

特集 1 発達障害研究最前線—細胞から臨床まで—

4. mTOR シグナル経路を中心とした自閉スペクトラム症の病態解明と治療法開発に向けて

古田島 (村上) 浩子^{1,2)}, 佐藤 敦志^{1,3)}, 池田 和隆¹⁾

抄録: 自閉スペクトラム症 (以下, 自閉症) は, 対人相互関係やコミュニケーションの障害, 繰り返し行動や限局的な興味を主な特徴とする神経発達障害である。患者をサポートするには, 自閉症の特性への理解や対応スキルが必要であり, 家族やサポートする周囲の人々においても対応が困難な疾患である。自閉症の発症は遺伝や環境要因, また双方の要因の交絡が関与すると考えられているが, 現在のところ自閉症の病態解明や根治的な治療法の開発はされていない。本稿では自閉症を併発する遺伝性疾患の病態の一つである mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) シグナル経路の亢進に焦点をあて, 基礎研究, 臨床研究, さらに臨床や教育現場において患者に実施されている療育について紹介し, 議論する。合わせて著者らの研究室において見いだされた基礎研究の成果も紹介し, 今後の自閉症研究の展望も述べる。

日本生物学的精神医学会誌 33 (2) : 58-62, 2022

Key words : autism spectrum disorder, mTOR signaling pathway, rapamycin, valproic acid, therapy, intervention

はじめに

自閉スペクトラム症 (自閉症) の主な症状は社会性相互交流の障害であり, 他者との関わりに困難を有する。このため, 支援する家族や関係者にも大きな負担となっており, 自閉症の病態解明や根治的な治療法の開発が求められている。社会性相互交流の障害以外の自閉症の症状は, 繰り返し行動, 常同行動, 興味の限局, 感覚刺激に対する反応の亢進または低下を示すことが挙げられる²⁾。また患者によっては, 協調性運動障害を示し体の使い方や細かな作業において不器用さを呈する^{2, 3)}。自閉症に罹患した患者が家庭や学校において快適な生活を送るためには, 自閉症の特性に配慮した専門的な知識・指導やサポートを必要とする。さらに, 彼らが将来的に

安定した社会生活を送るために, 就労支援なども不可欠である。

自閉症は遺伝要因 (家族性の遺伝性変異や子のみに発現する *de novo* 変異) や環境要因 (親の高齢や胎生期の薬剤曝露など), また双方の要因が交絡することで生じることが示されており⁷⁾, 複雑な要因が自閉症病態の解明を困難にしている。これまで自閉症関連遺伝子を改変した自閉症モデル動物が作製され, 精力的に調べられてきた。神経系以外でも表現型を有するが, 高い確率で自閉症を合併する遺伝子疾患として, 結節性硬化症 (tuberous sclerosis complex : TSC) や神経線維腫症 1 型, PTEN 過誤腫症候群など mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) シグナル経路の亢進が共通病態となる疾患が含まれる¹⁾。そこで本稿では, 特に

Elucidation of the pathophysiology and development of effective treatments for autism spectrum disorders focusing on the mTOR signaling pathway

1) 公益財団法人東京都医学総合研究所 依存性物質プロジェクト (〒156-8506 東京都世田谷区上北沢 2-1-6) Hiroko Kotajima-Murakami, Atsushi Sato, Kazutaka Ikeda : Addictive Substance Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science. 2-1-6, Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506, Japan

2) 帝京大学理工学部 バイオサイエンス学科 (〒320-8551 栃木県宇都宮市豊郷台 1-1) Hiroko Kotajima-Murakami : Department of Biosciences, School of Science and Engineering, Teikyo University. 1-1, Toyosatodai, Utsunomiya-shi, Tochigi 320-8551, Japan

3) 東京大学医学部附属病院 小児科 (〒113-8655 東京都文京区本郷 7 丁目 3-1) Atsushi Sato : Department of Pediatrics, The University of Tokyo Hospital. 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

