

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791229

研究課題名(和文)胎生期グルココルチコイド曝露モデルを用いた神経発達障害仮説の検討

研究課題名(英文)Examination of the neurodevelopmentally hypothesis using the prenatal glucocorticoid exposure model

研究代表者

福本 健太郎 (Kentaro, Fukumoto)

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：00514407

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では胎生期グルココルチコイドが大脳皮質形成、神経分化およびネットワーク形成過程へ及ぼす影響を解析した。初代海馬神経培養細胞にコルチコステロンを投与すると、血清応答因子を介して濃度依存性にスパイン内のカルデスモン発現が減少させ、F-アクチンの不安定化をもたらすことを明らかにした。次に胎生期にグルココルチコイド曝露されたラットの青年期白質後部における神経ネットワーク形成を拡散テンソル撮像法にて解析した結果、グルココルチコイド曝露群では軸索走行がより異方性となっていることを明らかにした。以上のように胎生期グルココルチコイド曝露は脳構造形成過程に影響をもたらすことをあらためて確認した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed the effect of prenatal glucocorticoid on the cortical formation, neuronal differentiation and neuronal network. When the primary hippocampal neuron cultured cell was given a corticosterone, caldesmon in the spine decreased in concentration-dependency through a serum response factor and destabilized the F-actin. As a result of having analyzed neural network formation in the posterior white matter of the glucocorticoid exposed adolescent rat by diffusion tensor imaging, we revealed that an axonal flow became more anisotropic in the glucocorticoid exposure group. As above, we confirmed that the brain development was affected by the prenatal glucocorticoid exposure.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：精神神経科学

キーワード：グルココルチコイド 神経ネットワーク 海馬神経細胞 神経発達

1. 研究開始当初の背景

精神疾患発症を包括的に説明する仮説の一つとして神経発達障害仮説が提唱されている。これは胎児期の脳発達異常、その後の神経ネットワーク形成異常が思春期・成人期における疾患発症リスクを高めるという説である。遺伝的要因に関して近年、ゲノムワイド関連解析が様々な施設で施行され、いくつかの脆弱性領域が報告されている。しかしながら環境要因が及ぼす影響を分子メカニズムレベルまで検討されている報告は少ない。

申請者は胎生期のストレス/グルココルチコイドに焦点を当て検討を行った。過度のストレスは視床下部-下垂体-副腎系の恒常性破綻をきたし、血中グルココルチコイド濃度上昇を引き起こす。ストレス/グルココルチコイド過剰曝露と脳発達異常の関連性を示す例を挙げると、齧歯類において母胎にストレス負荷を受けた胎児は、成長後に異常行動を呈するようになる。また、ヒトで胎生期・新生児期のストレス/グルココルチコイド投与は低体重・脳发育遅滞を来し、成人後の精神疾患発症リスクを高めるといった報告が多数ある。

申請者は過去に胎生期グルココルチコイド過剰曝露が一過性に放射状移動障害をきたすことで大脳皮質形成障害を起こすこと。そしてその分子メカニズムとして、神経前駆細胞におけるアクチン調節蛋白質であるカルデスモンの発現亢進が原因となることを報告した(Fukumoto K et al. Mol Psychiatry. 2009; Sobue K & Fukumoto Cell Adh Migr. 2010; Mayanagi T, Fukumoto K et al. J Biol Chem. 2008)。本申請では過去の研究成果をもとに、神経ネットワーク形成に及ぼす影響を解析した。

2. 研究の目的

大脳皮質形成・神経ネットワーク形成障害は思春期・成人期以降の精神疾患発症リスクを高めるといった報告は多数ある。しかしながら、環境因子の側面から分子メカニズムレベルまで解析した報告は少ない。申請者はストレス応答性ホルモンであるグルココルチコイドに注目した。

本研究では胎生期グルココルチコイド過剰曝露モデルを用いて大脳皮質形成障害・神経分化およびネットワーク形成過程障害を分子メカニズムレベルで解析を行う。さらに精神疾患発症症例で核磁気共鳴画像法(MRI)撮像しこれらの結果との相関性を検証する。

3. 研究の方法

(1) 胎生期グルココルチコイド過剰曝露による介在ニューロン移動障害の解析

グルココルチコイドによる介在ニューロンの移動障害を経時的に検討し、その分子メカニズムを同定し機能解析を行った。大部分の介在ニューロンは、GABA合成酵素であるグルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)を発現している。そこで本研究ではGFP-GAD67遺伝子改変マウスを用いた。妊娠後期のみGFP-GAD67遺伝子改変マウスに1μg/mlデキサメサゾンを経飲水的に投与し、細胞増殖期・基底核隆起から新皮質移動時・皮質内移動期における介在ニューロンの移動を経時的に観察した。また介在ニューロン細胞培養および脳組織スライス培養を行うことでグルココルチコイドによる介在ニューロンの形態変化、移動速度・方向を一細胞単位で比較解析した。

