閉症スペクトラム障害の病態解明と治療薬開発を目指して自閉症スペクトラム障害の分子薬理学的研究	古田島(村上)浩子, 佐藤敦志, 池田和隆	日本薬理学雑誌	in press	国内
Association between genetic polymorphism rs2952768, close to the METTL21A and CREB1 genes, and intellectual ability in healthy subjects	Nishizawa D, Ohi K, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Yano-Umeda S, Takeda M, Ikeda K	J Addict Res Ther	2014	海外
Factors that affect intravenous patient-controlled analgesia for postoperative pain following orthognathic surgery for mandibular prognathism	Aoki Y, Yoshida K, Nishizawa D, Kasai S, Ichinohe T, Ikeda K , Fukuda K	PLoS ONE	2014	海外
Stress sensitivity in patients with atopic dermatitis in relation to the translocator protein 18 kDa (TSPO)	Koga M, Nakamoto Y, Nakamura K, Ikeda K , Yoshii M, Kawana S	J Nippon Med Sch	2014	国内
Haplotype analysis of GSK-3beta gene polymorphisms in bipolar disorder lithium responders and non-responders	Iwahashi K, Nishizawa D, Narita S, Numajiri M, Murayama O, Yoshihara E, Onozawa Y, Nagahori K, Fukamauchi F, Ikeda K , Ishigooka J	Clin Neuropharmacol	2014	海外

Haplotypes of P2RX7 gene polymorphisms are associated with both cold pain sensitivity and analgesic effect of fentanyl	Ide S, Nishizawa D, Fukuda K, Kasai S, Hasegawa J, Hayashida M, Minami M, <u>Ikeda K</u>	Mol Pain	2014	海外
Association between KCNJ6 (GIRK2) gene polymorphism rs2835859 and postoperative analgesia, pain sensitivity, and nicotine dependence	Nishizawa D, Fukuda K, Kasai S, Ogai Y, Hasegawa J, Sato N, Yamada H, Tanioka F, Sugimura H, Hayashida M, <u>Ikeda K</u>	J Pharmacol Sci	2014	海外
Involvement of cholinergic system in hyperactivity in dopamine-deficient mice	Hagino Y, Kasai S, Fujita M, Setogawa S, Yamaura H, Yanagihara D, Hashimoto M, Kobayashi K, Meltzer HY, <u>Ikeda K</u>	Neuropsychopharmacology	in press	海外
Prediction formulas for individual opioid analgesic requirements based on genetic polymorphism analyses	Yoshida K, Nishizawa D, Ichinomiya T, Ichinohe T, Hayashida M, Fukuda K, <u>Ikeda K</u>	PLoS ONE	2015	海外
ノルエピネフリントランスポーター遺伝子多型とアルコール依存症との関連研究	成田心, 永堀健太, 西澤大輔, 吉原英児, 川合厚子, 村山洋, <u>池田和隆</u> , 岩橋和彦	日本アルコール・薬物医学会雑誌	2014	国内
喫煙行動と相関するオピオイド受容体関連遺伝子多型の解析	笠井慎也, 西澤大輔, 長谷川準子, 佐藤直美, 谷岡書彦, 梶村春彦, <u>池田和隆</u>	日本神経精神薬理学会雑誌	2014	国内
多様な依存性物質の作用に共通して影響する遺伝子多型	西澤大輔, <u>池田和隆</u>	日本アルコール・薬物医学会雑誌	2014	国内
病態生理 1. 神経科学. In: 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 83/精神9 アルコール依存症(齋藤利和編)	<u>池田和隆</u>	最新医学社	2014	国内
痛みと遺伝子多型. In: 痛みのマネジメントupdate—基礎知識から緩和ケアまで—	西澤大輔, <u>池田和隆</u>	日本医師会雑誌	2014	国内
物質関連障害および嗜癖性障害群	宮田久嗣, 樋口進, 廣中直行, <u>池田和隆</u> , 伊豫雅臣, 小宮山徳太郎, 松本俊彦, 鈴木勉, 高田孝二, 和田清, 齋藤利和	精神神経学雑誌	2014	国内
小児の治療指針—結節性硬化症	<u>水口雅</u>	小児科診療	2014	国内
神経皮膚症候群(母斑症)—結節性硬化症	<u>水口雅</u>	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	国内