【古田島 (村上) 浩子 E-mail : kotajima-hr@igakuken.or.jp】

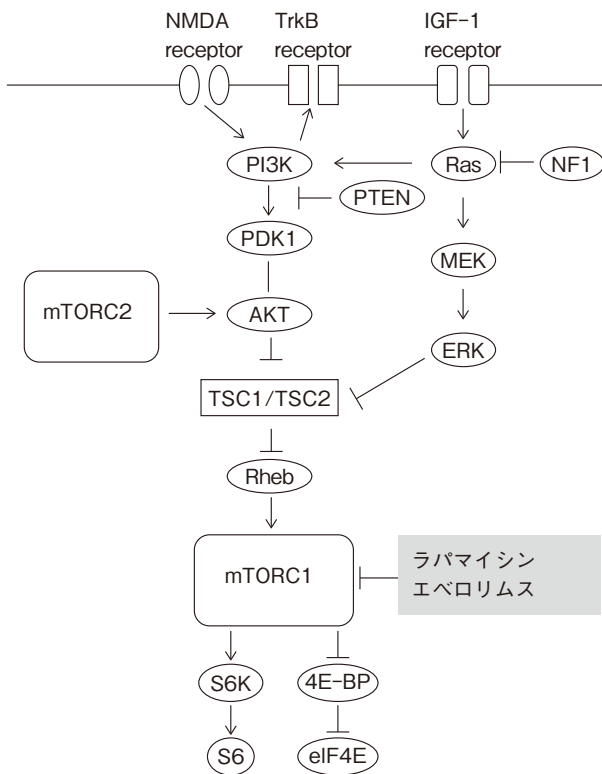


図1 mTORシグナル経路

mTORシグナルの中流にTsc1, Tsc2は存在し, mTORC1に対して抑制的に作用する。mTORC1の下流には, S6KやeIF4Eが存在し, タンパク質合成や翻訳制御に関与する。ラパマイシンやラパマイシンの誘導体であるエベロリムスはmTORC1の阻害剤である。

注) mTORシグナル経路の詳細な記述は本稿では省略している。日本語での詳細な記述は著者らの文献を参照のこと¹⁴⁾。

mTORシグナル経路に焦点を当て, 著者らの研究室で得られた知見も含めて紹介する。また自閉症患者を対象に行われている療育についても後述し, 今後の自閉症研究の展望も述べる。

1. mTORシグナル経路

a. 結節性硬化症と自閉症

TSCは, 皮膚症状, 神経症状および全身の過誤腫からなる常染色体顕性遺伝の神経皮膚症候群であるが, 患者のうち約半数が自閉症に罹患する¹⁸⁾。一般的には自閉症の罹患率は男性が女性の約4倍であるが¹⁶⁾, TSCの自閉症の場合, 発症に男女差はないことが報告されている³³⁾。TSCはmTORを抑制するTSC1あるいはTSC2の欠失によって生じる¹⁸⁾。mTORとは抗腫瘍薬および免疫抑制剤であるラパマイシンの標的タンパク質であり, mTORシグナル経路下流の活性化の亢進がTSCの病態である¹⁸⁾

(図1)。mTORは2つの異なる複合体, mTOR complex 1 (mTORC1)とmTOR complex 2 (mTORC2)に共通する主要なタンパク質である。mTORC1はタンパク質合成, 脂質合成, オートファジー, エネルギー代謝に関与し, ラパマイシンによって活性が抑制される。mTORC2は細胞の生存/増殖, 細胞骨格の調節に関与し, ラパマイシン抵抗性である¹⁷⁾。mTORC1は下流に位置するp70 S6 kinases (S6K)やeukaryotic initiation factor 4E (eIF4E)-binding proteins (4E-BP)のリン酸化を介して, タンパク質合成や翻訳調節を行っている¹⁷⁾。

これまでTsc1またはTsc2のヘテロ欠失マウスが作成され, 自閉症モデルマウスとして研究が進められてきた。Tsc1^{+/-}マウスならびにTsc2^{+/-}マウスは, 海馬に関する学習や記憶の障害を示すことが報告されている^{9, 15)}。Tsc1^{+/-}マウスの新奇マウスに対する探索行動の時間は野生型マウスに比べて減少しており, 自閉症の主な特徴である社会性行動の低下が示された⁹⁾。一方で, Tsc2^{+/-}マウスにおいて3-チャンパー型の社会性行動テストを用いて調べると, 社会性行動の障害は示されなかった^{4, 5)}。著者らの研究室において, ホームケージで新奇マウスと出合わせるテストを用いてTsc1^{+/-}マウスとTsc2^{+/-}マウスの社会性行動を調べ, Tsc1^{+/-}マウスとTsc2^{+/-}マウスが社会性行動の低下を示すことを見いだした²⁶⁾。同研究において, ラパマイシンを2日間腹腔内投与して最終投与から24時間後に社会性行動を測定し, Tsc1^{+/-}マウスとTsc2^{+/-}マウスの社会性行動障害が改善することを示した。小脳プルキンエ細胞特異的にTsc1を欠失させると, 社会性行動障害が生じ, ラパマイシン投与によって改善することがTsaiら²⁸⁾によって報告された²⁸⁾。近年, 小脳と内側前頭前野との機能的結合がTSCの自閉症の社会性行動に寄与することが示された¹²⁾。これらの知見から, mTORシグナル経路の活性化亢進は自閉症の病態の一つとして示唆される。

