

3. 社会経験の剥奪による内側前頭前野の興奮性／抑制性バランスの異常

芳野 浩樹^{1,2)}

抄録：精神疾患の病因を考えるうえで、遺伝や発症前のストレスのみならず発達環境が重要であることが知られている。発達環境によって生じる病態の基盤となる神経回路の異常を明らかにするため、筆者らは発達期における社会的刺激の欠落がどのように脳の発達に影響するかに注目してきた。その中で、発達期に一匹で飼育されたマウスの前頭前野の神経細胞の電気的活動を調べ、特定の錐体細胞において興奮性シナプス入力低下し、逆に抑制性のシナプス入力が増加していること、つまり興奮性／抑制性入力のバランスが抑制方向にシフトして錐体細胞の興奮性が低下することを明らかにした。今後はこの錐体細胞の脳全体における機能的な位置づけに着目して、社会経験の剥奪の脳への影響のメカニズムについてさらなる解明を目指したい。

日本生物学的精神医学会誌 31 (4) : 174-178, 2020

Key words : social isolation, prefrontal cortex, pyramidal cell, synaptic transmission, E/I balance

はじめに

奈良県立医科大学の精神医学教室では、画像研究、社会精神医学的研究などともに生物学的な基礎研究に精力的に取り組んでいる。精神疾患の病態解明を目指し、脳を研究する生物学的基礎研究においては、スタッフがそれぞれの専門性を持ち、マウスの行動研究、マウスやヒトの組織・iPS細胞を用いた分子組織学的研究、マウス・ヒト脳を用いた電気生理学的研究を行っている。精神疾患の研究においては、分子生物学的側面だけでなく、神経活動の結果である行動や、神経細胞特有の機能である電気活動について観察することが重要である。今回は当教室で体系的に進めている、社会的経験の剥奪がマウス前頭前野の発達に与える影響を調べた研究を電気生理学的に行った内容について紹介したい。

1. 社会経験と脳の発達

発達障害、統合失調症、双極性障害などさまざまな精神疾患において、遺伝や出生前・発達段階にお

ける環境がその発症に影響を与えることが広く知られている。発達段階における環境が脳の発達に影響することは、精神疾患のみならず正常な発達を考えるうえでも重要である。一般には発達中に親との関係で形成される環境の重要性が説かれることが多いが、子供同士の集団内での社会的接触も重要である。例えば、移民の家族において両親の言語と子供社会(学校など)で使用される言語が異なる場合、移民の子供は両親の言語よりも子供社会での言語を優位に習得することが知られている¹²⁾。心理学者が、チンパンジーをヒトの子供と育てた際にチンパンジーがより発達するのかを調べた研究では、逆にヒトの子供の言語発達が遅れて、行動においてもチンパンジーを模倣するようになったとの報告がある⁷⁾。また、出生後早期に母親から引き離されて、子ザルだけの集団で育った場合に情動的な不安定が見られる時期もあるが、最終的にはほぼ正常に成長するという⁹⁾。これらから、親との関わりによる環境の必要性は否定できないが、それにも増して子供同士による社会的環境が脳の発達に重要である可能性が示唆される。

The abnormality of excitatory / inhibitory balance of medial prefrontal cortex induced by social isolation

1) 奈良県立医科大学 精神医学教室 (〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840) Hiroki Yoshino : Department of Psychiatry, Nara Medical University, 840, Shizyocho, Kashiharashi, Nara 634-8522, Japan)

2) 三重県立こころの医療センター (〒514-0818 三重県津市城山 1-12-1) Hiroki Yoshino : Mie Prefectural Mental Medical Center, 1-12-1, Shiroyama, Tsushi, Mie 514-0818, Japan)