てんかん症候群—Sturge-Weber症候群	水口雅	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	国内
Establishment of Tsc2-deficient rat embryonic stem cells	Ito Y, Kawano H, Kanai F, Nakamura E, Tada N, Takai S, Horie S, Arai H, Kobayashi T , Hino O	Int J Oncol	in press	海外
Distinct germline progenitor subsets defined through Tsc2-mTORC1 signaling	Hobbs RM, La HM, Makela JA, Kobayashi T , Noda T, Pandolfi PP	EMBO Rep	in press	海外
Transgenic expression of the N525S-tuberin variant in Tsc2 mutant (Eker)rats causes dominant embryonic lethality	Shiono M, Kobayashi T , Takahashi R, Ueda M, Ishioka C, Hino O	Sci Rep	2014	海外
Activation of Rheb, but not of mTORC1, impairs spine synapse morphogenesis in tuberous sclerosis complex	Yasuda S, Sugiura H, Katsurabayashi S, Shimada T, Tanaka H, Takasaki K, Iwasaki K, Kobayashi T , Hino O, Yamagata K	Sci Rep	2014	海外
脳ペプチドに関わる精神神経疾患の病態と治療的展望：ミトコンドリアの機能障害との関連	油井邦雄	日本生物物学的精神医学会誌	2014	国内

IV. 研究成果の刊行物・別刷

[AsCNP2013 発表報告]

結節性硬化症モデルマウスの自閉症様行動における
mTOR シグナル系の関与*佐藤 敦志^{*1-3} 笠井 慎也^{*1} 小林 敏之^{*4} 高松 幸雄^{*1}
樋野 興夫^{*4} 池田 和隆^{*1} 水口 雅^{*3}^{*1} 東京都医学総合研究所 依存性薬物プロジェクト, ^{*2} 東京大学大学院 小児科学,^{*3} 東京大学大学院 発達医科学, ^{*4} 順天堂大学 分子病理病態学

自閉症スペクトラム障害 (以下, 自閉症) の治療において, 中核症状である社会的相互交流の障害を改善する治療薬はいまだに開発途上である. 自閉症の一部は遺伝子異常に伴って発症することが知られている. 元となる疾患の病態解明は, その疾患に合併する自閉症の治療法開発にも有用であると考えられる.

結節性硬化症 (TSC) は, *TSC1* および *TSC2* 遺伝子のヘテロ変異によって発症し, 最も頻度が高い自閉症の原因疾患のひとつである. TSC の分子病態はシグナル伝達系の下流で生じる mTOR シグナル系の亢進であり, その異常を是正する mTOR 阻害剤は, TSC に合併する腫瘍に有効である (Krueger et al, 2010). TSC に合併する自閉症も, mTOR シグナル系の亢進が原因で生じており, mTOR 阻害剤を用いて改善できるのではないかと期待される (de Vries and Howe, 2007).

我々は 2011 年の AsCNP にて, TSC モデルマウスが社会的相互交流の異常を呈し, これがラパマイシン (mTOR 阻害剤) の短期投与で正常化することを報告した. 今回は, この治療効果に伴う mTOR シグナル系の変化を検討した. *TSC1* と *TSC2* の異常によって, 生じる自閉症症状に差があるかも比較した.

方 法

1. マウス

遺伝子発現解析および Western blotting にはオス *Tsc2*^{+/+} マウスを用いた. 行動解析では *Tsc1*^{+/+} マウスと *Tsc2*^{+/+} マウスを交配して得られた野生型, *Tsc1*^{+/+}, *Tsc2*^{+/+} および *Tsc1*^{+/+}; *Tsc2*^{+/+} マウス (ダブルヘテロマウス) を用いた. いずれも生後 3 か月齢を超えた成獣を対象とした. 実験は動物実験等の実施に関する基本指針に従い, 東京都医学総合研究所において承認を受けて行った.