b. mTORシグナル経路とバルプロ酸の関連

mTORシグナル経路が環境要因によって引き起こされる他の自閉症の発症要因になりうるかの検討も行われている。バルプロ酸 (valproic acid: VPA)は気分障害や抗てんかん薬として広く用いられているが, 妊娠中の女性がVPAを服用すると, 生後, 子が自閉症と診断される確率が高くなる³⁾。このような医学・疫学的知見をもとに, 妊娠中のラットやマウスにVPAを投与し, 生まれてきた仔を自閉症モデル動物として扱う研究が行われている。近年で

は、霊長類であるマーモセットについても、妊娠中に VPA を投与することで仔が自閉症モデルとなることが報告されている³⁰⁾。胎生期に VPA に曝露されたラットはコントロールのラットに比べて運動機能の低下がみられ、また痛覚刺激に対する応答の亢進、不安の亢進、社会性行動の低下を示す²⁷⁾。ラットと同様に胎生期に VPA に曝露されたマウスに関しても、運動機能の低下や不安の亢進、社会性行動の低下が示されている^{11, 29)}。

VPA と mTOR シグナル経路に関しては次のような報告がある。mTOR のリン酸化レベルは胎生期 VPA 曝露ラットのの前頭前皮質や海馬、小脳において亢進している²²⁾。胎生期においてラパマイシンを同時投与すると、社会性行動障害が改善する²²⁾。また、ラパマイシン投与は、胎生期 VPA 曝露ラットの海馬ニューロンのアポトーシスを抑制する³²⁾。一方で、Nicolini ら²⁰⁾ は胎生期 VPA 曝露ラットの mTOR リン酸化レベルは外側側頭葉において減少していることを報告している²⁰⁾。これらの知見は、mTOR シグナル経路の異常が胎生期 VPA 曝露動物における自閉症様行動を引き起こすことを示唆している。著者らの研究室においても、胎生期 VPA 曝露マウスを用いて行動学的、分子生物学的にラパマイシンの投与効果を検討した¹³⁾。胎生期 VPA 曝露マウスは、若齢期、成熟期ともに社会性行動障害を示すが、ラパマイシンの投与によって、双方の時期において改善することを見いだした。また、mTOR シグナル経路の下流の S6 タンパク質のリン酸化の亢進がラパマイシン投与によって抑制された。本研究において、VPA 曝露で増加し、ラパマイシン投与で抑制される遺伝子として *Fyb* を見いだした。この遺伝子と S6 の間の直接的なネットワークは報告されていないが、LAPC-4 細胞にミリスチル化した Akt を添加しさらにラパマイシンを投与すると *Fyb* の翻訳率が減少することが示されている⁸⁾。今後、*Fyb* が自閉症の発症に寄与するハブとなる遺伝子であるのか、他の自閉症モデルの遺伝子発現解析を行い、比較する必要があると考えている。

c. mTOR 阻害剤を使用した自閉症の臨床研究

自閉症を伴う TSC 患者に対する mTOR 阻害剤の投与について、次のような臨床研究が報告されている。Tsc2 欠失変異を伴う女兒の症例報告において、mTOR 阻害剤であるエベロリムスの投与によって自閉症の評価スコアが改善した¹⁰⁾。エベロリムス投与はまた、TSC のてんかんの改善やそれに伴う生活の質を改善した¹⁵⁾。難治性てんかんに対するエベ

ロリムスのランダム化比較試験 (RCT) では、日本の参加者に対するサブ解析において、エベロリムス投与群はプラセボ群と比較して、てんかん発作の減少と自閉症評価スコアの改善傾向が報告された¹⁹⁾。一方で、若年の TSC 患者を対象とした RCT では、エベロリムス投与によって自閉症評価スコアや IQ の改善がみられなかった²¹⁾。臨床における mTOR 阻害剤の効果検証は現在のところ、研究途上段階である。mTOR 阻害剤は免疫抑制作用も有するので、若年の患者を対象とする場合は、発育発達への影響に留意しながら実施することが求められ、効果のある投与量・期間の設定が特に課題となる。また、患者の中でも層別化を行い、投与効果が得られた患者と得られなかった患者の背景を詳細に解析する必要があるだろう。

