

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	田中 美歩
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 842 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Brain hyperserotonemia causes autism-relevant social deficits in mice (脳のセロトニン過剰はマウスで自閉症関連の社会的障害を引き起こす)
論文審査委員	主査 教授 笹岡 俊邦 副査 准教授 阿部 学 副査 客員教授 池田 和隆

博士論文の要旨

【背景と目的】

自閉スペクトラム症はコミュニケーションの障害や限局された興味を症状とする神経発達障害であり、脳のセロトニン過剰は自閉スペクトラム症の原因の一つと考えられている。この為、セロトニントランスポーター機能の調節により脳のセロトニン量を低下させることは、自閉スペクトラム症の症状を改善させる可能性がある。申請者は、セロトニンの前駆体であるトリプトファンに着目し、トリプトファン欠乏によるセロトニン量の低下がセロトニントランスポーター(*Sert*)欠損マウスでの自閉スペクトラム症様行動の改善に寄与するか検討することを目的とする。

【方法】

3 か月齢以上の野生型マウス, *Sert* ヘテロ欠損マウス及び *Sert* ノックアウトマウスを下記の解析に用いた。

自閉スペクトラム症の中核症状の一つである社会性行動の解析として、ソーシャル・インタラクションテスト、スリーチャンバーテストを実施した。また、不安様行動として高架式十字迷路テスト、ホールボードテストを行った。

次に、各ジェノタイプのマウスを 2 週間連続してトリプトファン欠乏食を摂取する群(トリプトファン欠乏食群)と通常の餌を摂取する群(コントロール群)に分けた。これらのマウスを用いてソーシャル・インタラクションテストでの社会性行動の解析、マイクロダイアリス法による線条体でのシナプス間隙のセロトニン量を測定した。また、トリプトファン欠乏食群、コントロール群の凍結した全脳から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析後に Base Space 及び MetaCore を用いた遺伝子発現解析による比較検討を行った。

【結果】

Sert ヘテロ欠損マウス及び *Sert* ノックアウトマウスでは野生型マウスと比べてソーシャル・インタラクションテストでの新奇マウスへの接触行動が減少し、スリーチャンバーテストでの新奇マウスと新奇物体への接触行動に違いが見られなかった。これらの知見は *Sert* ヘテロ欠損マウス及び *Sert* ノックアウトマウスでの社会性行動の異常を示唆する結果である。一方で、高架式十字迷路及びホールボードテストにおける不安様行動は *Sert* ヘテロ欠損マウスでは見られ

ず *Sert* ノックアウトマウスでのみ観察された。

2 週間のトリプトファン欠乏食の摂取により、ソーシャル・インタラクシオンテストで見られた社会性行動の低下は、*Sert* ノックアウトマウスだけでなく *Sert* ヘテロ欠損マウスにおいてもコントロール群と比べて改善が見られた。一方、線条体でのシナプス間隙のセロトニン量はコントロール群と比較してトリプトファン欠乏食群では野生型マウス、*Sert* ヘテロ欠損マウス、*Sert* ノックアウトマウスのいずれにおいても細胞外セロトニン量が減少していた。

遺伝子発現解析により、*Sert* ヘテロ欠損マウスと *Sert* ノックアウトマウス間ではその遺伝子セットは大きく異なることが明らかとなり、共通する遺伝子群では選択的セロトニン取り込み阻害薬処置での発現変化との関連が示唆された。さらに、それらの遺伝子群はトリプトファン欠乏による影響を受けることで、細胞外セロトニンまたはセロトニン誘導体であるメラトニンによって開始される cAMP 応答配列結合タンパク質 1 (CREB1) を中心としたシグナル伝達経路との関連が明らかとなった。そして、トリプトファン欠乏食の影響を受けた *Sert* ヘテロ欠損マウスと *Sert* ノックアウトマウスで唯一共通した遺伝子は *AU015836* であることを見出した。

【考察】

本論文では、マウスにおける *Sert* の機能低下と自閉スペクトラム症に関連する社会性行動の減少との間にある重要な因果関係を同定するに至った。社会性行動の減少は *Sert* の完全なノックアウトでなくともヘテロ欠損のみでも生成することが明らかとなり、微小なセロトニン量の減少が社会性行動の障害発生に影響している可能性が示唆される。また、本研究で見出されたセロトニンの重要な役割は、成人期のトリプトファン欠乏が社会的相互作用を改善し線条体の細胞外セロトニンレベルを低下させるという先行研究結果と整合性がある。

さらに、自閉スペクトラム症関連の社会性欠如の潜在的根底にある病理学的メカニズムが遺伝子発現のレベルで見出された。*AU015836* 遺伝子は *Sert* ヘテロ欠損マウスおよび *Sert* ノックアウトマウスの両方で変化し、トリプトファン欠乏食の摂取量によって遺伝子量が増加することが判明した唯一の遺伝子であった。さらに、CREB1 関連を含むより広範な一連のシグナル伝達経路との関連により、細胞外セロトニンだけでなくメラトニンの影響も示唆された。これらの結果は、自閉スペクトラム症の病態生理学のより良い理解に繋がり、セロトニン機能変化の役割の解明に寄与する。そして、一部の自閉スペクトラム症患者に対する新規治療アプローチの開発に役立つ可能性がある。

審査結果の要旨

自閉スペクトラム症(ASD)は、脳のセロトニン過剰が原因の一つであると考えられることから、セロトニントランスポーター(*Sert*)欠損マウスを用いて、ASD 様行動として社会性行動に着目し、脳のセロトニン量の低下で症状が改善する可能性を検討するため、セロトニンの前駆体トリプトファン(*Trp*)欠乏食投与によりセロトニン量の低下が ASD 様行動の改善に寄与するかを検討した。また遺伝子発現様式を全脳 RNA のマイクロアレイ解析により検討した。

Trp 欠乏食投与群で、*Sert* 欠損マウスの線条体のセロトニン量が減少し、社会性行動の低下に改善が見られた。

Sert 欠損マウスの遺伝子発現様式は選択的セロトニン取り込み阻害薬処置での発現変化との関連が示唆され、さらに *Trp* 欠乏食投与群で発現変化する、*AU015836* 遺伝子を見出した。

さらに、CREB1 関連を含むより広範な一連のシグナル伝達経路との関連により、細胞外セロトニン

だけでなくメラトニンの影響も示唆された。

本研究の結果は、ASDの病態生理学のより良い理解に繋がり、セロトニン機能変化の役割の解明に寄与し、そして、一部のASD患者に対する新規治療アプローチの開発に役立つ可能性を示した点で、博士論文としての価値を認める。