2. ラパマイシン

ラパマイシンは 10% DMSO に溶解し, 5 mg/kg の用量で 1 日 1 回, 2 日間腹腔内投与した. 3 日目に脳採取または行動解析を行った.

3. 遺伝子発現解析

全脳から総 RNA を抽出し, 増幅, cDNA 合成の後,

MouseRef-8 Expression BeadChips (Illumina 社) とハイブリダイズさせ, Illumina iScan reader を用いて検出した.

4. Western blotting

全脳をホモゲナイズしてタンパク質を抽出し, SDS-PAGE, 転写の後, Hamartin (*Tsc1* 産物), Tuberin (*Tsc2* 産物), 総 S6K, リン酸化 S6K, 総 Akt およびリン酸化 Akt を抗体を用いて検出した. ImageJ を用いたバンド強度の測定により, 蛋白量を定量した.

5. Social interaction test

マウスをホームケージで単独にして, 15 分慣らした. 同性の新奇マウス (C57BL/6J) をケージに入れ, マウスの行動を 10 分間録画した. 新奇マウスに対して探索行動を示した時間を計測した.

6. 統計解析

StatView 5.0 (SAS Institute) を用い, $P < 0.05$ を統計学的に有意とした.

結 果

1. 遺伝子発現の変化

Tsc2^{+/+} マウス脳において, *Tsc2* mRNA の発現が野生型マウス脳に比べて低下しており, ラパマイシン投与後にはさらに低下した. *Tsc1* mRNA の発現は亢進し, ラパマイシンで低下傾向を示した. *Tsc1* および *Tsc2* の上流の遺伝子では, *Gsk3b* (GSK3 β をコードする遺伝子) と *Mapk1* (ERK2 をコードする遺伝子) の mRNA 発現が亢進しており, ラパマイシン投与後に正常化した. mTORC1 下流の遺伝子の中では, *Ulk1*, *Igfbp1*, *Rps6* (S6 をコードする遺伝子), *Eef2k* の発現が亢進していた. ラパマイシン投与後, *Ulk1* と *Eef2k* の発現は抑制されたが, *Igfbp1* はされなかった. mTORC1 と mTORC2 の成分中では *Deptor* の発現が亢進しており, ラパマイシン投与後正常化した.

2. 蛋白質発現, リン酸化の変化

Tsc2^{+/+} マウス脳では, S6K のリン酸化が亢進していたが, ラパマイシン投与後に野生型と同程度まで抑制された. 総 S6K 蛋白量は, 遺伝子型および投薬によって変化しなかった. Tuberin 発現は軽度低下していたが, ラパマイシン投与によっても改善しなかった. Hamartin 蛋白量には変化がなかった. Akt リン酸化は軽度に低下して

いたが、S6Kとは異なりラパマイシン投与に反応しなかった。総Akt蛋白量は、遺伝子型および投薬によって変化しなかった。

3. *Tsc1* 欠失と *Tsc2* 欠失による自閉症症状の比較

Tsc1^{+/+}マウス、*Tsc2*^{+/+}マウスおよびダブルヘテロマウスにおいて、新奇マウスへの探索行動が野生型マウスに比べて有意に低下しており、低下の程度は遺伝子型によって差がなかった。2日間のラパマイシン投与後、変異マウスの探索行動はいずれの遺伝子型においても正常化した。野生型マウスでは、ラパマイシン投与後も新奇マウスへの探索行動は変化しなかった。

