

	あおき ひろゆき
氏名	青木 弘行
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第235号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	マウス母体へのサイトカイン投与が与える産仔の認知行動発達変化
論文審査委員	主査 教授 那波 宏之 副査 教授 崎村 建司 副査 教授 澁木 克栄

#### 博士論文の要旨

##### 緒言

妊娠中に母体がウイルスなどに感染すると生まれた子供の統合失調症発生率が上昇することが疫学的研究で言われている。母体の感染はサイトカインを誘導し、直接的または間接的に胎児の脳発達を障害するのではないかと推定されている。そこで、妊娠マウス母体へのウイルスのゲノムRNA成分、ポリイノシン:シトシン重合体 (PolyI:C) を投与し、母体に擬似的な感染を経験させた。また同様に、妊娠マウスへサイトカイン投与も実施した。これらの母マウス生まれた仔の認知行動発達への影響を評価し、妊娠中の免疫炎症が及ぼす産仔行動への影響を評価した。

##### 方法

実験動物として C57BL/6J を使用した。PolyI:C は、2mg/kg、4mg/kg、8mg/kg の各投与群にわけ、妊娠 13.5 日に母体の尾静脈に投与した。サイトカイン類はウイルス感染後の誘導が知られているインターフェロン- $\alpha$  (10 万 IU/kg)、インターロイキン-1 $\alpha$  (20  $\mu$ g/kg)、インターロイキン-2 (5 万 IU/kg)、インターロイキン-6 (5 万 IU/kg) を使用し、妊娠 13.5 日から 15.5 日の 3 日間、1 日 1 回腹腔内に投与した。同様に 3 日間生理食塩水を妊娠マウスに投与して、その母体から生まれた仔マウスを対照群として用いた。すべての実験において投与量は体重の 5% 以下とし、胎児毒性に配慮した。統合失調症モデル動物の行動評価は、生まれてきたマウスが 8 週齢~10 週齢の間に音驚愕反応測定とプレパルスインヒビションを実施した。PolyI:C 投与母マウスから生まれた仔マウスは成長後、還流固定を施し、脳神経変性が起きていないか病理染色を実施した。

##### 結果

PolyI:C を投与した母から生まれた仔マウスは、音驚愕反応に影響を示さなかった。プレパルスインヒビションについては、PolyI:C の最低用量で、すでに顕著な低下が観察され、高用量でもプレパルスインヒビションへの効果が減弱する傾向があった。これら約 20 分間の

音驚愕反応テストに対する音ストレス順化性を音驚愕反応テスト前後に測定し、その変化率を評価した。この音順化反応は、コントロール群が初期の50%程度まで反応低下したのに対し、PolyI:C処置群では顕著な順化反応は観察されず、平均20%低下の程度に止まった。このような行動変化を呈した仔マウスであるが、脳切片標本の組織染色で明らかな神経変性像は観察されなかった。

インターロイキン-1投与では産仔数が少なく、一部流産していたものと考えられた。その他のサイトカイン母体処理では、産仔は異常なく生まれ育った。成長後のプレパルスインヒビションでは、インターロイキン-1および、インターロイキン-2の処置群で低下傾向が見られた。音驚愕反応では、インターフェロン- $\alpha$ 、インターロイキン6を妊娠中の母親に投与した仔マウス群で低下した。

#### 考察

統合失調症の患者の母子手帳などを調べた先行研究では、妊娠中のウイルス感染、結核感染、早産、分娩障害などは、胎児の脳発達に重大な影響を及ぼし、疫学的に総合失調症リスクを上昇させると言われている。なかでも、インフルエンザ感染との関係は疫学的に多く研究がなされてきていて、妊娠中期における感染が高いリスク因子と言われてきた。インフルエンザウイルスを妊娠中のネズミに感染させるとその胎児が成熟したとき、統合失調症様の認知・行動異常が誘導される。ほぼ同様の動物モデルが、今回、そのゲノム成分RNA (PolyI:C)の尾静脈注射でも作製された。しかし、この仔マウスの脳病理組織観察では神経変性像やグリオシスは観察されなかったことより、PolyI:C投与の影響は神経発達障害に限定されると推察される。先行研究によると、PolyI:C投与後に母体でインターロイキン-1などの炎症性サイトカイン誘導が確認されている。実際、本研究でPolyI:C投与と同様のプレパルスインヒビション障害がインターロイキン-2の母体投与でも再現された。一方、子宮収縮能を有するインターロイキン-1を投与した妊娠マウスは、その産子数が少なくなる傾向があったものの、その仔マウスの行動異常はそれほど顕著ではなかったため、子宮収縮やそれに伴うであろう虚血の影響は限定的かもしれない。これらの実験結果は、母体内での感染や炎症によって誘導された特定のサイトカインがその胎児の将来の行動発達を障害する可能性を提起している。統合失調症の母体ウイルス感染仮説の是非は、まだ議論の分かれるところであるが、胎児の機能的脳発達障害と母体炎症反応になんだかの関係があることは間違いなさそうである。

(論文審査の要旨)

統合失調症発症の仮説の一つに妊娠母体のウイルス感染などの周産期障害が原因とする説がある。実際、妊娠実験動物でのインフルエンザの感染は、母体に炎症を誘発し流産を起こすと共に、かろうじて生存した産仔も様々な認知行動異常を呈する。本研究では、この母体ウイルス感染の結果がゲノムRNA投与により再現できるか、関与している炎症性サイトカインはどんなものかという疑問を検討している。申請者はマウス妊娠中後期に、2本鎖RNAを尻尾静脈投与する、もしくはウイルス感染により誘導されうる炎症性サイトカイン（インターフェロン、インターロイキン-1、-2、-6）を腹腔投与し、産まれてきたマウスの新奇探索運動量、音驚愕反応、プレパルスインヒビションを測定している。結果、マウス仔のプレパルスインヒビション異常は、ウイルスゲノム成分である2本鎖RNAの投与で再現されることを明らかにしている。また、インターロイキン-2の母体投与も同様に運動量上昇とプレパルスインヒビション障害を誘発しうることも報告している。本論文は産仔の認知行動異常に、サイトカイン誘導といった母体内の免疫炎症が関与していることを示唆している点において、学位論文としての価値を認める。