【芳野 浩樹 E-mail : psyosino@naramed-u.ac.jp】

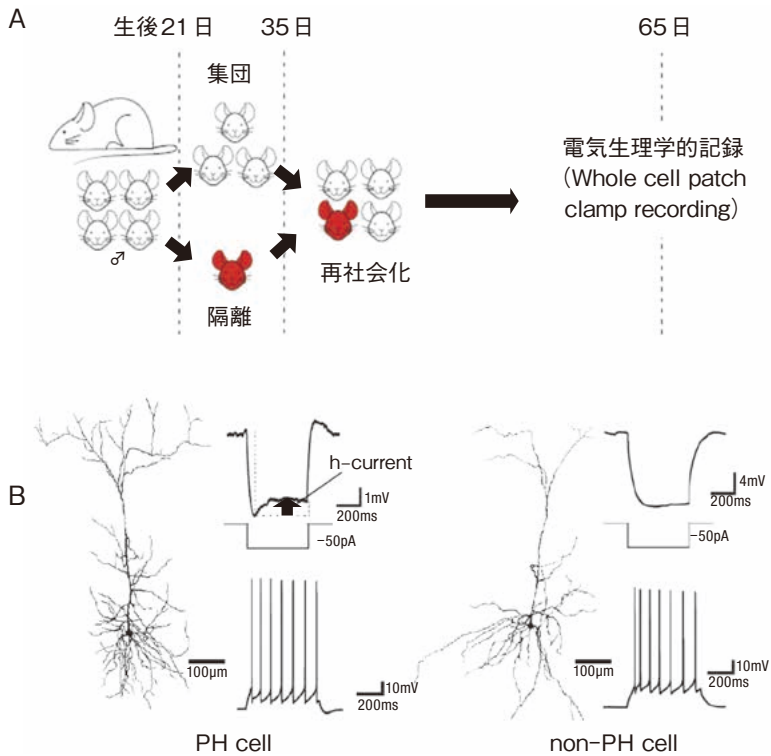


図 1

A) 隔離飼育のプロトコール：離乳直後のマウスを生後21日から35日まで隔離飼育し、35日以降は同胞のマウスとの同居に戻す。生後65日後にホールセルパッチクランプ法にて記録を行う。

B) 左：PH cell (prominent h-current cell) 黒い矢印は錐体細胞を過分極して生じたh-currentによる電位の上昇。右：non-PH cell (non-prominent h-current cell)

(文献13より引用改変)

非常に劣悪な環境で生育したヒトの発達の例について、チャウシェスク政権下の多産政策の弊害であるルーマニア孤児の研究がある。物的にも人的接触においても貧しい環境の施設で育てられた孤児は、常同行動、自傷、脱抑制性分離障害、認知機能障害、注意・多動性障害など発達障害様のさまざまな症状を呈した¹⁾。それらの孤児の画像研究において、内側前頭前野を含む前頭葉・側頭葉の代謝低下、内側前頭前野を結ぶ白質繊維の狭小化が見られた^{2, 3, 10)}。さらには、ある一定の期間をこの環境下で過ごす、その後孤児が貧しい環境から豊かな環境である里親との生活に戻されても、症状や脳の変化は改善を示さなかった^{2, 3, 10)}。

以上のことから、発達のある時期における社会的接触が正常な脳の発達に重要であることが示唆され、不十分な社会的接触は精神疾患の基盤、または病態解明のヒントとなる可能性が示唆される。

2. 社会的隔離マウスモデルと興奮性シナプス伝達

発達早期に一匹で飼育されたマウスが異常な行動をとることはこれまでに報告されている。驚愕反応である prepulse inhibition, 新奇性に関わる novel cognition, 仲間同士の social interaction などの異常である⁵⁾。これらの行動の基盤には前頭前野の神経

回路の機能異常が想定され、実際に筆者らのグループの先行研究においては、発達早期に隔離飼育されたマウスにおいて内側前頭前野の深層の髄鞘化が低下することを示している⁸⁾。髄鞘化は神経細胞の活動依存性により起こり^{4, 6)}、軸索の伝導速度を上げ、グルタミン酸による興奮性シナプス伝達とも関わる¹¹⁾。そこで筆者らは隔離飼育による内側前頭前野の神経回路の機能異常を興奮性の電気活動の側面から調べるために電気生理学的手法を用いて研究を行った。

離乳直後の生後21日から35日までの間、一匹で隔離飼育されるマウスと、同胞と集団で飼育されるマウスに分け、生後35日以後は隔離飼育されたマウスと集団飼育されたマウスを再度同居させて飼育し、成体になった生後65日頃に脳スライスを作成し、内側前頭前野の第五層の神経細胞(錐体細胞)から電氣的記録(ホールセルパッチクランプ法)を行った(図1A, 図2A左)。近年この第五層の錐体細胞を2種類に分ける考え方が知られており、樹状突起が太く、多岐にわたる分枝を持ち、その軸索を皮質下(視床、橋など)に伸ばす群と、樹状突起・分枝が比較的小さく、その軸索を対側の皮質に伸ばす群とに分けられる。前者はさらに、細胞が過分極になると大きいh-currentが観察されることが知られており、今回筆者らは、内側前頭前野第五層の錐体細胞を記録中にこのh-currentを指標にするこ

