

論文の内容の要旨

論文題目 幼若期社会隔離と脳幹腕傍核領域慢性的活性化による脳神経回路と行動の制御
氏名 井口 理沙

発達期の脳神経回路成熟機構と精神疾患の環境要因として機能するストレスによる脳機能関連行動への影響を明らかにすることを目的として実施した四つの研究課題について報告する。第一と第二の研究課題は幼若期神経回路成熟に関連する研究である。第一の研究課題では幼若期社会隔離ストレスによるシナプス形態・動態の変化を解析した。第二の研究課題ではシナプスの動態制御機構としてNMDA型グルタミン酸受容体サブユニットの発現比の関与について検討した。第三、第四の研究課題ではストレスの行動への影響と脳神経回路の変化について研究を実施した。第三の研究課題では生後早期の社会的関係が情動と記憶形成に及ぼす長期的な影響を行動実験により解析した。第四の研究課題では慢性疼痛等とも関連する脳領域である脳幹PB領域に着目し、PB領域の慢性活性化による情動と記憶形成への影響を評価した。

第一の研究課題では生後早期の社会的関係におけるストレスが神経回路の形成と成熟に及ぼす影響を評価した。生後7日目から11日目まで短時間の幼若期母子分離隔離操作によりマウスに社会的ストレスを付加し、3週齢時に大脳皮質体性感覚野の2/3層錐体細胞の頂上樹状突起に形成される興奮性シナプスの形態とダイナミクスをin vivo二光子励起レーザー走査型顕微鏡を用いて観察した。その結果、社会隔離後のマウスではシナプス後肥厚部(PSD)を構成する主要な足場タンパク質の一つであるPSD-95の集積が見られないスパインの割合が増加する一方で、スパイン動態においては野生型マウスとの差は検出されなかった。未成熟なスパインの増加とスパイン動態の維持という結果は、自閉症スペクトラム障害(ASD)のモデルマウスとは異なる表現型であり、ASDと社会的ストレスが別々の経路を経て大脳皮質神経回路に影響を及ぼすことを示している。

第二の研究課題ではAEDモデルマウスにおけるシナプス後部スパイン構造の動態亢進現象に着目し、その原因として発達期スパインに発現するNMDA型グルタミン酸受容体のサブユニット、GluN2AとGluN2Bの発現比の関与を検証した。成熟に従いGluN2Aの発現が優位になりGluN2Bの発現が低下することから、GluN2AとGluN2Bはそれぞれシナプス成熟と不安定化にそれぞれ関与するという仮説を立てた。In utero electroporationを用いてGluN2Aの発現抑制またはGluN2B過剰発現を行い、大脳皮質においてGluN2AとGluN2Bの発現比を操作したマウスを作成した。生体内スパイン動態について3週齢時と6週齢時にin vivo二光子励起レーザー走査型顕微鏡により解析したところ、GluN2AとGluN2Bの発現比を改変したマウス群に顕著な動態変化はみられなかった。従ってNMDA受容体のサブユニットの構成比の変化はスパイン動態の強い制御因子ではなく、ASDの発症にも関与する可能性は低いと結論付けた。

第三の研究課題として生後早期の社会的ストレスが情動と記憶形成を制御する神経回路に及ぼす影響について検討した。社会隔離操作を加えたマウスを対象として、成熟期に行動実験を行い、不安様行動、社会性行動、恐怖記憶形成を評価した。その結果、社会隔離操作群マウスは対照群に比べ恐怖記憶想起時に逃避行動が増加することが明らかとなり、幼若期の社会隔離ストレスは長期的に記憶に関連する行動に影響を及ぼすことが示された。

最後に第四の研究課題では慢性疼痛等の脳内情報表現に関与する領域であり、ストレス反応、摂食、睡眠、疼痛などにも関与する脳幹 PB 領域に焦点を当てた。この領域の情動に与える詳細な影響は明らかにされていない。脳幹 PB 領域の慢性活性化による情動記憶形成の変化を評価するために、DREADD システムにより脳幹 PB 領域を慢性的に活性化し、その行動への影響を解析した。PB 領域活性化群においては顕著な不安様行動がみられ、恐怖記憶想起反応である freezing 行動の減弱が示された。さらにこのマウス群では慢性活性化を人為的に誘導した脳幹 PB 領域の他に扁桃体 CeC 領域が活性化しており、不安様行動との相関がみられることが明らかとなった。

本研究ではまず社会隔離ストレスによる発達期の脳神経回路成熟への影響をマイクロレベルでのシナプス形態と動態解析、さらに成熟期のマクロレベルでの行動解析により評価した。実験により社会隔離ストレスによる未成熟神経回路形成と恐怖記憶想起に対する逃避行動の増加が示され、脳機能障害の存在を示すことができた。この現象は視床下部-下垂体-副腎系 (HPA 系) を介した内分泌系のストレス応答によるものと考えられる。また発達期シナプス動態の分子制御機構として NMDA 型グルタミン酸受容体のサブユニットである GluN2A と GluN2B についてそれぞれシナプス成熟と不安定化という相対する機能を持つ可能性を検討した。これらのサブユニットの発現を操作したマウス群では顕著なスパイン動態変化がみられなかった。この結果については実験条件のさらなる検討や定量性の改善などが今後必要になると考えられる。さらにストレスと脳神経回路成熟機構の関連を慢性疼痛等に関連する脳領域である脳幹 PB を活性化することにより評価した。行動実験によりこれまで情動に関連した役割が詳細に解析されていない PB 領域が不安様行動や恐怖記憶想起に強く関与することが明らかとなった。この行動障害の強さと PB 領域とその直接投射先である扁桃体 CeC の活性化が相関することが示された。扁桃体 CeC 領域では情動に関連する神経活動が存在することが知られている。さらに詳細に情動障害に関連する神経回路を解析するために、脳幹 PB 領域から扁桃体 CeC 領域へ投射する経路に合わせて、皮質領域を経由して扁桃体 BLA 領域から扁桃体 CeC 領域へ投射する神経経路の活動変化も今後研究する必要がある。