考 察

我々が以前に報告したとおり、*Tsc1*^{+/+}および*Tsc2*^{+/+}マウスの自閉症様行動は、2日間のラパマイシン投与で改善する。*Tsc2*^{+/+}マウスを用いた先行研究によると、4日間のラパマイシン投与によって、記憶学習の異常とmTORシグナル系の亢進が正常化する(Ehninger et al, 2008)。より短期間の投薬でもmTORシグナル系が是正されるか、遺伝子発現や蛋白質発現およびリン酸化へ予期せぬ影響を及ぼしていないか、検討しておく必要があった。

mTORシグナル系において、遺伝子発現、蛋白質発現およびリン酸化が異常をきたしており、ラパマイシン投与によって、自閉症様行動の改善とともに正常化することが明らかとなった。mTORシグナル系の活性指標であるリン酸化S6Kの変化は、ラパマイシンは2日間の投与によって脳内で有効に作用することを示している。一方、mTORからnegative feedbackを受けるAktのリン酸化には影響がなかった。Aktの上流にある遺伝子*PTEN*のヘテロ変異も、ヒト自閉症と関連する。神経細胞特異的*Pten*ノックアウトマウスに生後早期よりラパマイシンを継続投与すると、AktおよびmTORシグナル系の亢進が抑えられ、自閉症症状も現れない(Zhou et al, 2009)。今回の結果をあわせると、自閉症症状はAktのリン酸化によらず、mTORシグナル系の亢進のみによって生じるといえるだろう。

Tsc1 および *Tsc2* の上流で、*Gsk3b* と *Mapk1* の遺伝子発現が変化していたことは興味深い。*Gsk3b* は脆弱X症候群(FXS)、*Mapk1* は神経線維腫症(NF1)の分子病態に関係する。両疾患とも原因遺伝子が判明しており、自閉症を高率に合併することも分かっている。両疾患とも細胞あるいはモデル動物において、mTORシグナル系の亢

進が観察されている(Sharma et al, 2010; Johannessen et al, 2005)。mTORシグナル系が、個々の疾患を超えて自閉症の病態に深く関与していることが示唆される。

また、TSCの臨床的特徴として、TSC2変異をもつ症例は症状が重篤になる傾向があり、自閉症も合併しやすい(Numis et al, 2011)。Astrocyte特異的ノックアウトマウスにおいては、けいれんなどの神経症状が、*Tsc1*欠失マウスに比べて*Tsc2*欠失マウスで重症であるが(Zeng et al, 2011)、よりヒトに近いヘテロ欠失マウスでは、*Tsc1*欠失と*Tsc2*欠失における神経学的な相違の報告はほとんどない。今回の検討では、*Tsc1*^{+/+}、*Tsc2*^{+/+}およびダブルヘテロマウスのsocial interaction低下は、遺伝子型によらず同程度であった。TSCの表現型が*Tsc2*欠失によってより重篤となる機序はいまだに不明であり、今後はまず、モデルマウスの表現型をより多角的に比較検討する必要がある。

以上、本研究により、ヒト疾患TSCのモデルマウスに合併する自閉症症状が、mTORシグナル系の抑制によって治療可能であることが示された。

文 献

- De Vries, P.J. and Howe, C.J. (2007) The tuberous sclerosis complex proteins: a GRIPP on cognition and neurodevelopment. *Trends Mol Med*, 13: 319-326.
- Ehninger, D. (2008) Reversal of learning deficits in a *Tsc2*^{+/+} mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*, 14: 843-848.
- Johannessen, C.M. (2005) The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR. *PNAS*, 102: 8573-8578.
- Krueger, D.A. (2010) Everolimus for subependymal giant-cell astrocytoma in tuberous sclerosis. *N Eng J Med*, 363: 1801-1811.
- Numis, A.L. (2011) Identification of risk factors for autism spectrum disorders in tuberous sclerosis complex. *Neurology*, 76: 981-987.
- Sharma, A. (2010) Dysregulation of mTOR signaling in fragile X syndrome. *J Neurosci*, 30: 694-702.
- Zeng, L.H. (2011) *Tsc2* gene inactivation causes a more severe epilepsy phenotype than *Tsc1* inactivation in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Hum Mol Genet*, 68: 64-80.
- Zhou, J. (2009) Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific *Pten* knock-out mice. *J Neurosci*, 29: 1773-1783.

* 本稿は JSNP Excellent Presentation Award for AsCNP2013 (Beijing) を受賞した報告である。

JSNP Excellent Presentation Award for AsCNP2013: Causal role of unregulated mTOR signaling in autism-related behavioral deficits in mouse models of tuberous sclerosis complex.