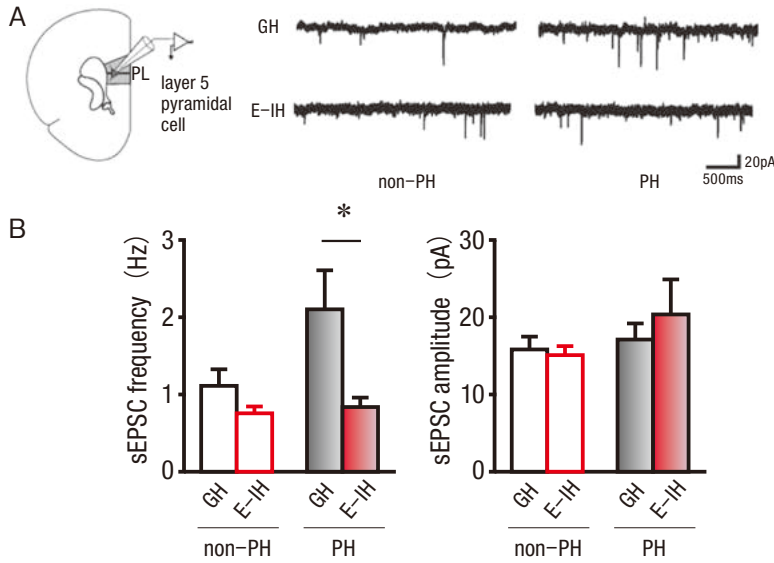


図 2
 A) 左：マウス脳スライス模式図
 内側前頭前野 (PL：prelimbic area) の第五層の錐体細胞より記録した。右：自発性興奮性後シナプス電流 (sEPSC：spontaneous excitatory postsynaptic current) のデータ例
 GH：group-housing 集団飼育
 E-IH：early isolate-housing 隔離飼育
 B) 左：sEPSCの頻度のグラフ，PH cellにおいてE-IHがGHより有意に少ない。右：sEPSCの振幅のグラフ
 (文献13より引用改変)

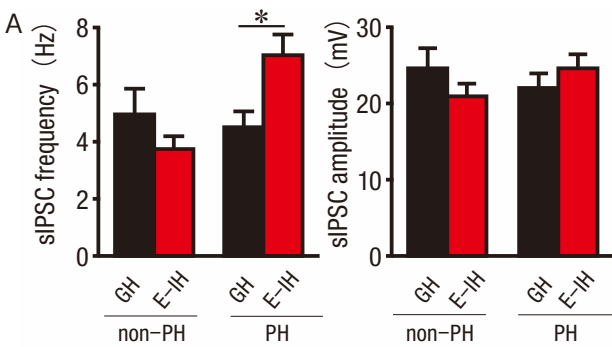
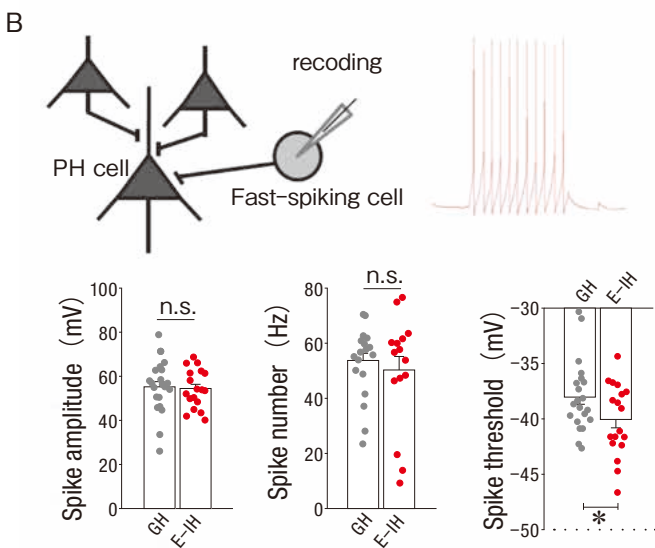


