

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	湯川 尊行
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 858 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Pathological alterations of chondroitin sulfate moiety in postmortem hippocampus of patients with schizophrenia (統合失調症患者死後脳海馬におけるコンドロイチン硫酸部位の病理学的変化)
論文審査委員	主査 教授 竹林 浩秀 副査 准教授 中津 史 副査 教授 染矢 俊幸

### 博士論文の要旨

#### 【背景と目的】

パルブアルブミン陽性抑制性神経細胞の細胞体や軸索周囲に発達している網状の構造は、per neuronal net (PNN) と呼ばれている。PNN の主要な構成成分である chondroitin sulfate proteoglycan (CSPG) と、その部分構造である chondroitin sulfate (CS) 鎖は神経可塑性の制御、神経保護、神経栄養などの重要な働きを持つことが知られている。CS 鎖は *N*-アセチルガラクトサミンへの硫酸基の結合部位の違いにより、主に 4-硫酸化コンドロチン (C4S) と 6-硫酸化コンドロイチン (C6S) に分けられる。近年、CS 鎖を検出する染色法である wisteria floribunda agglutinin (WFA) 染色や、CS 鎖に対する抗体を用いた免疫組織化学染色で、統合失調症患者と対照者の死後脳の染色性に差異があるという報告が相次いでいる。しかし、その染色性の違いに、どのような硫酸化パターンの CS 鎖が関与しているのかについて詳細は明らかではない。申請者らは統合失調症の病態生理と脳内 CS 鎖の関連を解明するため、統合失調症患者死後脳の前頭前野、尾状核、海馬の各領域における C4S、C6S の発現変化を明らかにすることを目的として以下の研究を行った。

#### 【方法】

統合失調症患者 36 例と対照者 26 例を対象とし、3 つの脳領域、前頭前野、尾状核、海馬の凍結死後脳組織 (それぞれ患者群 n=21, 18, 18、対照群 n=19, 15, 9) の C4S と C6S の免疫反応性をウエスタンブロット法を用いて計測した。凍結死後脳組織から Triton-X-100 含有バッファーを用いてタンパク溶解液を調製し、Micro BCA 法でタンパク濃度を測定した。タンパク溶解液は、抗原基を露出するために、コンドロイチナーゼ ABC で酵素処理した。C4S、C6S に対するモノクローナル抗体を使用し免疫反応性をウエスタンブロット法で化学発光により検出し、シグナル強度を CCD カメラシステムにより測定した。得られたシグナル強度の値は、組織量を反映すると考えられる glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase をローディングコントロールとして用い標準化を行ったうえで、マンホイットニー検定を行い、統計解析した。また、対照実験として抗精神病薬 (ハロペリドール) を 1 年間投与したラットを用いて、同様に、C4S およ

びC6S の発現を上述の方法で測定しヒト死後脳のデータと比較した。

### 【結果】

統合失調症患者群の海馬において、検出された複数の C4S のバンドのうち、180kDa のバンドの免疫反応性の有意な増加が認められた ( $U=127, p=0.017$ )。海馬の C6S においては有意差は認められなかった。前頭前野と尾状核においては、患者群と対照群の間に C4S と C6S の免疫反応性の有意差は認められなかった。前頭前野の死後経過時間、海馬領域の死後経過時間と冷凍保存期間の有意差が患者群と対照群の間で認められた。しかし、海馬の C4S の 180kDa のバンドの免疫反応性とそれらの指標との間に相関関係はなかった。ラットを対象とした対照実験では、ハロペリドール投与群の C4S 免疫反応性はむしろ低下しており、本研究において示された統合失調症患者の海馬領域の C4S の免疫反応性の変化は、疾患に関連した変化である可能性が大きいことが示唆された。

### 【考察】

今回の研究から、統合失調症患者の海馬に、統合失調症の病態生理に関連した C4S の変化が存在することが示唆された。しかし、この変化が、CS 糖鎖部位の量的な変化のみによるものなのか、コアタンパクも含めた変化なのかは今回の研究からは明らかではない。アルツハイマー病モデル動物の脳内細胞外基質において、C4S の増加が認められるという報告があり、C4S の増加は、軸索伸長やシナプス形成を阻害し、神経可塑性の低下と学習や記憶の障害をもたらすことが示唆されている。動物実験では、海馬の CS 鎖をコンドロイチナーゼ ABC によって分解すると、ドパミン神経系の過活動と統合失調症様の行動異常とを惹起するという報告もある。C4S の量的異常が、統合失調症において認められる認知機能障害や精神病症状に関連している可能性が示唆される。しかし、海馬領域の C4S の異常が、パルブアルブミン陽性抑制性神経細胞の機能異常や統合失調症を引き起こすという直接的な証拠はない。海馬領域の C4S の変化と統合失調症の病態生理との関連を明らかにするためには、今後のさらなる研究が必要である。

### 審査結果の要旨

ペリニューロナルネット (PNN) は、パルブアルブミン (PV) 陽性の抑制性神経細胞の細胞体や軸索周囲に発達している網目状構造である。PNN は、神経機能の制御に関わっている事が知られている。PNN の主要な構成成分はコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) とその部分構造であるコンドロイチン硫酸 (CS) である。

本研究では、統合失調症患者 36 例と対照 26 例の凍結死後脳組織 (前頭前野、尾状核、海馬) を対象に、4-硫酸化コンドロイチンを検出する C4S 抗体、6-硫酸化コンドロイチンを検出する C6S 抗体を用いてウェスタンブロッティング法により検討を行った。その結果、海馬において検出された C4S の複数のバンドのうち、180kD のバンドの反応性の有意な増加が認められた ( $p=0.017$ )。ハロペリドールを長期投与したラットを用いた対照実験では、本バンドはむしろ低下しているので、薬剤投与による影響ではなく、統合失調症の疾患に関連した変化であることが示唆された。

本研究は、統合失調症患者の死後脳において、病態生理に関連したコンドロイチン硫酸の変化の存在を示唆した点に学位論文としての価値を認める。