(2) 胎生期グルココルチコイド過剰曝露による神経ネットワーク形成異常の解析

神経細胞分化過程におけるグルココルチコイドの影響を初代神経細胞培養を用い解析した。具体的には、長期グルココルチコイド曝露によるスパイン形成への影響をアクチンダイナミクスレベルで検討した。さらにそのアクチンダイナミクスに影響を与える遺伝子を同定し、機能解析をした。

また出生後の神経ネットワーク形成過程でグルココルチコイド曝露が及ぼす影響を拡散テンソル撮像法にて検討した。

(3) ヒトMRI解析との相関性

精神疾患(うつ病、統合失調症)発症例を対象に3テスラMRI撮像し神経ネットワークの構造・機能的異常について検討した。

4. 研究成果

(1) 胎生期グルココルチコイド過剰曝露による介在ニューロン移動障害の解析

妊娠13.5日目よりデキサメサゾンを投与。その後妊娠16.5日目にサンプリングを行い、組織染色にて、介在ニューロンの移動様式を観察した。結果、脳室下帯/中間帯で介在ニューロンが減少していることを明らかにした。また、これらのメカニズムを明らかにするため、マウス正中隆起由来の細胞を用いて初代培養細胞を行い、培養細胞レベルでのコルチコステロンの影響を観察した。なお層構造形成には走化性物質による適正配置が重要であるが、グルココルチコイド投与にて、走化性物質受容体の遺伝子発現が減少することを見出した。

(2)胎生期グルココルチコイド過剰曝露による神経ネットワーク形成異常の解析

i)神経細胞分化過程における影響

初代海馬神経培養細胞を用い、グルココルチコイド過剰曝露がスパイン形成へ及ぼす影響を検討した。培養神経細胞に対し 21-24 日間慢性的にグルココルチコイドを投与するとスパインに存在する F-アクチンが不安定化しスパインの肥大化を阻害した。結果成熟したスパインであるマッシュルーム型スパインの割合を減少させることを確認した(図1)。

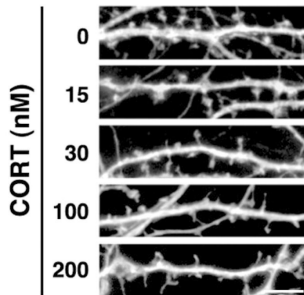


図1: 初代海馬神経培養細胞にコルチコステロンを投与するとマッシュルーム型スパインの数が減少する。

J.Neurosci. 32;2012: 14583-14591.

またスパインには細胞骨格蛋白質の一つであるカルデスモンが存在している。光褪色後蛍光回復法 (FRAP) および生細胞内アクチン動態観察用ベクターを用いた実験によりカルデスモン発現量依存性に F-アクチンの安定性を変化させることでスパインサイズを調整していることを証明した(図2、図3)。

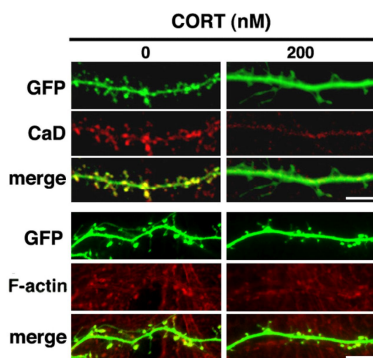


図2: コルチコステロンはカルデスモン発現を減少させ F-アクチンを不安定化させる。図は初代海馬神経培養細胞における免疫蛍光染色像である。

J.Neurosci. 32;2012: 14583-14591.

さらにこのメカニズムを解析した結果、海馬神経細胞においてカルデスモン発現量は血清応答因子(SRF)を介して制御されていることが明らかになった。

グルココルチコイドによるマッシュルーム型スパイン割合減少のメカニズムの一つとしてカルデスモンが関与していることを分子メカニズムを含め明らかにしたため、論文として報告した。

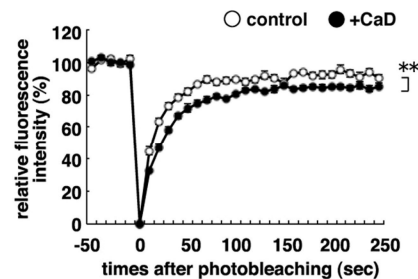


図3: 光褪色後蛍光回復法 (FRAP) による検証。

初代海馬神経培養細胞にカルデスモンを過剰発現させることでスパイン内の F-アクチンがより安定化する。J.Neurosci. 32;2012: 14583-14591.

