

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 1 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791124

研究課題名（和文）

胎生期グルココルチコイド暴露が大脳皮質形成/神経ネットワーク形成へ与える影響

研究課題名（英文）

Effect of prenatal glucocorticoid exposure on the cortical development and network

研究代表者

福本 健太郎 (FUKUMOTO KENTARO)

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：00514407

研究成果の概要（和文）：精神疾患発症を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が思春期・成人期の発症リスクを高めるという説である。本研究ではストレスホルモンであるグルココルチコイドを齧歯類胎生期に投与し、大脳皮質形成および神経ネットワーク形成へ与える影響を検討した。本研究では胎生期におけるグルココルチコイド曝露が将来抑制性ニューロンとなる介在ニューロンの移動障害を起こし、胎生期の皮質内不均一分布を起こすことを確認している。また胎生期グルココルチコイド曝露後、思春期前後においても前頭前野の体積減少が起きていること、加えて白質での神経線維走行異常といったネットワーク形成障害を起こすことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The neurodevelopmental hypothesis is proposed as one of the hypotheses to explain critical cause of the mental disorder. This is the theory that fetal brain development abnormality may make an onset risk of mental disorder. In this study, we examined the effect of prenatal glucocorticoid hormone exposure on the cerebral cortex formation / neural network formation of rodent. This study has revealed so far that the glucocorticoid exposure disturbs the migration of interneuron which is to become GABAergic neuron and causes the heterogeneous distribution in the cortex. Furthermore, it has also revealed that prenatal glucocorticoid exposure reduces the volume of the prefrontal cortex and causes the anisotropy anomaly in the white matter in peri-adolescent period.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、精神神経科学

キーワード：グルココルチコイド、介在ニューロン、接線方向移動、拡散テンソル画像、神経ネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

不安障害・うつ病・統合失調症など主要精神疾患の発症原因について、遺伝的・環境要因など様々な研究が行われているが、決定的な発症要因は未だ不明である。近年疫学および患者剖検脳の解析から、上記主要精神疾患発症の原因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が思春期・成人期の発症リスクを高めるという説である。実際、胎児期・新生児期の脳発達、殊に大脳皮質形成を妨げる要因としてストレス/グルココルチコイド過剰曝露や甲状腺ホルモン分泌異常といった内分泌恒常性異常・母胎感染・低栄養などが報告されている。

本研究ではストレス/グルココルチコイドに焦点を当てる。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。また臨床では新生児死、呼吸促迫症候群(RDS)、脳室内出血のリスクを軽減のため、胎生期・新生児期にグルココルチコイド投与がされる。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に挙げると、齶歯類において母胎にストレス負荷を受けた胎児は、成体期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う報告は多数ある。しかしながらこれら現象の分子メカニズムを解析している報告は少ない。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究での研究項目は次の2点である。一つ目は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。二つ目は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過程異常の解析である。

### 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

申請者は過去にグルココルチコイド過剰曝露が興奮性ニューロンへと分化する神経前駆細胞の放射状移動を障害すること。またその原因遺伝子の一つがカルデスモンであることを報告した(Fukumoto K et al. *Mol Psychiatry*. 2009)。興奮性ニューロンと同様に抑制性ニューロンも神経ネットワークにおいて重要な役割を果たしている。

抑制性ニューロンへ分化する介在ニューロンは基底核隆起より発生し、遠く離れた新皮質へ向け接線方向移動をする。新皮質へ進入後は目的の層へ移動し皮質全体に均一分

布する。グルココルチコイドがこれらの移動に与える影響を解析した報告はない。そこで本研究では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を行った。

### 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過程異常の解析

神経前駆細胞および介在ニューロンの移動が終了すると、興奮性、抑制性神経細胞へと分化し相互作用しながら神経ネットワーク形成を行う。過去の報告では、胎生期もしくは幼児期のストレスは成体期に行動異常を呈するとの報告が多数存在する。胎生期のグルココルチコイド曝露がこのネットワーク形成に与える影響を行動決定に重要とされる部位を中心に解析を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 胎生期デキサメサゾン過剰曝露による介在ニューロン移動障害の解析