図 3
 A) 左：自発性抑制性後シナプス電流 (sIPSC：spontaneous inhibitory postsynaptic current) の頻度のグラフ PH cellにおいてE-IHがGHに比べて有意に多い。
 右：sIPSCの振幅のグラフ
 B) 左：PH cellとfast-spiking cellの模式図
 右：fast-spiking cellの活動電位の例
 C) fast-spiking cellの活動電位の振幅 (spike amplitude), 頻度 (spike number), 閾値 (spike threshold) のグラフ
 閾値においてE-IHはGHより有意に低い
 (文献14より引用改変)



とで、大きい h-current を示す群 (prominent h-current cell：PH cell)，大きい h-current を示さない群 (non-prominent h-current cell：non-PH cell) とに分類した¹³⁾ (図 1B)。ここでこの二つのタイプの錐体細胞のうち PH cell において、発達早期の隔離飼育を行うことによって細胞に入力する興奮性シナプス伝達の頻度が低下することが明らかとな

た。一方、non-PH cell においては隔離飼育による興奮性シナプス伝達への影響は見られなかった (図 2)。次に、隔離飼育する時期の重要性を検討するために隔離飼育を生後 35 日から 49 日の間で行い、同様に電氣的記録を行った。すると、PH cell で記録される興奮性シナプス伝達において隔離飼育の影響は見られなくなった。また、生後 21 日から 35

日の発達早期の隔離飼育が内側前頭前野だけでなく、他の脳領域でも影響する可能性を確かめるために、体性感覚野において同様の記録を行った。しかし、体性感覚野の PH cell の興奮性シナプス伝達においては発達早期の隔離飼育による影響は見られなかった。以上から生後 21 日から 35 日の限定された期間にマウスを隔離飼育すると、特異的に内側前頭前野の PH cell の興奮性シナプス伝達が低下する可能性が示唆された¹³⁾。

3. 社会的隔離モデルと抑制性シナプス伝達

皮質内の神経回路においては、グルタミン酸が伝達物質として働く興奮性のシナプス伝達と GABA (γ -aminobutyric acid) が伝達物質として働く抑制性のシナプス伝達の両者がバランス良く働くことが脳の高次機能を保つのに重要であるとされている。そこで、発達早期の隔離飼育によって、興奮性シナプス伝達のみならず抑制性シナプス伝達にも影響が見られるかどうかを調べた。興奮性シナプス伝達における研究と同様のプロトコールで隔離飼育を行ったところ、生後 21 日から 35 日の隔離飼育によって PH cell に入力する抑制性シナプス伝達が増加し (図 3A)、non-PH cell においてはそのような影響はみられなかった。この現象はやはり生後 21 日から 35 日の隔離飼育によってのみ生じ、生後 35 日から 49 日の隔離飼育によっては生じなかった¹⁴⁾。今回の電気生理学的記録の手法であるホールセルパッチクランプ法では記録している神経細胞の細胞体近辺への入力をより検出しやすいという特性がある。この PH cell に入力する抑制性シナプス伝達は、さまざまな GABA 作動性介在ニューロンから出力されている可能性があるが、錐体細胞の細胞体近辺に最も入力する介在ニューロンとしては parvalbumin 陽性介在ニューロンが挙げられ、またその介在ニューロンは非常に速く、連続しても減衰しない活動電位を発する (fast-spiking cell) 特徴をもつことが知られている (図 3B)。そこで、fast-spiking の特徴を持つ神経細胞から記録を取り、隔離飼育の影響が見られるかを調べた。これまでと同様の隔離飼育を行うと、fast-spiking cell の活動電位の振幅や頻度には影響はなかったものの、発火閾値が低下していることが明らかとなった (図 3C)。これにより、隔離飼育により PH cell 上に入力する抑制性シナプス伝達の増加の一因として、fast-spiking cell の発火閾値の低下にみられる興奮性の増加、続く神経伝達物質 GABA の PH cell への入力が増加している可能性