ii)出生後の神経ネットワーク形成へ与える影響

次に胎生期にグルココルチコイド曝露されたラットの青年期における神経ネットワーク形成を拡散テンソル撮像法にて検討した。白質部における軸索走行を解析した結果、グルココルチコイド曝露群では白質後部における軸索走行がより異方性となっていることを明らかにした(図4)。

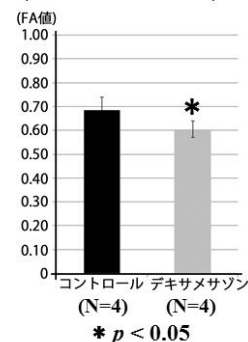


図4: Bregma -4.08 mm における fractional anisotropy 値の比較

(3)ヒト MRI 解析との相関性

未治療の統合失調症およびうつ病患者を対象に拡散テンソル画像の撮像を行っている。しかし本研究期間中には、解析に必要な検体数を満たすことができなかった。現在も撮像を継続し、今後研究成果としてまとめる予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Tanokashira D, Fukumoto K, et al.,
Glucocorticoid suppresses dendritic spine
development mediated by down-regulation
of caldesmon expression. *J. Neurosci.*
32:2012:14583-14591.

doi: 10.1523/JNEUROSCI.2380-12.2012.
査読有り

Koeda A, Fukumoto K, et al.,
Characteristics of Suicide Attempt Cases
in Schizophrenia: A Study of Emergency
Room Visit Cases. *Schizophr Res.*
142:2012:31-39.

doi:10.1016/j.schres.2012.08.029. 査読有り

Katsumi Sanjo, Kentaro Fukumoto, et al.
A Case of Drug Overdose-Induced, Severe
ECG Abnormalities: Investigation Through
Plasma Drug Concentrations. *Prim Care
Companion CNS Disord.* 14:2012; pii:
PCC.11101321.

doi: 10.4088/PCC.11101321. 査読有り

〔学会発表〕(計 9 件)

佐藤瑠美子、福本健太郎、他、岩手県高度
救命救急センターに搬送された自殺既遂者
の実態調査、第 31 回日本社会精神医学会、
学術総合センター、2012 年 3 月 15~16 日

佐藤瑠美子、福本健太郎、他、岩手県高度
救命救急センターに搬送された自殺既遂群
と自殺未遂群の比較検討、第 108 回日本精神
神経学会、札幌コンベンションセンター・札
幌市産業振興センター、2012 年 5 月 24~16
日

福本健太郎、他、胎生期グルココルチコイ
ド曝露が出生後脳形成に与える影響、第 108
回日本精神神経学会、札幌コンベンションセ
ンター・札幌市産業振興センター、2012 年 5
月 24~26 日

横田美貴、福本健太郎、他、クロザピンに
より流涎過多をきたした一例、第 66 回東北
精神神経学会総会、秋田市文化会館、2012 年
9 月 23 日

横田美貴、福本健太郎、他、慢性不眠症の
訴えに対する睡眠薬・抗不安薬多剤大量投与
への対処 - Actigraphy と Polysomnography に
よる客観的睡眠評価の有効性 - 、第 22 回日
本臨床精神神経薬理学会第 42 回日本神経精
神薬理学会合同年会、栃木県総合文化センタ
ー・宇都宮東武ホテルグランデ、2012 年 10
月 18 日~20 日

三條克巳、福本健太郎、他、benzodiazepine
系睡眠薬大量服薬後に意識障害が遷延した 1
例 - 血中濃度推移と Cytochrome P450 遺伝子
多型による検討 - 、第 22 回日本臨床精神
神経薬理学会第 42 回日本神経精神薬理学会合
同年会、栃木県総合文化センター・宇都宮東
武ホテルグランデ、2012 年 10 月 18 日~20
日

大沼禎史、福本健太郎、他、デュロキセチ
ン投与後に躁/軽躁病エピソードをきたした
2 症例、第 25 回日本総合病院精神医学会総会、
大田区産業プラザ、2012 年 11 月 30 日~12
月 1 日

肥田篤彦、福本健太郎、他、新種の合成カ
ンナビオイド同定に至った脱法ハーブ依存
患者の症例、第 23 回日本臨床精神神経薬理
学会・第 43 回日本神経精神薬理学会 合同
年会、沖縄コンベンションセンター、2013 年
10 月 24 日~26 日

三田俊成、福本健太郎、他、難治性うつ
病にアリピプラゾール補助療法が奏功した
一例、第 67 回東北精神神経学会総会、宮城
県建設産業会館、2013 年 10 月 13 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福本 健太郎 (FUKUMOTO, Kentaro)

岩手医科大学・医学部

研究者番号: 514407