

精神症状の発症予防に関わる抑制性神経細胞の分化制御機構の解明

仲嶋一範

慶應義塾大学医学部 解剖学教室

【研究の背景】

脳が正常に機能するためには、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞とがバランス良く配置されて相互に適切なネットワークを形成することが重要である。抑制性神経細胞の機能低下等により、微小神経回路内の興奮と抑制のバランス (excitation/inhibition balance; E/I バランス) が崩れると、例えばてんかんの原因になったり、統合失調症や自閉症のような精神疾患における重篤な精神症状や認知機能障害に結びつく可能性が注目されている。そこで我々は、大脳皮質抑制性神経細胞の前駆細胞 (内側基底核原基 MGE) を新生児期のマウス前頭前皮質 (mPFC) に予め移植してみたところ、統合失調症様の精神症状を引き起こす薬物フェンサイクリジン (PCP) を生後 6 週で投与しても発症しなくなることを見いだした。この発症予防効果は、同じ抑制性神経前駆細胞を後頭葉に移植した際には認められず、mPFC に興奮性神経細胞の前駆細胞を移植しても認められなかった。すなわち、発症予防効果を得るためには、移植細胞は抑制性細胞である必要があり、かつ移植部位は mPFC である必要があることを発見した。また、mPFC に移植すると、後頭葉や頭頂葉への移植時と異なり、移植された前駆細胞からリーリン陽性/ノモスタチン陽性の抑制性神経細胞が多く分化してくることを見出した。

【目 的】

リーリンは統合失調症との関連が報告されていることを鑑み、本研究ではまず、リーリンそのものが PCP に対する抵抗性、すなわち発症予防効果を動物個体に付与できる可能性を検証することを目指した。さらに、抑制性神経細胞の分化方向が mPFC 特異的に制御される現象が、mPFC 特有の細胞外環境に依存している可能性を明らかにすることを目的とした。また、大脳皮質に加えて精神疾患と関連が深い脳部位である扁桃体の抑制性神経細胞が、脳の発生過程において適切に供給され分化する過程の制御機構を解明することを目指した。

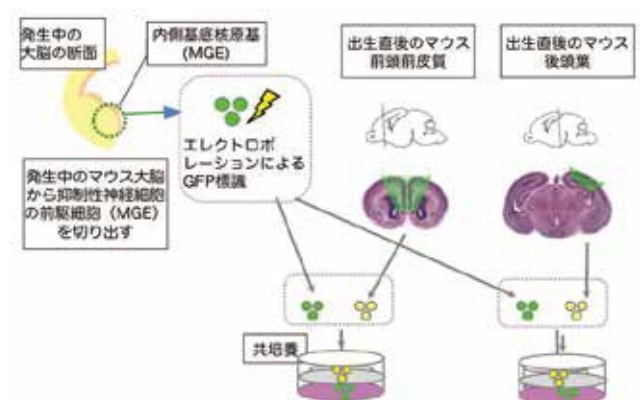
【方 法】

6~7 週齢の ICR マウスの側脳室にリーリンを注入し、プレパルス抑制試験 (PPI) 及び新奇物体認識試験 (NORT) を行って、対照群と比較した。

また、MGE 細胞が移植された後に分化・成熟する時期を過ぎる出生後早期の mPFC に、他の大脳皮質領域、特に後頭葉とは異なる特殊な細胞外環境が形成されている可能性を想定し、右図に示す共培養実験等を行ってその検証を試みた。

さらに、我々が以前開発した子宮内胎児脳電気穿孔法を用いてマウス胎児脳の視索前野に特異的に蛍光タンパク質遺伝子を導入し、そこで誕生する抑制性神経細胞の動きを観察する

とともに、その動態を制御する分子を探索した。候補分子については、強制発現やノックダウンによる影響を調べる実験や、その分子の下流で機能すると想定される分子についても同様の実験を行うとともに、上流候補分子の阻害の影響が下流候補分子の強制発現によってレスキューできるか調べる実験等を行った。



【結 果】

まず、リーリンをあらかじめ 6～7 週齢のマウスの側脳室に注入しておく、PCP を投与しても PPI 及び NORT において異常が認められなくなる、すなわち、リーリントキシン自体に発症予防効果があることを見出した。

また、マウス胎生 13.5 日目的大脑 MGE の細胞を切り出し、出生直後のマウス mPFC または後頭葉の細胞と分散培養系において混合して培養したところ、mPFC との混合培養においてリーリン陽性/ソマトスタチン陽性の抑制性神経細胞がより多く分化してくることがわかった。そこで次に、その効果が分泌性因子によるものかを明らかにするため、ミセルインサートを用いて MGE 由来細胞と皮質細胞とが直接接触しない状態で共培養した。その結果、やはり同様にリーリン陽性/ソマトスタチン陽性の抑制性神経細胞は mPFC との共培養時により多く分化してくることを見出した。

さらに、視索前野に由来する抑制性神経細胞の動きを観察した結果、それらは細いルートを束になって尾側に移動し、将来扁桃体になる領域に進入していくことを見出した。また、その移動経路の途中から、一部の神経細胞が移動方向を変えて大脳皮質に向かっていくことを見出した。さらに、その細胞移動の目的地選択が、特定の分子経路によるスイッチの ON/OFF によって制御されていることを発見した。すなわち、転写制御因子 COUP-TFII 及びその下流で発現が調節されるニューロピリン-2 (Nrp2) という受容体の発現が ON のままだと扁桃体に進入し、その経路の発現が途中で OFF になると移動方向を変えて大脳皮質に向かうようになることがわかった。

【考 察】

リーリンは、PCP による精神症状の発症を予防できる機能を有することが示された。また、mPFC においてリーリン陽性/ソマトスタチン陽性抑制性神経細胞が多く分化する現象を担う機構として、領野間で異なる細胞外分泌因子が重要である可能性が示唆された。また、視索前野由来の抑制性神経細胞が大脳皮質に向かうか扁桃体に向かうかの選択において、COUP-TFII/Nrp2 経路が重要な役割を担うことがわかった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

統合失調症との関連が示唆されているリーリンは、成体脳において直接精神症状の発症を阻止する機能を有することが直接示された。また、mPFC と後頭葉とで産生量に差がある分子を同定すること(現在絞り込み中で、特許出願準備中)により、精神症状の発症を阻止できるタイプの神経細胞が mPFC において多く分化してくる機構が明らかになると期待される。さらに、扁桃体は ASD との関連が報告されており、ヒト *NRP2* 遺伝子も自閉症との関連が報告されていることを鑑みると、本研究は両者をつなぐ機序に関わっている可能性が想定される。

【参考・引用文献】

Reelin has a preventive effect on phencyclidine-induced cognitive and sensory-motor gating deficits. Kazuhiro Ishii, Taku Nagai, Yuki Hirota, Mariko Noda, Toshitaka Nabeshima, Kiyofumi Yamada, Ken-ichiro Kubo, and Kazunori Nakajima. *Neurosci. Res.*, 96, 30-36 (2015).

The COUP-TFII/Neuropilin-2 is a molecular switch steering diencephalon-derived GABAergic neurons in the developing mouse brain. Shigeaki Kanatani, Takao Honda, Michihiko Aramaki, Kanehiro Hayashi, Ken-ichiro Kubo, Mami Ishida, Daisuke H. Tanaka, Takeshi Kawauchi, Katsutoshi Sekine, Sayaka Kusuzawa, Takahiko Kawasaki, Tatsumi Hirata, Hidenori Tabata, Per Uhlén, and Kazunori Nakajima, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 112 (36), E4985-94 (2015).