

学位論文の内容の要旨

専攻	機能構築医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	生殖・発育学
学籍番号	15D705	氏名	天雲 千晶
論文題目	Repeated maternal separation causes transient reduction in BDNF expression in the medial prefrontal cortex during early brain development, affecting inhibitory neuron development		
(論文要旨)			
<p>① 研究目的</p> <p>乳幼児期における母子間の絆の形成は脳発達に極めて重要であり、これが不十分環境とされる育児放棄を経験した児は社会適応に必要な脳機能の発達が障害される事が報告されている。実際に発達期に母子分離を経験したラット仔では、成熟後の内側前頭前皮質において抑制性ニューロンの数とそのシナプス数が減少しており、その領域が司る機能の社会性が低下していることを既に確認している。しかしながら、母子分離が発達期の内側前頭前皮質にどのような影響を及ぼした結果、抑制性ニューロンに影響を与えたのかについてはまだ十分に解明されていない。そこで本研究では発達期における樹状突起伸長やスパイン形成などの神経回路網形成に関与し、かつ抑制性ニューロン自体の発達に重要な役割を担う事が報告されている脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor: BDNF) に焦点を当て、母子分離ストレスが発達期の内側前頭前皮質BDNF発現にどのような影響を与えうるのかを解析した。</p>			
<p>② 方法</p> <p>実験にはSDラットを用いた。自然分娩後、生後1日目に複数匹の母獣から集めた仔をランダムに各母獣に8匹ずつ再分配した。その後、生後2日から20日の間に母獣から仔を個別に分離した (3時間×2回/日: 母子分離群)。対照群は通常の養育を行った仔を用いた (通常養育群)。脳採取は生後4、7、10、14、21日に行い、特に生後4-14日は母子分離の影響を見るために3時間の分離直後に採取した。採取した脳から内側前頭前皮質を切り出して、リアルタイムPCRによる遺伝子発現解析とWestern blotによるタンパク質発現解析を行い、BDNF及びGABA合成酵素の発現動態を解析した。</p>			

③ 結果

遺伝子解析の結果、母子分離群では生後7、10日でBDNF発現が低下していたが14日以降では変化は見られなかった。同様に、生後7日ではBDNFのタンパク質発現も減少していたことから母子分離ストレスは脳発達早期におけるBDNFを低下させることが確認された。実際にBDNFによって発現が促進される最初期遺伝子群の一つであるActivity-regulated cytoskeleton-associated protein (Arc)の発現量も低下しており、BDNFの下流シグナルが低下していることが示唆された。一方で、BDNFの受容体であるTropomyosin receptor kinase B (TrkB)の発現は母子分離中では変化が見られなかったが、生後21日での蛋白発現が低下していた。そのため、発達早期のみでなく母子分離後もTrkBを介したBDNFのシグナルは低下している可能性が見出された。このようなBDNFシグナルの変化が抑制性ニューロンの発達にどのような影響を与えるのかを調べるため、GABA合成酵素 (GAD65, GAD67)の発現を調べたところ、タンパク質発現には変化は認められなかったもののシナプスに発現の多いGAD65の遺伝子発現が低下していることが確認された。

④ 結論

本研究結果から、母子分離ストレスは発達早期一過性に内側前頭前皮質のBDNF発現を低下させることが見出された。BDNFは抑制性ニューロンの発達に非常に重要であり、BDNFを過剰発現するマウスを用いた実験では抑制性ニューロンの発達促進が引き起こされる事が報告されている。また大脳皮質の器官培養による実験では、発達早期におけるBDNFシグナルの抑制がfast-spiking interneuronに発現するパルブアルブミンの発現を低下させることが報告されている。これらのことから本研究でも一過性ではあるが母子分離が内側前頭前皮質でのBDNF発現の低下をもたらし、それが抑制性ニューロン発達に影響を与え生後21日におけるGAD65の低下をもたらしたものと考えられる。本研究では母子分離中の影響に焦点を当てたが、内側前頭前皮質は他の脳部位に比べて発達が遅く刈り込みも含めた回路網形成の成熟も生後21日ではまだ十分ではない。従って、生後早期のBDNF低下の影響を明らかにするためには生後21日以降も含めて検討していく必要があると考えている。

掲載誌名	Heliyon	第 6巻, 第 8号
(公表予定) 掲載年月	2020年 8月	出版社(等)名 Elsevier
Peer Review	有	