

発達期の社会的隔離により電気生理学的機能変化を認める 内側前頭前野の錐体細胞の一群

奈良県立医科大学 精神医学講座
西畑 陽介

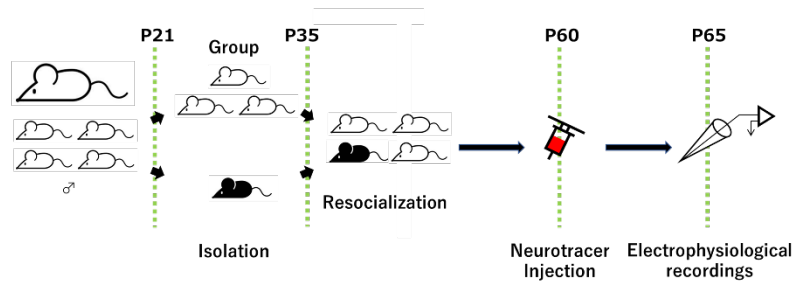
1.緒言

マウスの動物実験において、幼少期の社会的隔離が自閉症様の行動異常や前頭葉機能異常を引き起こし、特定の錐体細胞の興奮性が低下し、興奮性神経入力の頻度の低下を認めることが示されている^{1),2)}。今回、隔離飼育による機能変化するタイプの錐体細胞が、橋・線条体・視床などの皮質下へと軸索を投射する特徴^{3),4)}に着目し、社会的隔離により内側前頭前野からどの皮質下領域へ軸索を投射する錐体細胞が機能変化するのかを電気生理学的手法により調べ、自閉症様の症状の基盤となっている神経回路を探索した。

2.方法

オスの C57/BL6 マウスを生後 21 日目で離乳し、1 匹で隔離飼育 (isolation) するものと同胞 3 匹または 4 匹でグループ飼育するものとの無作為に分ける。生後 35 日目に、隔離飼育されたマウスも同胞と同居 (resocialization) させ、成人期まで飼育する。生後 60 日目に、頭位固定下にて逆行性蛍光色素 (Retrobeads[®]) を視床、線条体および橋核などの皮質下領域にそれぞれ注入 (Neurotracer injection) する。生後 65 日目に、脳の急性スライス標本を作成し、内側前頭前野第 5 層にある、蛍光色素で標識された錐体細胞に対し、ホールセル・パッチクランプを行った (図 1)。電極内液の組成は 141mM K-gluconate、4mM KCl、2mM MgCl₂、2mM Mg-ATP、0.3mM Na₂-GTP、0.2mM EGTA、10mM HEPES である。膜電位-70 mV で voltage clamp recording を行い、自発性シナプス後電流 (spontaneous postsynaptic currents : sEPSCs) を記録した。また、500 ms 長の電流パルス (正または負) を断続的に与える current clamp recording を行い、発火活動や過分極を記録した。記録は Signal (CED) で行い、解析は Mini Analysis software (Synaptosoft) にて行った。統計ソフトは SPSS (version26) を使用し、Student's t-test、2-factor analysis of variance (ANOVA)、Tukey's honest significant difference (HSD) などを行った。有意差は $P < 0.05$ とした (* ; $P < 0.05$, ** ; $P < 0.01$, *** ; $P < 0.001$)。

図1 社会的隔離モデルと実験の流れ

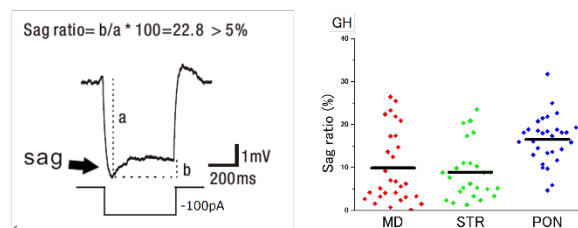


3.結果

皮質下の投射先別に分類した、内側前頭前野の第5層の錐体細胞の電気生理学的変化を比較し、社会的隔離によって受ける影響について調べた。

橋投射群 (PON) において視床投射群 (MD) または線条体投射群 (STR) と比較して、Sag ratio の優位な高値を認めた (図2)。我々の以前の報告において、Sag ratio が大きいと隔離飼育による機能変化するタイプの錐体細胞の割合が多い²⁾。そのため、橋投射群は社会的隔離に対して脆弱な細胞群であることが示唆される。

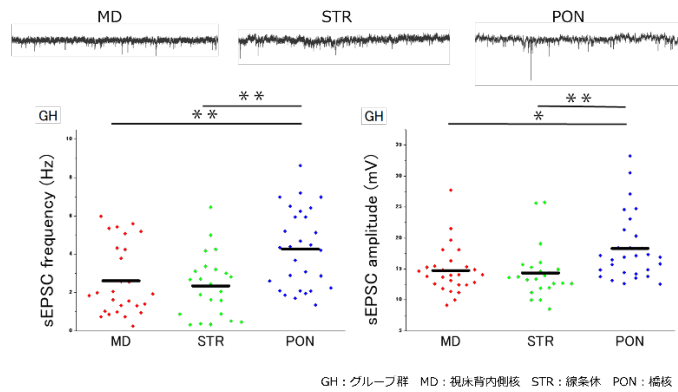
図2 各皮質下領域のSag ratio



GH: グループ群 MD: 視床背内側核 STR: 線条体 PON: 橋核

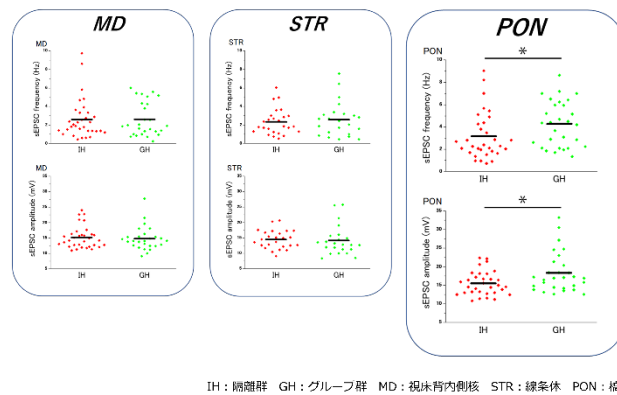
sEPSCs の周波数 (frequency) や振幅 (amplitude) においても、橋投射群が他の領域と比べて有意に高いことが示された (図3)。この結果は橋投射群がより多くの興奮性入力を受けていることを示唆する。