合成ステロイドであるデキサメサゾンを用いて介在ニューロンの移動障害について経時的に検討し、その分子メカニズムを同定・機能解析を行った。なお、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。

①介在ニューロンの移動障害を解析するため飲水中に1 $\mu$ g/mlデキサメサゾンを溶解し妊娠後期のみGFP-GAD67遺伝子改変マウスに与えた。その後経時的にサンプリングし組織切片を観察することで細胞増殖期・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分布を検討した。

②介在ニューロン培養細胞に200 nMコルチコステロンを投与することで細胞形態変化を解析、移動に影響を与える因子をRael-time qPCR法を用い同定した。

### (2) 胎生期デキサメサゾン過剰曝露による神経ネットワーク形成過程異常の解析

胎生期デキサメサゾン曝露が神経ネットワーク形成過程に及ぼす影響を主に画像解析を用いて解析をした。

①生後ラットの脳発達に伴う脳重量変化を経時的(生後3・7・14・21・42日)に測定し、胎生期デキサメサゾン曝露が脳発達に与

える影響を検討した。さらに磁気共鳴画像法 (MRI) を用い、経時的に前頭前野・海馬・扁桃体・線状体など行動規定に重要な大脳各部位の体積を測定した。

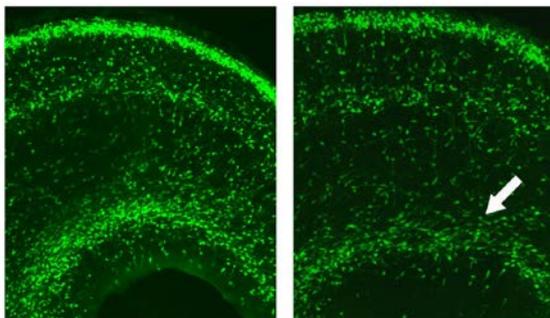
②高分解能を有する 11.7 テスラの MRI を用い前頭前野・海馬・扁桃体・線状体など行動既定重要な部位における神経ネットワークを解析した。神経ネットワークを詳細に検討するため、拡散テンソル画像法を用いた。

#### 4. 研究成果

(1) 胎生期デキサメサゾン過剰曝露による介在ニューロン移動障害の解析

① *In vivo* における介在ニューロンの移動および分布障害

胎生 12 日目よりデキサメサゾンを曝露し胎生 16 日目における介在ニューロンの分布を検討した。結果、移動中の介在ニューロンは不均一分布をとっていた。特に脳室下帯/中間帯を移動する細胞の割合が減少し、一方でコントロール群よりも早く皮質に分布する細胞の割合が増加することを見出した (図 1)。



コントロール デキサメサゾン

図 1 胎生 16 日目における GFP-GAD67 マウス。脳室下帯/中間帯 (矢印) で介在ニューロン細胞数減少が認められる。

②介在ニューロン細胞でのコルチコステロン投与による影響

介在ニューロン培養細胞に 200 nM コルチコステロンを投与すると細胞突起分枝異常をもたらすことを発見した。加えて、皮質分布異常の分子メカニズムを同定するため、コルチコステロン投与で変化する遺伝子を Real-time qPCR にて検索した結果、皮質で分泌される走化性物質の受容体 mRNA 発現が低下することを発見した。

(2) 胎生期デキサメサゾン過剰曝露による神経ネットワーク形成過程異常の解析

①デキサメサゾン曝露群における脳重量お

よび体積の変化

出生後ラットの脳発達に伴う脳重量変化を経時的に測定した結果、胎生期デキサメサゾン曝露により出生後に著明な低体重および脳重量変化が認められた。しかし脳発達に伴いデキサメサゾン曝露による有意差は解消することを見出している (図 2、図 3)。



