Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | バルプロ酸誘発自閉症モデルマウスにおける中枢ドパミン神経系の役割に関する研究 |
| Author(s) | 原, 雄大 |
| Citation | 大阪大学, 2017, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/61678 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=”https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed”>大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

様式３

# 論　文　内　容　の　要　旨

| 氏　名　（　原　雄大　） | |
|---|---|
| 論文題名 | バルプロ酸誘発自閉症モデルマウスにおける中枢ドパミン神経系の役割に関する研究 |

論文内容の要旨

自閉症は社会性の障害やコミュニケーションの障害を主徴とする発達障害の1つである．その発症原因は未だ不明であるが，遺伝的要因と環境要因との相互作用により発症する多因子疾患であると考えられている．一方，胎生期は，脳の発達・形成が顕著であり，血液脳関門が未形成であることから，薬物曝露やウイルス感染といった母体環境要因の影響を最も受けやすい時期であることが示唆されており，バルプロ酸を始めとする抗てんかん薬の妊娠期の服用が，自閉症の発症リスクを増加させることが報告されている．このような背景から，これまでに胎生期にバルプロ酸を投与したラットが，後天的な自閉症モデルとして用いられてきた．当研究室では，既存の遺伝子改変自閉症モデルマウスとの比較，ならびに遺伝子・環境相互作用の影響の解析が可能であることから，マウスを用いて胎生期におけるバルプロ酸投与の作用の解析を進めてきた．その結果，胎生12.5日目にバルプロ酸 500 mg/kgを腹腔内投与したICR系マウス由来の雄性出生仔が，生後に社会性行動障害を始めとする種々の自閉症様行動異常を示すこと，脳海馬領域の樹状突起スパイン密度の低下といった脳組織学的な変化を示すことなど，これまでの遺伝子改変モデルマウスやバルプロ酸誘発モデルラットと類似の行動学的および組織化学的な変化を示すことを明らかにした．

自閉症の薬物治療はその病態メカニズムが不明であり，未だ確立していないが，ドパミン神経系を標的とする注意欠陥多動性障害治療薬や抗精神病薬が，多動などの自閉症患者の周辺症状の治療に用いられている．また，興奮性と抑制性の神経伝達のバランスの破綻についてグルタミン酸神経系やGABA神経系に着目した病態の研究が数多く行われている．一方，自閉症患者において，ドパミン受容体などのドパミン神経系関連遺伝子の変異，脳内ドパミントランスポーターの機能変化が報告されるなど，自閉症とドパミン神経系機能変化との関連性を示す知見も見られるが，詳細は不明である．そこで，本研究では自閉症の病態発現ならびに治療におけるドパミン神経系の意義を解明することを目的に，バルプロ酸処置による自閉症モデルマウスの脳内におけるドパミン神経系の変化とドパミン神経系活性化薬の作用を行動薬理学的，神経化学的ならびに組織化学的手法を用いて解析した．

まず，胎生12.5日目にバルプロ酸を投与した妊娠マウスから出生したマウス（自閉症モデルマウス）の脳内におけるモノアミン含量とそれらの代謝回転について解析した．ドパミン神経系の投射先である前頭前皮質および線条体では，ドパミンの含量およびその代謝回転に変化はなかった．自閉症患者は社会性行動やコミュニケーションなど外的刺激に対する応答性が障害されていることが特徴である．そこで，外的刺激に対する応答性に着目し，中枢のドパミン神経系に作用する薬物に対する応答性を指標とした，ドパミン神経系の機能解析を行った．中枢神経系

刺激薬であるメタンフェタミンは，自発運動量，脳内モノアミン遊離ならびに神経活性化マーカーであるc-Fosタンパク質の発現を増加することが知られている．自閉症モデルマウスでは，対照群と比較して，メタンフェタミンによる運動量増加，前頭前皮質における細胞外ドパミン量増加ならびにc-Fos陽性細胞数増加がいずれも有意に減少していた．さらに，自閉症モデルマウスでは，前頭前皮質におけるドパミン $D_1$および$D_2$受容体発現が減少していた．一方，線条体においてこれらの変化は認められなかった．また，自閉症の発症率には性差があることから，雌性マウスにおける解析を行ったが，メタンフェタミンによる運動量増加ならびに前頭前皮質の細胞外ドパミン量増加作用，ドパミン受容体発現は対照群との差異は認められなかった．以上より，胎生期バルプロ酸投与が出生仔の雄性マウス特異的に，また前頭前皮質特異的にドパミン神経系の機能低下を引き起こすことが明らかになった．