が示唆された¹⁴⁾。

さいごに

離乳直後の生後 21 日から 35 日までマウスを一匹で飼育すると、その後に集団で飼育されても、内側前頭前野の特定の錐体細胞への興奮性シナプス入力低下し、抑制性シナプス入力が増加することがわかった。この錐体細胞上の興奮と抑制のバランスから考慮すると、錐体細胞は全体として興奮性が低下することが考えられる。実際に筆者らは隔離飼育により PH cell の発火頻度が低下し、発火閾値が上がることも確認している¹³⁾。マウスにおいて離乳後の一定期間に隔離飼育された際の行動異常の基盤として、またはヒトにおいて発達期に社会的接触を不十分であったときに精神症状が生じる基盤として PH cell の興奮性低下が寄与していることが想定されるが、次には脳全体で構成される回路のなかでこの PH cell がどのような役割を果たしているのかを知るのが重要となる。これまでの報告により、この大きい h-current を持つ内側前頭前野の第五層の錐体細胞は皮質下にその軸索を投射し、その投射先として視床、線条体、橋などが挙げられている。今後は PH cell のサブグループの中でどの脳領域に投射するタイプが隔離飼育によって影響を受けるかを調べることにより、発達期の社会的接触の欠如による行動異常のメカニズムの理解が進むことを期待したい。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。また、開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Bos K, Zeanah CH, Fox NA, et al (2011) Psychiatric outcomes in young children with a history of institutionalization. *Harv Rev Psychiatry*, 19 : 15-24.
- 2) Chugani HT, Behen ME, Muzik O, et al (2001) Local brain functional activity following early deprivation : a study of postinstitutionalized Romanian orphans. *Neuroimage*, 14 : 1290-1301.
- 3) Eluvathingal TJ, Chugani HT, Behen ME, et al (2006) Abnormal brain connectivity in children after early severe socioemotional deprivation : a diffusion tensor imaging study. *Pediatrics*, 117 : 2093-2100.
- 4) Fields RD (2015) A new mechanism of nervous system plasticity : activity-dependent myelination. *Nat Rev Neurosci* 16 : 756-767.
- 5) Fone KC and Porkess MV (2008) Behavioural and

- neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents—relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 32 : 1087–1102
- 6) Gibson EM, Purger D, Mount CW, et al (2014) Neuronal activity promotes oligodendrogenesis and adaptive myelination in the mammalian brain. *Science*, 344 : 1252304.
- 7) Kellogg WN and Kellogg LA (1933) *The Ape and the child : A study of environmental influence upon early behavior*. McGraw-Hill, New York.
- 8) Makinodan M, Rosen KM, Ito S, et al (2012) A critical period for social experience-dependent oligodendrocyte maturation and myelination. *Science*, 337 : 1357–1360.
- 9) Suomi SJ (1997) Early determinants of behavior : Evidence from primate studies. *Br Med Bull*, 53 : 170–184.
- 10) Pollak SD, Nelson CA, Schlaak MF, et al (2010) Neurodevelopmental effects of early deprivation in postinstitutionalized children. *Child Dev*, 81 : 224–236.
- 11) Wake H, Lee PR and Fields RD (2011) Control of local protein synthesis and initial events in myelination by action potentials. *Science*, 333 : 1647–1651.
- 12) Winitz H, Gillespie B and Starcev J (1995) The development of English speech patterns of a 7-year-old Polish-speaking child. *Psycholinguist Res*, 24 : 117–143.
- 13) Yamamuro K, Yoshino H, Ogawa Y, et al (2018) Social isolation during the critical period reduces synaptic and intrinsic excitability of a subtype of pyramidal cell in mouse prefrontal cortex. *Cereb Cortex*, 28 : 998–1010.
- 14) Yamamuro K, Yoshino H, Ogawa Y, et al (2020) Juvenile social isolation enhances the activity of inhibitory neuronal circuits in the medial prefrontal cortex. *Front Cell Neurosci*, 14 : 105.

■ ABSTRACT

The abnormality of excitatory / inhibitory balance of medial prefrontal cortex induced by social isolation

Hiroki Yoshino^{1,2)}

1) *Department of Psychiatry, Nara Medical University*

2) *Mie Prefectural Mental Medical Center*

Developmental environment is one of important factors to consider about the cause of mental illness, as well as genome and stress related with onset of illness. To clarify the abnormality of neuronal circuits which underlie on the pathophysiology caused by poor developmental environment, we focus on the influence of social isolation during development on brain development. We investigated electrical activity of neuron in medial prefrontal cortex of mouse socially isolated during development and showed that social isolation lower the excitatory synaptic input and increase the inhibitory synaptic input on specific type of pyramidal cell in layer 5 of medial prefrontal cortex, which result in the lower excitability of the pyramidal cell under the imbalance of excitation / inhibition. In the future, we would focus on the function of the specific pyramidal cell in the whole brain and deeply understand the mechanism of abnormal development of brain by social isolation.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 31 (4) : 174–178, 2020)
