

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開用】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

| | | |
|---------|-------|---|
| 事業名 | | 脳科学研究戦略推進プログラム |
| 研究開発課題名 | | 自閉症の病態研究と新たな診療技法（診断・予防・治療）の開発（自閉症者脳内セロトニン・トランスポーター発現異常の原因解明と診断応用） |
| 機関名 | | 国立大学法人大阪大学 |
| 研究開発 | 所属 役職 | 大学院 連合小児発達学研究所 教授 |
| 担当者 | 氏名 | 片山 泰一 |

2. 研究開発成果の内容

① 候補 SERT 結合分子の自閉症診断への応用

平成 27 年度は、平成 26 年度に引き続き、自閉症児（者）のリンパ球を集め、例数を追加すると共に、引き続き得られたリンパ球の芽球化を行い、リンパ芽球における SERT 結合分子の発現状況の解析を行った。その結果、リンパ球における発現とリンパ芽球における発現パターンは一致せず、また、リンパ芽球での発現は、PEBP1 を除いて、ADI-R のスコアとの相関も認められなかった。一方、リンパ球に於いては、NSF、CRMP2、DNM2、NCDN の 4 種類の分子が、例数を追加しても健常者群と ASD 群で有意差が認められ、ADI-R のスコアとの相関を調べたところ、NSF は、社会性の欠如との相関が、NCDN は、コミュニケーション障害との相関が、PEBP1 では、こだわり・反復行動の指標との相関が認められた。さらに、診断予測精度を正準相関で判別すると、それぞれ単独でも判別の中率 60～70%という数値が得られたが、NSF、CRMP2、DNM2、NCDN、PEBP1 5 種類全てを組み合わせた診断予測精度は、感度 67.4%、特異度 78.4% となり、現在使われている問診票による感度・特異度を上回る可能性があることが示され、得られた分子が ASD の診断マーカーとなり得ること、単なる診断マーカーにとどまらず、ADI-R の domain ごとのバイオマーカーとしての可能性を明らかにした。

② SERT 結合分子が SERT の mRNA 発現、膜移行、セロトニン取込み機構に与える影響の探索

SERT 結合分子群が SERT の発現と機能に与える影響について平成 26 年度までに検討した 6 分子以外の残り 12 分子の SERT との結合についての予備検討を行ったが、CRMP2、PLXNA1、STXBP1、NCDN において結合を確認した以外は、期間内に同結合様式並びに樹立した SERT 安定発現 HEK293 細胞株（HEK293-SERT）を用いた、SERT のセロトニン取り込み実験は間に合わなかった。期間終了後も、引き続き検討予定である。また、NSF、CRMP2、NCDN、PEBP1 の強制発現、ノックダウン細胞の作製を行った。このうち NCDN については、SERT 発現細胞を用いてセロトニン取り込み実験を行い、NCDN ノックダウン細胞では、セロトニン取り込みが低下することを見出した。その他の分子については、詳細な細胞内プロフィールの検証まで期間内で終了させることが出来なかった。一方、自閉症診断ツール ADI-R のスコアとの相関がみられた分子の遺伝子改変動物の作成を試み、NSF、CRMP2、NCDN、PEBP1 の各ノックアウトマウスが誕生した。行動実験を行うための繁殖、ジェノタイピング等を行っているが、期間内に行動実験を開始することは間に合わなかった。引き続き、期間終了後も検討予定である。