2. 療育の早期介入

自閉症患者への支援の一つとして療育が行われている。療育は、障がい児・障がい者が社会生活を送れるように症状や行動の改善をめざして、各医療機関や専門機関にて実施されている。自閉症児への療育の効果は 1980 年代に報告され²⁵⁾、現在まで応用行動分析 (applied behavior analysis : ABA), treatment and education of autistic and related communication handicapped children (TEACCH), ソーシャルスキルトレーニングなどが実施されている。これらの療育を動物実験として完全に再現することは困難であるが、環境調整による自閉症モデルマウスへの影響を検討する研究が行われている。例えば、遊び場が充実した豊かな環境での飼育や、若齢マウスへの継続的な触覚刺激により自閉症様症状の改善が示されている^{23, 24)}。近年、マウスの他個体との相互反応の質を定量評価する新たな行動評価システム (multiple animal positioning system : MAPS) が開発され⁶⁾、自閉症モデルマウスの社会性をより定量的に評価できる可能性がある。TSC 患者においても、発達の遅れや自閉症など神経発達症が疑われる際には、早期に療育を開始することが勧められている。今後、TSC モデルマウスを用いて療育効果を検討し、mTOR シグナル経路への影響を検討する研究が重要であると考えられる。

おわりに

本稿で示したように、TSC や胎生期 VPA 曝露マウスの自閉症様病態に mTOR シグナル経路の亢進

が関与しており、ラパマイシンによる抑制が効果的であることが示された。今後、臨床での実用化に向け、若年患者における効果の検討や長期的・継続的な投与による影響を検討する必要がある。自閉症患者は乳幼児期の健診でスクリーニングされ療育を導入されることが多く、その改善メカニズムについて検討していくことも重要である。自閉症を研究することは、同時に「社会性とは何か」という問いに答える研究であり、ヒトが社会生活を送るのにどのようなスキルを用いているのかを考える機会になる。著者らの研究が少しでも自閉症患者やサポートする周囲の人々の「生きやすさ」に貢献できれば、幸いである。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Abrahams BS and Geschwind DH (2008) Advances in autism genetics : on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet*, 9 : 341-355.
- 2) American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 5th edition. American Psychiatric Publishing, Washington DC, pp50-59.
- 3) Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ, et al (2013) Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*, 309 : 1696-1703.
- 4) Ehninger D, Han S, Shilyansky C, et al (2008) Reversal of learning deficits in a *Tsc2*^{+/-} mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*, 14 : 843-848.
- 5) Ehninger D, Sano Y, de Vries PJ, et al (2012) Gestational immune activation and *Tsc2* haploinsufficiency cooperate to disrupt fetal survival and may perturb social behavior in adult mice. *Mol Psychiatry*, 17 : 62-70.
- 6) Endo N, Ujita W, Fujiwara M, et al (2018) Multiple animal positioning system shows that socially-reared mice influence the social proximity of isolation-reared cagemates. *Commun Biol*, 1 : 225.
- 7) Folstein SE and Rosen-Sheidley B (2001) Genetics of autism : complex aetiology for a heterogeneous disorder. *Nat Rev Genet*, 2 : 943-955.
- 8) Gera JF, Mellinshoff IK, Shi Y, et al (2004) AKT activity determines sensitivity to mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors by regulating cyclin D1 and c-myc expression. *J Biol Chem*, 279 : 2737-2746.
- 9) Goorden SM, van Woerden GM, van der Weerd L, et al (2007) Cognitive deficits in *Tsc1*^{+/-} mice in the absence of cerebral lesions and seizures. *Ann Neurol*, 62 : 648-655.
- 10) Hwang SK, Lee JH, Yang JE, et al (2016) Everolimus improves neuropsychiatric symptoms in a patient with tuberous sclerosis carrying a novel *TSC2* mutation. *Mol Brain*, 9 : 56.
- 11) Kataoka S, Takuma K, Hara Y, et al (2013) Autism-like behaviours with transient histone hyperacetylation in mice treated prenatally with valproic acid. *Int J Neuropsychopharmacol*, 16 : 91-103.
- 12) Kelly E, Meng F, Fujita H, et al (2020) Regulation of autism-relevant behaviors by cerebellar-prefrontal cortical circuits. *Nat Neurosci*, 23 : 1102-1110.
- 13) Kotajima-Murakami H, Kobayashi T, Kashii H, et al (2019) Effects of rapamycin on social interaction deficits and gene expression in mice exposed to valproic acid in utero. *Mol Brain*, 12 : 3.
- 14) Kotajima-Murakami H, Sato A and Ikeda K (2015) Pathology and treatment of autism spectrum disorders. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 145 : 193-200.
- 15) Krueger DA, Wilfong AA, Holland-Bouley K, et al (2013) Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*, 74 : 679-687.
- 16) Lai MC, Lombardo MV and Baron-Cohen S (2014) Autism. *Lancet*, 383 : 896-910.
- 17) Laplante M and Sabatini DM (2012) mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149 : 274-293.
- 18) Mizuguchi M (2007) Abnormal giant cells in the cerebral lesions of tuberous sclerosis complex. *Congenit Anom*, 47 : 2-8
- 19) Mizuguchi M, Ikeda H, Kagitani-Shimono K, et al (2019) Everolimus for epilepsy and autism spectrum disorder in tuberous sclerosis complex : EXIST-3 substudy in Japan. *Brain Dev*, 41 : 1-10.
- 20) Nicolini C, Ahn Y, Michalski B, et al (2015) Decreased mTOR signaling pathway in human idiopathic autism and in rats exposed to valproic acid. *Acta Neuropathol Commun*, 3 : 3.
- 21) Overwater IE, Rietman AB, Mous SE, et al (2019) A randomized controlled trial with everolimus for IQ and autism in tuberous sclerosis complex. *Neurolo-*

