

平成24年度「海外渡航助成」

疾患モデルマウスを用いた自閉症の病態生理の解明

野村寿博

慶應義塾大学医学部 小児科学教室 / 生理学教室

Department of Physiology, Northwestern University

目的

本研究の目的は、自閉症および、自閉症様の高次脳機能障害を呈する脆弱 X 症候群 (Fragile X syndrome; FRAX) の病態生理を解明することである。

背景

自閉症は社会性の障害、言語の遅れ、特定の行動への執着などの症状を特徴とする精神神経疾患である。現時点で自閉症の原因は不明であり、その根本的治療法、検査法は無い。さらに自閉症患者のもつ遺伝的、環境的要因は極めて多種多様であると考えられるため、研究モデルを確立すること自体が困難である。最近、高頻度に自閉症様の症状を示す単一遺伝子病が報告され、これらの疾患モデル動物を解析することで自閉症の病態生理が解明されると期待されている。FRAX はその代表的疾患であり、*FMR1* 遺伝子の変異に起因する。FRAX のモデル動物である、*Fmr1* ノックアウト (KO) マウスは、ヒト FRAX に類似する様々な表現型を示すことが報告されている。

Fmr1 KO マウスをはじめとする自閉症モデルマウスでは、生後早期、臨界期における体性感覚皮質の機能的、構造的可塑性が障害される (JNS 2008, Neuron 2010) が、その制御機構は不明である。今回は制御機構のひとつとして、GABA 作動性抑制性回路に注目した。胎児期または生後早期に抑制性ニューロンが障害されたマウスは、不安や社会性の障害など自閉症様の症状を示す (Epilepsia 2005)。また、臨界期の研究がよく進んでいる視覚皮質では、興奮性回路と抑制性回路のバランスが可塑性を制御している (Annu Rev Neurosci 2004)。さらに、*Fmr1* KO マウスの扁桃核では抑制性神経伝達が減弱する (JNS 2010)。これらの知見から、*Fmr1* KO マウスでは、体性感覚皮質の抑制性回路に異常があると考えた。

研究方法と結果

まず、*Fmr1* KO マウスの体性感覚皮質における、抑制性シナプス電流 (IPSC) の反転電位を、グラミシジン穿孔パッチ法により測定した。野生型マウスでは、IPSC の反転電位は生後 1 週間で静止膜電位よりも過分極側に変化するのに対し、*Fmr1* KO マウスでは、この変化の時期が遅れることが明らかになった。IPSC の反

転電位は、細胞内 Cl⁻ イオン濃度によって決定されるため、Cl⁻ イオントランスポーターの発現レベルを免疫ブロット法で検討した。野生型と *Fmr1* KO マウスで、発現レベルに明らかな差は認められなかった。

考察

Fmr1 KO マウスの体制感覚皮質において、抑制性回路の発達に異常が認められることを明らかにした。反転電位の変化は、細胞内 Cl⁻ イオン濃度によって決定されるため、Cl⁻ イオントランスポーターの発現レベルを検討したが、明らかな差は認められなかった。今後、免疫染色法、または、切除した体制感覚皮質をサンプルとした免疫ブロット法などにより、細胞内 Cl⁻ イオンの恒常性が破綻する原因を検討していく予定である。今回の知見は FRAX をはじめとする、自閉症の病態生理を解明する一助となりうる。さらに、この発見は FRAX に対する新たな治療法の開発に結びつく可能性がある。

今後の課題

今後、他の自閉症モデルマウスおよび、ヒト検体を用いて同様の実験を予定している。今回の知見が、FRAX に特異的なものであるか、他の自閉症モデルにも共通のものであるかを検討する。また、モデルマウスで得られた所見の、ヒト検体における妥当性、類似性、相違点などを検討する。

参考文献

Hensch, T.K., Critical period plasticity in local cortical circuits. Nature reviews. Neuroscience, 2005. 6(11): p.877-88.

Bureau, I., G.M. Shepherd, and K. Svoboda, Circuit and plasticity defects in the developing somatosensory cortex of FMR1 knock-out mice. Journal of Neuroscience, 2008. 28(20): p. 5178-88.

Harlow, E.G., et al., Critical period plasticity is disrupted in the barrel cortex of FMR1 knockout mice. Neuron, 2010. 65(3): p.385-98.

Hensch, T.K., Critical period regulation. *Annu Rev Neurosci*, 2004. 27: p.549-79.

Levitt, P., Disruption of interneuron development. *Epilepsia*, 2005. 46 Suppl 7: p.22-8.

Gibson, J.R., et al., Imbalance of neocortical excitation and inhibition and altered UP states reflect network hyperexcitability in the mouse model of fragile X syndrome. *J Neurophysiol*, 2008. 100(5): p.2615-26.

Paluszkiewicz, S.M., et al., Impaired inhibitory control of cortical synchronization in fragile x syndrome. *Journal of neurophysiology*, 2011.

Itami, C., F. Kimura, and S. Nakamura, Brain-derived neurotrophic factor regulates the maturation of layer 4 fast-spiking cells after the second postnatal week in the developing barrel cortex. *Journal of Neuroscience*, 2007. 27(9): p.2241-52.

Daw, M.I., M.C. Ashby, and J.T. Isaac, Coordinated developmental recruitment of latent fast spiking interneurons in layer IV barrel cortex. *Nature Neuroscience*, 2007. 10(4): p.453-61.

Owens, D.F. and A.R. Kriegstein, Is there more to GABA than synaptic inhibition? *Nature reviews. Neuroscience*, 2002. 3(9): p.715-27.

Hensch, T.K., Critical period mechanisms in developing visual cortex. *Current Topics in Developmental Biology*, 2005. 69: p.215-37.

Ganguly, K., et al., GABA itself promotes the developmental switch of neuronal GABAergic responses from excitation to inhibition. *Cell*, 2001. 105(4): p.521-32.

Leinekugel, X., et al., Ca²⁺ oscillations mediated by the synergistic excitatory actions of GABA(A) and NMDA receptors in the neonatal hippocampus. *Neuron*, 1997. 18(2): p.243-55.