コントロール デキサメサゾン

図 2 生後 3 日目のラット脳。デキサメサゾン曝露群での脳体積減少が認められる



コントロール デキサメサゾン

図 3 生後 21 日目のラット脳。両群の脳体積の差は認めない

次に前頭前野、海馬、線状体の体積を経時的に測定した結果、生後 42 日前時点では、海馬、線状体においてはデキサメサゾン曝露群でも体積差は認めなかったが、前頭前野のみデキサメサゾン投与群で体積減少が認められた (図 4)。

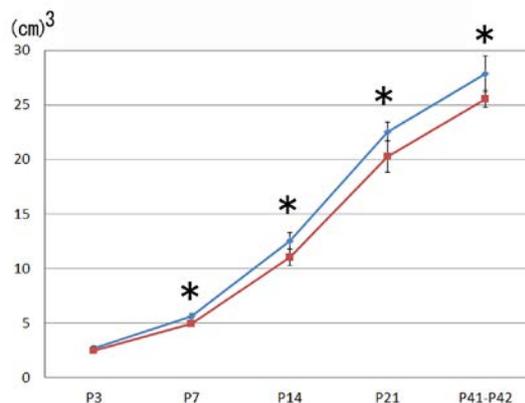


図 4 前頭前野の経時的体積変化。デキサメサゾン投与群 (赤) はコントロール群 (青) に比べ体積減少が認められる。

②胎生期デキサメサゾン過剰曝露による神経ネットワーク形成過程異常の解析

ネットワーク形成障害について 11.7T MRI による拡散テンソル画像法を用いて検討した。Color mapping にて同一冠状断面にて比較検討を行った結果、デキサメサゾン曝露群では白質後部における構造欠損を認めた (図 5)。

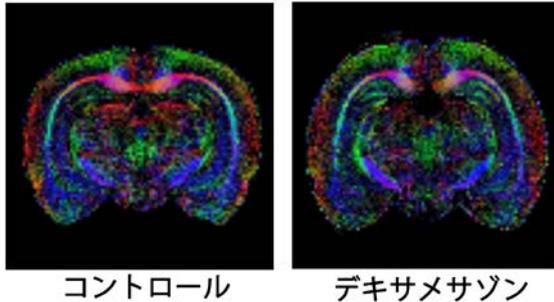


図 5 11.7MRI における color mapping

そこで白質後部における fractional anisotropy 値の低下を測定したところ、デキサメサゾン曝露群の方が有意に低値となっていた (図 6)。

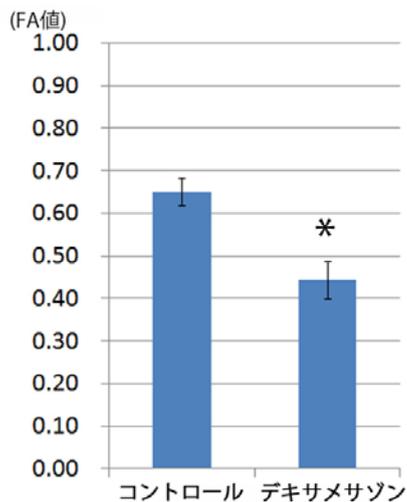


図 6 白質後部における fractional anisotropy 値

(3) 以上の結果より本研究期間では胎生期グルココルチコイド曝露は介在ニューロンの移動障害を起こし、胎生期の皮質内不均一分布を起こすこと。また出生後の神経ネットワーク形成過程において前頭前野の体積減少および白質での神経線維走行異常が生じることを明らかにした。

#### 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 1 件)

1. Sobue K, Fukumoto K. Caldesmon, an

actin-linked regulatory protein, comes across glucocorticoids. *Cell Adh Migr.* 4;2010.185-189 (査読あり)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

福本 健太郎 (KENTARO FUKUMOTO)

大阪大学・医学系研究科・助教

→岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：00514407