- gy, 93 : e200–e209.
- 22) Qin L, Dai X and Y (2016) Valproic acid exposure sequentially activates Wnt and mTOR pathways in rats. *Mol Cell Neurosci*, 75 : 27–35.
- 23) Queen NJ, Boardman AA, Patel RS, et al (2020) Environmental enrichment improves metabolic and behavioral health in the BTBR mouse model of autism. *Psychoneuroendocrinology*, 111 : 104476.
- 24) Raza S, Harker A, Richards S, et al (2015) Tactile stimulation improves neuroanatomical pathology but not behavior in rats prenatally exposed to valproic acid. *Behav Brain Res*, 282 : 25–36.
- 25) Rogers SJ and Vismara LA (2008) Evidence-based comprehensive treatments for early autism. *J Clin Child Adolesc Psychol*, 37 : 8–38.
- 26) Sato A, Kasai S, Kobayashi T, et al (2012) Rapamycin reverses impaired social interaction in mouse models of tuberous sclerosis complex. *Nat Commun*, 3 : 1292.
- 27) Schneider T and Przewtocki R (2005) Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid : animal model of autism. *Neuropsychopharmacology*, 30 : 80–89.
- 28) Tsai PC, Hull C, Chu Y, et al (2012) Autistic-like behaviour and cerebellar dysfunction in Purkinje cell Tsc1 mutant mice. *Nature*, 488 : 647–651.
- 29) Wagner GC, Reuhl KR, Cheh M, et al (2006) A new neurobehavioral model of autism in mice : pre- and postnatal exposure to sodium valproate. *J Autism Dev Disord*, 36 : 779–793.
- 30) Watanabe S, Kurotani T, Oga T, et al (2021) Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. *Nat Commun*, 12 : 5388.
- 31) Whyatt C and Craig C (2013) Sensory-motor problems in Autism. *Front Integr Neurosci*, 7 : 51.
- 32) Zhang J, Zhang JX and Zhang QL (2016) PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy in the development of autism spectrum disorder. *Brain Res Bull*, 125 : 152–158.
- 33) de Vries PJ, Hunt A and Bolton PF (2007) The psychopathologies of children and adolescents with tuberous sclerosis complex (TSC) : a postal survey of UK families. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 16 : 16–24.

■ ABSTRACT

Elucidation of the pathophysiology and development of effective treatments for autism spectrum disorders focusing on the mTOR signaling pathway

Hiroko Kotajima-Murakami^{1,2)}, Atsushi Sato^{1,3)}, Kazutaka Ikeda¹⁾

1) *Addictive Substance Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*

2) *Department of Biosciences, School of Science and Engineering, Teikyo University*

3) *Department of Pediatrics, The University of Tokyo Hospital*

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder that is mainly characterized by impairment of sociability, deficits of communication, and restricted/repeated behaviors and interests. Parents and caregivers of patients with ASD need understanding and skills that correspond to the characteristics of the patient. Genetic and environmental causes of ASD have been investigated, but the pathophysiology and treatment of ASD have not yet been thoroughly defined. In this article, we focus on activating the mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling pathway that is one of pathophysiology in hereditary disease with ASD. We introduce the animal studies and clinical studies associated with the mTOR signaling pathway including the results of our studies. Furthermore, we describe the effect of early intervention for patients with ASD and prospects for the future ASD research. No potential conflicts of interest were disclosed.