Sato A, S. Kasai A, Kobayashi T, Takamatsu Y, Hino O, Ikeda K, Mizuguchi M.

mTOR

公益財団法人東京都医学
総合研究所

佐藤敦志 (SATO Atsushi)

池田和隆 (IKEDA Kazutaka)

mTOR と rapamycin¹⁾

mTOR (mammalian target of rapamycin) は、rapamycin の標的として発見された蛋白質である。mTOR は細胞内で複合体 mTORC1、mTORC2 (mTORC1 は Raptor、mTORC2 は Rictor をサブユニットとする点が異なる) を形成し、セリン・スレオニンキナーゼとして作用する。mTORC1 (以下、mTOR) は成長因子、飢餓などのシグナル入力を受けて活性化し、下流でさまざまな蛋白質をリン酸化して細胞の成長や増殖を調節する。なかでも重要な標的は S6K と 4EBP1 である。S6K は mTOR によって活性化されると、S6 を通じて蛋白質の合成を促進する。また、mTOR は 4EBP1 を抑制することにより eIF4E を活性化し、CAP 依存性の遺伝子発現を亢進させる (図 1)。

Rapamycin は *Streptomyces hygroscopicus* が産生するマクロライド系化合物で、その構造をもとにエペロリムスなどの誘導体 (ラパログ) が合成されている。rapamycin およびその誘導体は mTORC1 を阻害するが、mTORC2 の阻害作用はほとんどないとされる。

当初、mTOR シグナル系は腫瘍および免疫領域での研究が盛んで、臨床においても免疫抑制剤、抗腫瘍薬として使用されてきた。近年は中枢神経系における mTOR の機能が明らかになり、精神神経領域の新たな創薬ターゲットとして注目されている。本稿では、mTOR との関連での研究が進んでいる自閉症スペクトラム障害 (以下、自閉症)、うつ病、てんかんについて述べる。

mTOR と精神疾患

1) 自閉症¹²⁾

自閉症は遺伝性が強く、原因遺伝子は報告があるだけでも数十を超える。その一部は、機能が共通するいくつ

かのサブグループに分けられる。TSC1 および TSC2 (結節性硬化症)、PTEN (PTEN 過誤腫症候群)、FMRP (脆弱 X 症候群、FXS)、NF1 (神経線維腫症 1 型) などの遺伝子異常による疾患は自閉症を高率に合併し、いずれも、mTORC1 機能の亢進という共通の分子病態を有する (図 1)。

これらの遺伝子異常によって、細胞レベルでは樹状突起の分枝の亢進、未熟なスパインの増加、蛋白質合成の全体的な増加などが共通してみられる。行動レベルでは、遺伝子異常をもつマウスが自閉症様の行動異常を示すことが明らかとなっている。さらに、rapamycin によって mTOR シグナル系を抑制すると、細胞レベルの異常が改善するとともに自閉症様行動も正常化する³⁾。特に、rapamycin が成獣に対するわずか数日の投与でも有効である点は興味深い。

mTOR シグナル系の亢進が自閉症に至る機序は、いまだに不明な点が多い。FXS においては mGluR5 の機能亢進が以前から知られている⁴⁾。TSC では逆に、mGluR5 の機能低下がみられ、rapamycin によって回復する。興味深いことに、FXS と TSC のダブルノックアウトマウスでは mGluR5 の異常がキャンセルされ、それぞれ単独のノックアウトマウスが示す記憶障害が改善した⁵⁾。自閉症における mGluR5 の関与についても、今後の研究の進展が待たれる。

2) うつ病⁶⁾⁷⁾

うつ病患者の死後脳研究によると、うつ病患者の前頭前野などにおいて神経細胞の萎縮および mTOR シグナル系の抑制が報告されている。うつ病モデル動物においても、樹状突起の退縮、スパイン密度の減少とともに mTOR 活性の低下がみられる。

