

-論文要約-

Correlation among parvalbumin-immunoreactive neuron density, phase-locked gamma oscillation  
and autistic/schizophrenic symptoms in PDGFR- $\beta$  knock-out mice  
(PDGFR- $\beta$  knock-out マウスにおける自閉症/統合失調症様症状、パルブアルブミン陽性ニューロン  
および同期性ガンマオシレーション間の相関)

氏名: 中村友也

〔緒言〕

パルブアルブミン陽性ニューロンの障害は、統合失調症や自閉症におけるガンマオシレーション(26~70 Hzの脳波)異常の最終共通路である。ガンマオシレーションは様々な認知機能の神経基盤をなしているため、ガンマオシレーションの異常により認知障害、社会行動の低下、情動表出の低下、モチベーションの低下などからなる統合失調症や自閉症の陰性症状が起こることが示唆されている。しかし、これまでこれら症状と神経生理学的ならびに組織学的所見との間の相関関係については明らかにされていない。一方、統合失調症や自閉症における認知障害および陰性症状(社会行動の障害、情動表出の低下、モチベーションの低下など)に対しては、これまで有効な薬剤がなく、抗精神病薬開発における重要なターゲットとなっている。本研究では、神経栄養作用が期待される新規合成治療薬 T-817MA を、統合失調症/自閉症様病態を呈する血小板由来成長因子(Platelet-Derived Growth Factor) $\beta$  受容体遺伝子ノックアウト(PDGFR- $\beta$  KO)マウスに投与し、上記データ間の相関関係を解析した。

〔方法〕

1) 脳波用記録電極埋め込み手術

アバチン麻酔下(187.5 mg/kg, i.p.)で前頭葉と小脳上部の前頭骨にネジを埋め込み、電極として使用した。

2) T-817MA の経口投与

手術後、コントロールおよび PDGFR- $\beta$  KO マウスを、コントロールマウス蒸留水投与群、コントロールマウス T-817MA 投与群、PDGFR- $\beta$  KO マウス蒸留水投与群、および PDGFR- $\beta$  KO マウス T-817MA 投与群の計 4 群に分けた。脳波記録用電極埋め込み手術回復(1週間)後、T-817MA (10 mg/kg/day)あるいは蒸留水(10 ml/kg/day)をこれらのマウスに 4 週間経口投与した。

3) ガンマオシレーションの測定

マウス前方のスピーカーより、マウスにクリック音(9 kHz, 500 ms, 100 回)を呈示し、聴覚誘発電位を増幅器および A/D コンバータを用いて記録した。記録した誘発電位は、フィルター処理後、刺激同期性ガンマオシレーションを反映する intertrial coherence (ITC) を 6-120 Hz で算出し、ガンマ帯域(26~70Hz)における平均 ITC を解析した。

4) プレパルス抑制テスト(PPI)

プレパルス抑制は、主音響刺激の前に弱い先行刺激(プレパルス)を呈示することにより、主音響刺激に対する驚愕反応(四肢筋肉の収縮)が抑制される現象(感覚ゲーティングとも呼ぶ)である。本テストでは、身体反応を加速度センサーで測定し、プレパルスによる抑制率を各群で比較した。

5) 社会行動テスト

同じ群の 2 匹のマウスを小さなケージに入れて、30 分間 CCD カメラで撮影し、社会行動(近接行動、接近行動、離脱行動、追跡行動、匂い嗅ぎ、能動的、受動的コンタクト)の合計時間を行動解析プログラムで自動解析した。

#### 6) 神経組織学的解析

脳凍結切片作成後、パルブアルブミン陽性ニューロンの免疫組織化学的染色ならびにニッスル染色を行なった。ニッスル染色により脳領域を同定後、CCD カメラおよび Z 軸方向のマイクロカメラを有する光学的顕微鏡により、内側前頭前野、扁桃体、海馬体および上丘におけるパルブアルブミン陽性ニューロンの 3 次元画像情報を取得し、ステレオロジー解析(脳切片に含まれる細胞総数、細胞密度)を行なった。

#### 5) 統計解析

各群の測定データを、遺伝子型および薬剤投与を要因とする 2-way ANOVA により、比較解析した。各測定データ間の相関は、Pearson の相関係数を用いて解析した。

