

## 統合失調症感受性イオンチャネル・Ca<sub>v</sub>1.2 による大脳皮質領野間相互作用制御機構

阪東勇輝

浜松医科大学医学部医学科 器官組織解剖学講座

### 【研究の背景】

統合失調症の病態解明は、有効な治療法開発のために重要である。これまでに統合失調症のモデルマウスで様々な大脳皮質局所神経回路異常が報告されている<sup>1)</sup>。しかし、これらの異常と病態との因果関係は明らかでない。それは、これまでは単一神経細胞や局所神経回路に着目し、広域神経回路の解析が遅れていたからであると考えられる。これまでに、一部の統合失調症の患者では、電位依存性 Ca<sup>2+</sup>チャネル、Ca<sub>v</sub>1.2 の発現低下または機能欠損型変異が報告されている<sup>2)</sup>。しかし、Ca<sub>v</sub>1.2 のへ発現または機能低下の神経回路形成及び機能への影響は明らかではなかった。

### 【目 的】

統合失調症は幻覚、意欲・自発性の低下、認知機能低下など幅広い症状を示し、大脳皮質感覚野から連合野に至るまで幅広く神経回路機能が障害されていると予想される。本研究では、(1) Ca<sub>v</sub>1.2 による大脳皮質神経回路形成機構を解明する。また、研究代表者が開発した蛍光膜電位プローブ、ArcLight-ST 及び膜電位・Ca<sup>2+</sup>同時イメージング法<sup>3, 4)</sup>を応用し、(2) Ca<sub>v</sub>1.2 の発現低下により大脳皮質領域間相互作用の異常が生じるか否か明らかにすることを旨とする。

### 【方 法】

(1) RNAi 法を用いて大脳皮質神経細胞における Ca<sub>v</sub>1.2 の発現を抑制した。コントロールまたは Cav1.2 shRNA をコードするプラスミドを、子宮内電気穿孔法を用い、胎生 15 日齢のマウス胎仔に遺伝子導入を行った。同時に緑色蛍光タンパク質、EGFP も発現させ、Ca<sub>v</sub>1.2 の発現操作を行った細胞を蛍光ラベルした。胎生 17 日齢において抗 Pax6 抗体を用いて免疫染色を行った。また、生後 3 日齢において EGFP 陽性細胞の分布を解析した。

(2) 子宮内電気穿孔法を用いて緑色蛍光膜電位プローブ、ArcLight-ST 及び赤色 Ca<sup>2+</sup>プローブ、REX-GECO1 を大脳皮質神経細胞に発現させた。1 光子ワイドフィールドイメージング法を用いて in vivo で膜電位変動を記録した。

### 【結 果】

(1) 胎生 17 日齢において、Ca<sub>v</sub>1.2 をノックダウンにより、神経前駆細胞から神経細胞への分化が遅れることが明らかになった。また、生後 3 日齢において、Ca<sub>v</sub>1.2 のノックダウンにより、細胞移動が遅れることを見出した。

(2) 麻酔下マウスにおいて、視覚野周辺では領野間の同期が高いことが明らかになった。今後、大脳皮質全域を解析できるよう、ArcLight-ST を発現するトランスジェニックマウスの確立及び蛍光実体顕微鏡を用いた広域イメージングシステムを構築していく。

### 【考 察】

Ca<sub>v</sub>1.2 の発現低下による統合失調症の病態として、発達期における大脳皮質神経回路形成不全が寄与する可能性が示

唆された。今後は、神経回路形成不全が脳皮質領野間相互作用に及ぼす影響を解析していく。

#### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、統合失調症の発症機序として、発達期における神経回路形成不全が関与する可能性が示唆された。今後、神経回路発達期に着目した統合失調症発症予防法の開発につながると期待される。

#### 【参考・引用文献】

1. Hamm JP, Peterka DS, Gogos JA, Yuste R. Altered Cortical Ensembles in Mouse Models of Schizophrenia. *Neuron*. 2017 94(1):153-167.e8.
2. Roussos P, Mitchell AC, Voloudakis G, Fullard JF, Pothula VM, Tsang J, Stahl EA, Georgakopoulos A, Ruderfer DM, Charney A, Okada Y, Siminovitch KA, Worthington J, Padyukov L, Klareskog L, Gregersen PK, Plenge RM, Raychaudhuri S, Fromer M, Purcell SM, Brennand KJ, Robakis NK, Schadt EE, Akbarian S, Sklar P. A role for noncoding variation in schizophrenia. *Cell Rep*. 2014 9(4):1417-29.
3. Bando Y, Sakamoto M, Kim S, Ayzenshtat I, Yuste R. Comparative Evaluation of Genetically Encoded Voltage Indicators. *Cell Rep*. 2019 26(3):802-813.
4. Bando Y, Wenzel M, Yuste R. Simultaneous two-photon imaging of action potentials and subthreshold inputs in vivo. *Nat Commun*. 2021 12(1):7229.