フェンサイクリジン系麻酔薬であるケタミンは、その強力な抗うつ効果が注目されている。ケタミンは非競合

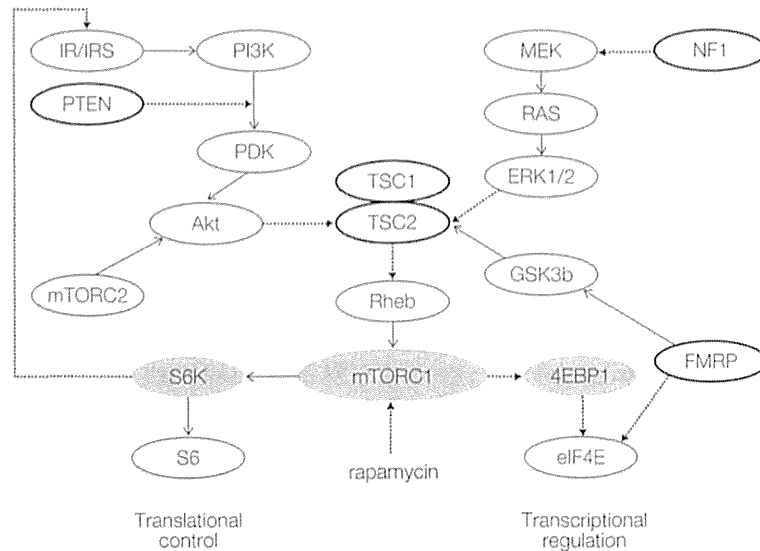


図 1. mTOR シグナル系

実線は活性化、点線は抑制を示す。太線で囲んだ遺伝子の異常は、mTORC1 機能亢進を伴う遺伝性疾患の原因である（本文参照）。mTORC1 の機能亢進によって、下流の S6K および 4EBP1 のリン酸化が亢進し、遺伝子の転写・翻訳に異常をきたす。

性 NMDA 受容体阻害薬として知られ、従来の抗うつ薬の主な作用機序であるモノアミン系には作用しない。ところが、ケタミンは動物モデルのみならず、難治性うつ病患者に対しても、非常に速やかに治療効果をもたらすことが明らかとなった。ケタミンの投与によって mTOR 活性が速やかに上昇し、同時に前頭前野においてスパイン密度の増加と成熟がみられる。同様の効果は AMPA 受容体作動薬の投与後にもみられ、AMPA 受容体拮抗薬によって消失する。また、ケタミンの抗うつ効果は BDNF ノックアウトマウスでは観察されない。グルタミン酸によるシグナル伝達や BDNF が、mTOR の活性低下によるうつ病の病態に関与し、うつ病の新たな治療標的になりうると考えられる。

3) てんかん²³⁾

自閉症患者は一般人口にくらべててんかんを合併しやすく、両者の発症機序には共通部分がある可能性がある。その代表例として、TSC および PTEN 過誤腫症候群の患者はてんかんの合併率が高い。両疾患の分子病態である mTOR シグナル系の亢進は、てんかんの発症にも関与すると考えられる。TSC および PTEN 異常症の

モデル動物において、ヒトと同じヘテロ変異ではてんかんを発症しないが、脳特異的ノックアウトマウスは重篤なてんかんを合併し、神経細胞および樹状突起の巨大化、軸索の肥大などの病理学的異常を伴う。てんかんと mTOR の関連はノックアウト動物にとどまらず、重積を含むけいれん発作、低酸素、脳損傷などによる後天性てんかんモデルマウスの脳組織、難治性てんかんを合併する脳病変（限局性皮質異形成、片側巨脳症、神経節腫など）においても、mTOR 活性の亢進が見出されている。

mTOR 阻害薬の抗てんかん作用は、上記のノックアウトマウスにおいては示されているが、後天性てんかんモデルマウスについては有効、無効それぞれの報告がある。モデルマウスおよび脳病変を用いた研究によると、mTOR シグナル系の亢進に伴って興奮性アミノ酸受容体および GABA 受容体の発現が変化しており、てんかんの発症にかかわると考えられる。臨床においては、エベロリムスが TSC 患者の難治性てんかんに有効であったとの報告がある⁹⁾。mTOR 阻害薬の適応となる患者背景の解明が期待される。