　次に，ドパミン神経系活性化薬が，自閉症モデルマウスの行動異常ならびに樹状突起スパイン密度低下に与える影響について検討した．まず，注意欠陥多動性障害の治療薬であるメチルフェニデートとアトモキセチン，非定型抗精神病薬であるリスペリドンとアリピプラゾールが，自閉症モデルマウスの前頭前皮質におけるドパミンおよびノルアドレナリン遊離を促進することが見出された．注意欠陥多動性障害治療薬および非定型抗精神病薬の単回投与は，自閉症モデルマウスの行動異常ならびにスパイン密度低下に影響を及ぼさなかったが，これらの薬物の慢性投与（2週間）は，社会性行動障害，認知記憶障害ならびに前頭前皮質の樹状突起スパイン密度の低下を改善した．また，注意欠陥多動性障害治療薬の慢性投与による行動異常およびスパイン密度低下の改善効果は，ドパミン $D_1$および$D_2$受容体拮抗薬の併用投与により消失した．以上の結果は，前頭前皮質におけるドパミン神経系の賦活化が自閉症モデルマウスの行動異常を改善すること，この改善作用に前頭前皮質のドパミン $D_1$および$D_2$受容体が関わることを示すものである．

　以上の通り本研究により，胎生期のバルプロ酸曝露による自閉症モデルマウスの行動異常に，前頭前皮質のドパミン神経系の機能低下が関与すること，本自閉症モデルマウスの治療に前頭前皮質のドパミン神経系の活性化が有効であることが明らかとなり，発達障害における病態と治療機序の一端を明らかにすることが出来た．

様式 7

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

<table>
<tr><td colspan="2">氏　名　（　原　雄大　）</td></tr>
<tr><td rowspan="4">論文審査担当者</td><td>（職）　　　　氏　名</td></tr>
<tr><td>主 査　教授　橋本　均</td></tr>
<tr><td>副 査　教授　八木　清仁</td></tr>
<tr><td>副 査　教授　田熊　一敞</td></tr>
</table>

## 論文審査の結果の要旨

「バルプロ酸誘発自閉症モデルマウスにおける中枢ドパミン神経系の役割に関する研究」と題する論文において学位申請者は、自閉症のモデル動物として所属分野で確立した、抗てんかん薬のバルプロ酸を胎生期に投与したマウスにおいて、前頭前皮質のドパミン神経系機能が低下していること、また薬物による前頭前皮質のドパミン神経系の賦活化により、本モデルマウスの自閉症様の行動異常と樹状突起スパイン密度の低下が改善することを、行動薬理学的、神経化学的ならびに組織化学的に明らかにした。この研究は、自閉症の病態解明と治療薬の開発に繋がるものであり、その意味において神経薬理学的に興味深い研究である。

以下、本学位論文で発表された研究成果とその評価を示す。

神経発達障害の１つである自閉症は、未だ発症原因が不明であるが、遺伝的要因と環境要因の相互作用により発症する多因子疾患であると考えられている。神経薬理学分野では、バルプロ酸を服用した妊婦からの出生児が自閉症を発症する率が高まるとの臨床報告をもとに、マウスにおいて胎生期のバルプロ酸投与による自閉症モデルを作製し、自閉症の病態解明に取り組んできた。本論文において申請者は、ドパミン神経系に着目し、行動薬理学的、神経化学的ならびに組織化学的手法を用いて以下のことを明らかにした。

1. 自閉症モデルマウスでは、中枢のドパミン神経系に作用する薬物であるメタンフェタミンによる、運動量増加の減少、前頭前皮質における細胞外ドパミン量増加ならびにc-Fos発現量増加作用の減少、前頭前皮質のドパミン受容体発現の減少を見出し、胎生期のバルプロ酸投与が前頭前皮質のドパミン神経系機能を低下させることを明らかにした。
2. 胎生期のバルプロ酸の投与による前頭前皮質のドパミン神経系の機能低下は、雌性マウスでは認められず、雄性マウスに選択的であった。
3. 注意欠陥多動性障害（ADHD）治療薬および非定型抗精神病薬により、自閉症モデルマウスの前頭前皮質の細胞外ドパミン量は増加し、これらの薬物の慢性投与により、自閉症モデルマウスの社会性行動障害、認知記憶障害ならびに前頭前皮質の樹状突起スパイン密度の低下が改善した。
4. ADHD治療薬による自閉症モデルマウスの行動異常とスパイン密度低下の改善は、ドパミン$D_1$あるいは$D_2$受容体の拮抗薬により消失した。

これらの結果は、胎生期のバルプロ酸投与による自閉症モデルマウスの行動異常の発現に、前頭前皮質のドパミン神経系の機能低下が関与すること、前頭前皮質のドパミン神経系の活性化が本モデルマウスの治療に有効であることを示すものである。以上、本研究の成果は、発達障害における病態と治療機序の一端を明らかとし、発達障害を対象とする今後の創薬に貢献するものと考えられることより、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。