

学位論文審査の結果の要旨

令和 6 年 6 月 12 日

審査委員	主査	金西 賢治		
	副主査	上野 正樹		
	副主査	宮武 伸行		
願出者	専攻	医学	部門	(平成27年度以前入学者のみ記入)
	学籍番号	19D706	氏名	入江 加奈子
論文題目	An enriched environment ameliorates the reduction of parvalbumin-positive interneurons in the medial prefrontal cortex caused by maternal separation early in life			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	・	<input type="radio"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)

〔 要 旨 〕

【背景】

生後早期の養育環境が社会性の発達に影響することは広く知られているが、そのメカニズムは未だ明らかになっていない。我々の先行研究では、成熟後である生後9週のラットの内側前頭前皮質において、母仔分離によって抑制性因子が減少し、興奮性・抑制性ニューロンが不均衡となることと、社会的認知が欠如することが示唆された。

【目的】

先行研究をもとに、母子分離 (maternal separation; MS) が成熟過程の内側前頭前皮質における興奮性・抑制性ニューロンの発達にどのような影響を及ぼすか、また可塑性が残る時期に養育環境をエンリッチにすることで、MSにより受けた影響が改善しうるかを評価した。

【材料と方法】

自然分娩にて出生したラットを、母獣に均等に分配した。母仔分離は生後2日～20日の間、1日2回ずつ行なった (MS群)。エンリッチな養育環境としては、通常ケージよりも大きなケージに、複数のおもちゃが含まれる環境を用意した (EE群)。

母仔分離の影響を評価するために興奮性・抑制性因子の遺伝子発現解析と免疫組織化学解析を行い、エンリッチ環境による変化を評価するために免疫組織化学解析を行った。また脳採取の前後に体重と脳重量を測定した。

【解析】

遺伝子発現解析は、生後7日、14日、21日、28日、35日の脳から採取したサンプルを用いて、リアルタイムPCRにより定量化した (Figure 1)。サンプルは、内側前頭前皮質及びその比較対象として感覚皮質から採取した。免疫組織化学解析でも生後35日目の同サンプルを用いた。

【結果】

遺伝子発現解析より、母仔分離は成熟過程の脳では興奮性・抑制性ともに一部の因子の発現を一時的に減少させた。特に腹側内側前頭前皮質の抑制性ニューロンに対してその影響は持続的であること、またこの影響は臨界期を迎える前は可逆的であり、その後の養育環境が豊かであれば回復しうる可能性が、免疫組織化学解析から示唆された。

【考察】

今回の興奮性・抑制性因子への影響は、脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor; BDNF) が関わっていると考えられる。腹側内側前頭前皮質は他領域に比較して成熟が遅く未熟であるため、BDNF に特に敏感であり、持続的な影響を受けた可能性がある。一方でこの影響は可塑性の高い時期であれば可逆的である可能性も示唆され、乳児期早期の養育環境の重要性を示すものである。今後行動実験などから、実際の社会的機能に対する効果を解析する必要がある。