図3 各皮質下領域の自発性シナプス後電流 (sEPSC)



また、社会的隔離の影響について評価するため、隔離した群と隔離をしなかった群を比較した。sEPSC の amplitude と frequency が橋投射群において隔離した群が優位に低いことを認めた (図 4)。これは、社会的隔離により橋投射群への興奮性入力のみが低下したことを示唆する。結果は以上となる。

図4 隔離群 (IH) とグループ群 (GH) の自発性シナプス後電流 (sEPSC)



4. 考察

今回、隔離飼育による機能変化するタイプの錐体細胞が、橋・線条体・視床などの皮質下へと軸索を投射する特徴に着目し、社会的隔離により内側前頭前野からどの皮質下領域へ軸索を投射する錐体細胞が機能変化をするのかを電気生理学的手法により調べた。

内側前頭前野-視床背内側核間のオシレーション活動は高次認知および実行機能との関連しており⁵⁾、大脳皮質線条体ループ回路は行動選択のための評価を行い⁶⁾、内側前頭前野-橋核は連合運動学習に関与している⁷⁾などの様々な知見から皮質下の3領域それぞれが発達期の社会的隔離による影響を受けると考えられた。

精神的ストレスへの神経内分泌的な反応において脳幹は重要な役割をもち、その中でも

橋核は上位脳と接続するだけでなく、大脳-小脳経路において、大脳から小脳の様々な領域へと接続する最終的な中継地点である^{8),9)}。その接続先には、統合失調症の認知機能障害や陰性症状との関連が示された各小脳領域（Crus I、lobule VI、lobule VII）が含まれている。また、画像研究では自閉症スペクトラムと Crus I との関連が報告されている。そして昨今、小脳の異常も統合失調症や発達障害と関連しているとされ、大脳-橋-小脳ネットワーク（Cortico-Ponto-Cerebellar Circuitry）の異常が注目されている¹⁰⁾⁻¹²⁾。

今回、橋投射群は、視床や線条体投射群よりも多くの興奮性入力を受けており、かつ社会的隔離により興奮性入力低下することが示された。この前頭前野-橋の経路の異常は大脳-橋-小脳ネットワーク（Cortico-Ponto-Cerebellar Circuitry）の異常を反映している可能性がある。今後は、橋から投射を受ける小脳の顆粒細胞または前頭前野に投射する小脳のプルキンエ細胞などの電気生理学的活動を解析することで、より重要な情報をもたらす可能性がある。

5. 結語

自閉症様の行動異常や前頭葉機能異常を引き起こす一因とされる、発達期における社会的経験の不足が、前頭前野-橋間の神経回路の未成熟な形成をもたらすことが示唆された。

6. 文献

- 1) Makinodan, M. et al.(2012). A critical period for social experience-dependent oligodendrocyte maturation and myelination. *Science*. 337:1357-60.
- 2) Yamamuro, K. et al. (2018). Social Isolation During the Critical Period Reduces Synaptic and Intrinsic Excitability of a Subtype of Pyramidal Cell in Mouse Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*. 28(3): 998–1010.
- 3) Gee, S. et al. (2012) . Synaptic activity unmasks dopamine D2 receptor modulation of a specific class of layer V pyramidal neurons in prefrontal cortex. *J. Neurosci*. 32: 4959-71.
- 4) Dembrow, N.C. et al. (2012). Projection-Specific Neuromodulation of Medial Prefrontal Cortex Neurons. *J. Neurosci*. 30: 16922-37.
- 5) Parnaudeau et al. (2013). Inhibition of Mediodorsal Thalamus Disrupts Thalamofrontal Connectivity and Cognition. *Neuron*. 77(6): 1151-62.
- 6) Graybiel et al. (2008). Habits, Rituals, and the Evaluative Brain. *Annual Review of Neuroscience*. 31:359-87.
- 7) Wu, G. et al. (2018). Medial Prefrontal Cortex–Pontine Nuclei Projections Modulate Suboptimal Cue-Induced Associative Motor Learning. *Cerebral Cortex*. 28(3): 880–93.
- 8) Kratochwil, C. et al. (2017). The Long Journey of Pontine Nuclei Neurons: From Rhombic Lip to Cortico-Ponto-Cerebellar Circuitry. *Front Neural Circuits*. 11:33.
- 9) Moya, M. et al. (2014). Species-specific differences in the medial prefrontal projections to the

pons between rat and rabbit. *J Comp Neurol.* 522:3052–74.

10) Oristaglio, J. et al. (2013). Children with autism spectrum disorders show abnormal conditioned response timing on delay, but not trace, eyeblink conditioning. *Neuroscience.* 248:708-18.

11) Frings, M. et al. (2010). Timing of conditioned eyeblink responses is impaired in children with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Exp Brain Res.* 201(2): 167-76.

12) Sears, LL. et al. (2000). Cerebellar functional abnormalities in schizophrenia are suggested by classical eyeblink conditioning. *Biol Psychiatry.* 48(3):204-9.