

氏名(本籍)	えん どう けん いち (千葉県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4491 号		
学位授与年月日	平成 19 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	新生仔期腹側海馬傷害ラットにおける GABA 神経系の変化：思春期前後の比較		
主 査	筑波大学教授	医学博士	有 波 忠 雄
副 査	筑波大学教授	博士 (医学)	一 谷 幸 男
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	渡 邊 雅 彦
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	森 田 展 彰

論 文 の 内 容 の 要 旨

目的：統合失調症の病因の1つに神経発達障害が想定されている（神経発達障害仮説）。この仮説の動物モデルである新生仔期腹側海馬傷害（neonatal ventral hippocampal lesion; NVHL）ラットは思春期後に初めてストレスへの過敏性等の統合失調症と類似した行動の異常を示す。こうした行動異常はドーパミン神経系の過活動を示唆するが、これまでの研究では一致した結果が得られていない。一方、統合失調症では死後脳の研究からGABA神経系の異常も考えられる（GABA仮説）。また、NVHLラットでも思春期後に前頭前野(prefrontal cortex; PFC)でGABA_A受容体 α 1サブユニット mRNA量が増加しているなどGABA神経系の異常を示唆する報告がある。しかしこのような変化はPFC以外では認められないのか、また思春期前ではどうなのかなど詳細は不明である。そこで本研究ではNVHLラットの思春期前と後にPFCと線条体(Caudate Putamen; CP)におけるGABA_A受容体 α 1, β 2, β 3サブユニット, GABA_{B1}受容体サブユニット, GABA輸送蛋白GAT1のmRNA発現の変化を*in situ* hybridizationにより、さらにGABA_A受容体の発現量をautoradiographyにて検討した。

対象と方法：妊娠14日目の雌のSprague-Dawley (SD)ラットを購入し、その仔(雄性)を用いた。生後7日(PD7)目に定位脳手術により両側腹側海馬にイボテン酸を注入し傷害したものをlesion群とし、対照(sham)群には同様にPBSを注入した。行動実験では思春期前(PD35)、思春期後(PD56)で新奇環境での行動量を解析した。さらに各々PD35とPD56で断頭し脳切片を作成した。*in situ* hybridizationは各受容体サブユニット等のoligonucleotide probe, [³⁵S]dATP, terminal deoxynucleotidyl transferaseを用いてラベリングして行った。切片はフィルムに3週間曝露し現像後にスキャナーで取り込み、imgJ programにより解析した。

また、GABA_A受容体数の変化を調べるため、[³⁵S]t-butylbicyclo-phosphorothionate ([³⁵S]TBPS)を用いてautoradiographyを行いBAS5000により解析した。測定部位はPFCとCPで行った。測定値は、sham群を基準にlesion群を相対的%値で計算した。

結果：1) NVHL ラットは思春期後に新奇環境で過活動となった。

2) 思春期前では lesion 群の $\alpha 1$ サブユニット mRNA 量が PFC で有意に減少し、思春期後では $\alpha 1$, $\beta 2$ サブユニット mRNA 量が PFC にて有意に増加し、 $\beta 3$ サブユニット mRNA 量は CP で有意に増加した。

3) [^{35}S] TBPS 結合量は思春期後に PFC にて有意な増加が認められた。

4) 思春期後に PFC で $\text{GABA}_{\text{B}1}$ 受容体サブユニット mRNA 量が有意に増加し、GAT1 mRNA 量が有意に減少した。

考察：NVHL ラットは先行研究と同様に思春期後にのみ新奇環境における過活動を確認した。 GABA_{A} 受容体 $\alpha 1$ サブユニット mRNA 量が PFC で思春期前に減少した。NVHL ラットでは腹側海馬から PFC に直接投射するグルタミン酸神経が障害され PFC の発達障害が起こる結果、思春期後に PFC の機能障害をきたすと考えられていることから、思春期前で GABA_{A} 受容体 $\alpha 1$ サブユニットの発現が遅延した可能性が考えられる。思春期後の $\alpha 1$ サブユニット mRNA 量の増加は、統合失調症患者の死後脳や他の NVHL ラットでの報告と一致した。さらに $\beta 2$ サブユニットが PFC で、 $\beta 3$ サブユニットは CP で mRNA 量が増加した。これらの変化は NVHL ラットの思春期後に現れる過敏性を抑制するための代償性的変化とも考えられる。 ^{35}S TBPS の binding の結果から PFC における GABA_{A} 受容体 $\alpha 1$, $\beta 2$ サブユニット mRNA 量の増加が GABA_{A} 受容体数の増加を伴っていることが示された。また、 GABA_{B} 受容体は抑制性に機能することから、思春期後の $\text{GABA}_{\text{B}1}$ 受容体サブユニット mRNA 量の増加は NVHL ラットの思春期後に現れる過敏性を抑制するための代償性的変化である可能性が考えられる。GAT1 mRNA の減少は、シナプス間隙の GABA 濃度の低下に対する代償性的変化と考えられた。

結論：本研究では思春期後に顕在化する NVHL ラットのストレスに対する過敏性が思春期後の GABA_{A} 受容体 $\alpha 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ サブユニット mRNA 発現の増加と GABA_{A} 受容体数の増加、 $\text{GABA}_{\text{B}1}$ 受容体サブユニット mRNA 発現の増加と GAT1 mRNA 発現の減少を伴うことが示された。NVHL ラットの思春期後の行動異常を説明する機序については未だ不明であるが、本研究から NVHL ラットで GABA 神経伝達機構の機能低下が存在すること、発達に伴い GABA 神経伝達機構の変化が代償性的変化として生じている可能性が示された。

審査の結果の要旨

本論文は統合失調症の有力なモデルである NVHL ラットの思春期前後の新規環境での行動、前頭葉、線条体での GABA_{A} 受容体数と GABA_{A} 受容体 $\alpha 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ サブユニット、 $\text{GABA}_{\text{B}1}$ 受容体サブユニット、GAT1 の mRNA 量を測定し、モデルの妥当性を確認するとともに GABA 神経系の変化が思春期以前にすでに起きていることを報告したものである。論文の主要な部分はすでに SYNAPS 誌に発表されている。統合失調症に関する重要な所見を提供したものであり、高い価値があると判断された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。