Figure 1

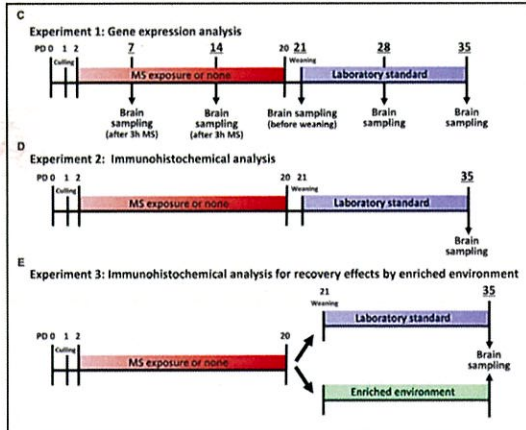


Figure 2

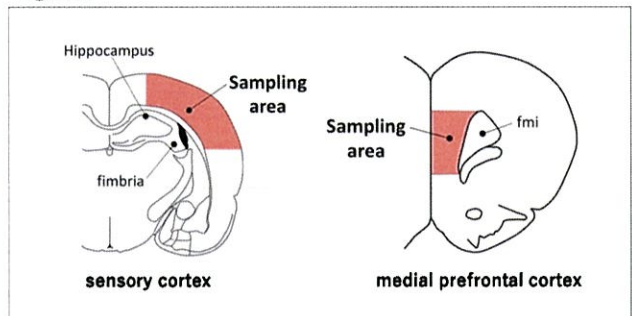


Figure 3 ; PVの遺伝子発現量

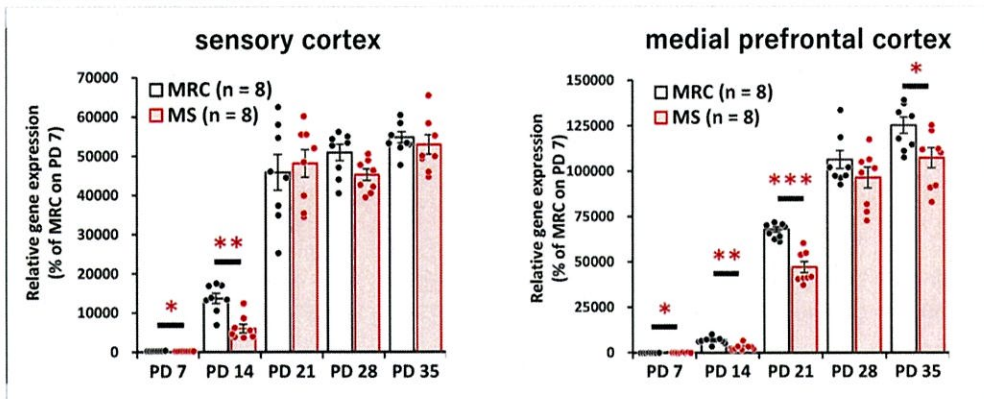
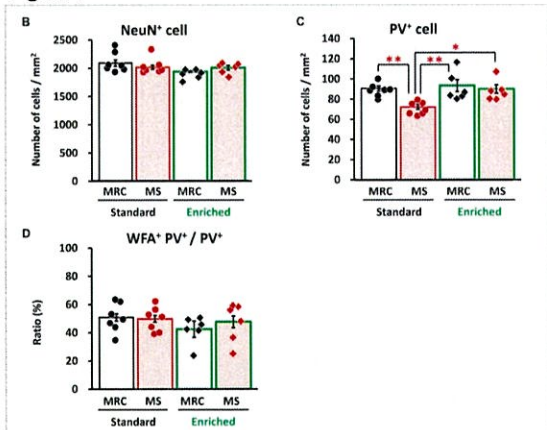


Figure 4



令和6年6月10日に行われた学位論文審査委員会においては、いかに示す様々な質疑応答が行われたが、それぞれに対して適切な回答が得られた。

1. 今後の課題について、EE後の影響についての行動実験は、どのような内容を検討しているか
→ 3チャンバーテストにより、他者認識について評価することが有効と考えている
2. 今回実施した母子分離やエンリッチな環境は、その具体的な手技を含めて一般的なものか
→ 早期のストレス下モデルとして、また恵まれた環境のモデルとして、いずれも確立された手法である。
3. 脳組織の部位の同定はどのように行っているか
→ 脳を固定化し、図表（ラットの脳アトラス）と比較することで、手作業で同定している。
4. ヒトに当てはめたとき、MS及びEEはどういった環境か
→ ネグレクトと、養育者の積極的な、愛情を持った直接的な関わりを有する環境と考える。
5. 免疫染色の陽性のうち、強弱についてはどうであったか、陰性と判断したうちの弱い反応を示していたものの数など
→ 今回は目視で確認できるものを全て陽性としたが、EE環境においては目視での強陽性の割合は高くなった印象であった
6. 脳重量・体重が小さくなっていることから、他の臓器への影響は、飢餓状態であることが種々のホルモンバランスに作用して今回の結果に影響している可能性はないか
→ 母子分離中の哺乳の制限があることは確かであり、他臓器も重量に差が出ることは過去に確認しているが、その際の結果や既報から、解析結果に影響を及ぼす飢餓状態にはないと考えている。
7. 解析に雌が含まれていないことに理由があるのか
→ ホルモン周期が結果に影響しうると言われており、一般的には解析には使用しない。

など多数の質問が行われた。

本論文は乳児期のストレスモデルとしての母子分離及びその後の養育環境が、成熟途中の内側前頭前皮質（mPFC）における興奮性・抑制性ニューロンに与える影響について研究したものである。同部位におけるパルブアルブミン陽性介在ニューロン（PV陽性ニューロン）の発現（細胞密度）と成熟度を分析することで、母子分離によりPV陽性ニューロンの発現は抑制されるが、母子分離終了後に恵まれた環境で養育することで、その差は回復できることが示唆された。

mPFCは社会認知能力に関連する部位であることが分かっており、ヒトにおいても、長期的には社会性の獲得の観点から、母子の直接的な関わり的重要性と、虐待などの不遇な環境におかれていることが疑わしい例については早期に介入することの必要性を神経科学的に示唆しているという点に意義がある。本審査委員会では審査員全員一致して博士（医学）論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲 載 誌 名	Frontiers in Neuroscience		第 17 卷, 第 2023 号
(公表予定) 掲 載 年 月	2024年 1 月	出版社 (等) 名	Frontier Media

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。