### 〔結果〕

#### 1) 薬物介入の効果

PDGFR- $\beta$  KO マウスでは、統合失調症/自閉症様症状である社会行動の障害、感覚ゲーティング障害、情動行動や社会行動に関係する脳領域である内側前頭前野、扁桃体、海馬体および上丘のパルブアルブミン陽性ニューロンの細胞密度の低下、同期性ガンマオシレーションの低下などの障害が認められた。さらに、T-817MA を 4 週間経口投与することにより、ノックアウトマウスにおけるこれらの障害が有意に改善された。

#### 2) 各測定データ間の相関

各測定データ間の相関を算出した結果、1) 同期性ガンマオシレーションと内側前頭前野におけるパルブアルブミン陽性ニューロン密度間に、2) 内側前頭前野におけるパルブアルブミン陽性ニューロン密度と社会行動(近接行動)間、および海馬体におけるパルブアルブミン陽性ニューロン密度と社会行動(近接行動)間に、および 3) 内側前頭前野におけるパルブアルブミン陽性ニューロン密度とプレパルス抑制テストにおける抑制率間に有意な相関が認められた。

### 〔考察〕

#### 1) パルブアルブミン陽性ニューロン

本研究では、PDGFR- $\beta$  KO マウスにおいて前頭葉、海馬、扁桃体基底外側核、上丘において、パルブアルブミン陽性ニューロンの障害が確認された。さらに新規合成治療薬 T-817MA はこれらの障害を改善した。新規合成治療薬 T-817MA は  $H_2O_2$  による酸化ストレスに対して、神経保護作用、海馬培養細胞での神経突起伸長作用などを呈することが報告されている。また、PDGFR- $\beta$  / PDGFB による細胞内シグナル伝達系は、GABAニューロンに対して神経保護作用を有することが報告されている。これらのことから、T-817MA がパルブアルブミン陽性ニューロンに対して神経保護作用や神経栄養作用を呈し、PDGFR- $\beta$  KO マウスのパルブアルブミン陽性ニューロンの障害を改

善したと考えられた。

2) パルブアルブミン陽性ニューロンは他のパルブアルブミン陽性ニューロンまたは、錐体細胞の細胞体および軸索起始部にシナプス結合していることが報告されている。ガンマオシレーションは、複数のパルブアルブミン陽性ニューロンが同調して速い頻度で発火し、錐体細胞を強力に制御することによることが示唆されている。これらのことから、PDGFR- $\beta$  KOマウスにおける同期性ガンマオシレーションの低下は、パルブアルブミン陽性ニューロンの減少によるものであり、T-817MAはパルブアルブミン陽性ニューロン密度を増大させることにより同期性ガンマオシレーションを改善したと推測される。

### 3) 社会行動障害

社会障害を呈する患者ではGABA系伝達障害が存在することが報告されている。また、前頭前野のガンマオシレーションは幼児のアイコンタクトと関連していることが知られている。これらのことから、ガンマオシレーションは社会的コミュニケーションの発達に関連していることが示唆されている。したがって、PDGFR- $\beta$  KO マウスでは、パルブアルブミン陽性ニューロンの減少が同期性ガンマオシレーションの障害を引き起こし、それにより社会行動障害が発症したと考えられる。また、T-817MA による社会行動の改善は、パルブアルブミン陽性ニューロン密度の増大によることが示唆される。

### 4) プレパルス抑制障害

プレパルス抑制では、前頭前野、扁桃体や海馬などの前脳領域が、橋-脳幹や上丘を含む驚愕反射神経系を調節していることが示唆されている。また、前頭前野や扁桃体における GABA系伝達を抑制すると、プレパルス抑制が障害されることが報告されている。したがって本実験におけるPDGFR- $\beta$  KO マウスのプレパルス抑制障害は、扁桃体、海馬、前頭前野のパルブアルブミン陽性ニューロンの密度が減少していたからであると考えられる。また、T-817MAは、パルブアルブミン陽性ニューロンの密度を増大させることによりプレパルス抑制を改善させたと考えられる。

### 〔結論〕

本研究では、薬物介入によるパルブアルブミン陽性ニューロン密度の回復により、同期性ガンマオシレーション、プレパルス抑制、および社会行動の障害が改善した。さらに、同期性ガンマオシレーション、パルブアルブミン陽性ニューロン密度、認知障害、および社会行動障害間に有意な相関性が認められた。本研究は、これらデータ間の相関性を明らかにした初めての研究である。以上から、同期性ガンマオシレーションは、統合失調症や自閉症における病態（パルブアルブミン陽性ニューロンの障害）および症状（認知障害や陰性症状）に関する人畜共通の生理学的バイオマーカーとして有用であり、さらに薬物介入における効果判定のバイオマーカーとしても有用であることが示唆された。