

氏名	津田 法子
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第244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	Strain-dependent behavioral alterations induced by peripheral interleukin-1 challenge in neonatal mice (末梢への新生時期インターロイキン-1 投与はマウス系統依存的に行動変化を誘導する)
論文審査委員	主査 教授 崎村建司 副査 教授 那波宏之 副査 教授 澁木克栄

#### 博士論文の要旨

##### 〈序論〉

統合失調症は深刻な精神疾患のひとつであり、その罹患率は全世界で人口の約1%とされている。しかしながらその病因は未だ解明されておらず、環境因子と複数の遺伝子に支配される疾患であると推測されている。インターロイキン-1 (IL-1)は炎症性サイトカインのひとつであるが、末梢だけでなく、脳内にもそのリガンドと受容体の存在が知られている。脳内 IL-1 はドーパミンやセロトニンなどの代謝の制御など脳神経活動にも影響を与えることから、IL-1 と精神疾患との関わりが議論されている。実際、哺乳齢期に IL-1 $\alpha$  を末梢に慢性投与されたラットはその成長後に知覚フィルター機能を反映するプレパルスインヒビション (PPI) の障害など、種々の認知・行動異常を示すので、統合失調症のモデル動物として利用されている。そこで本研究では、IL-1 $\alpha$  投与によって誘導される行動異常が遺伝的背景によってどのような影響を受けるかをマウスで調べた。異なる遺伝的背景を持つマウス系統 (C3H/He, DBA/2, C57BL/6, BALB/c, ddY) を用いて異種マウス間の IL-1 反応性の差を検討した。

##### 〈材料と方法〉

動物は生後2日の各系統マウス (C3H/He, DBA/2, C57BL/6, BALB/c, ddY) を母親とともに購入した。これらの動物はヒト組み換え IL-1 $\alpha$  (0.1mg/kg 体重) を生後2-10日の間皮下に連投し、成長過程を追って行動発達の評価 (運動量、驚愕強度および PPI) をした。また、哺乳2日齢で IL-1 を急性投与、および生後2-10日間の慢性投与を行い、脳内での下流 IL-1 シグナル経路の活性化をウエスタンブロットおよび ELISA 法により測定比較した。

#### 〈結果〉

新生仔期の IL-1 $\alpha$  投与は系統依存的な認知・行動変化を成長時に示した。IL-1 $\alpha$  投与により、DBA/2, C57BL/6 系統のマウスでは PPI の低下を示したが、C3H/He, ddY 系統のマウスでは変化がみられなかった。強い音刺激を与えたときの驚愕反応では DBA/2 系統で強度が増大していたが、対照的に C3H/He 系統ではその減少がみられた。さらに DBA/2 系統では IL-1 投与群の自発運動量が上昇していた。このように IL-1 投与により DBA/2 系統は最も顕著な行動変化を示したのに対し、ddY 系統はまったく変化が見られなかった。また、生後 2 日齢で IL-1 を急性投与し、IL-1 シグナル経路の活性化をウエスタンブロットおよび ELISA 法によって測定比較した。IL-1 は主に Nuclear Factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) と p38 Mitogen-Activated protein (MAP) キナーゼの 2 つの経路を活性化することが知られている。そこで各系統の新生仔マウスに IL-1 を生後 2 日に急性投与し、脳内の Inhibitory Factor- $\kappa$ B (I- $\kappa$ B) の分解と p38 MAP キナーゼのリン酸化を測定した。前頭葉においては DBA/2 系統が、視床下部では C3H/He 系統において最も顕著な I- $\kappa$ B の分解がみられた。p38MAP キナーゼのリン酸化も DBA/2 系統で最も顕著であった。さらに末梢臓器での IL-1 感受性を調べるため、炎症のマーカである血清アミロイド A (SAA) の濃度を測定した。SAA の誘導は行動変化の系統間パターンと一致せず、ddY 系統で最も高い誘導が観察された。また、生後での慢性投与後に脳内マイクログリアの活性化をそのマーカである Iba1 のウエスタンブロットで測定した。Iba1 の発現誘導量も同様に行動変化パターンと一致せず、認知行動変化がもっとも顕著であった DBA/2 系統では際立ってはいなかった。身体的な変化も、行動パターンと一致するような結果は得られなかった。新生動物への IL-1 皮下投与は門歯露出、眼瞼開裂を促進することが知られているが、この門歯露出、眼瞼開裂の促進および体重増加率の抑制は C3H/He 系統で最も顕著であった。

#### 〈考察〉

本研究により、生後発達時における IL-1 投与が成長後に認知・行動変化を引き起こし、その影響度合いはマウス系統に依存していることが明らかになった。なかでも DBA/2 系統は最も著明な行動異常を示し、このマウス脳で著しい p38MAP キナーゼのリン酸化や前頭葉での I- $\kappa$ B の分解を引き起こした。しかし、この DBA/2 系統の末梢炎症反応性は他の系統に比べ比較的弱い。IL-1 の新生仔投与による行動変化には、末梢よりもむしろ、脳内での IL-1 感受性が認知・行動変化に関与していると考えられる。この実験結果は、実際に統合失調症の発症に遺伝的な関与があるのではないかという仮説と矛盾しない。今後、実際に脳内でどのような IL-1 シグナル路が行動異常をもたらすのかを研究にすることにより、統合失調症の病因の解明につながることを期待したい。

(論文審査の要旨)

統合失調症の発症は、環境因子と複数の遺伝子に支配される疾患であると推測されている。最近のモデル研究や遺伝解析により炎症媒介分子、インターロイキン1 (IL-1)との関わりが議論されている。実際、哺乳齢期に IL-1 $\alpha$  を末梢に投与されたラットは、成長後に種々の認知・行動異常を示す。本研究では、IL-1 $\alpha$  投与誘発性の行動異常が動物の遺伝的背景によってどのような影響を受けるかを、4種類のマウス系統 (C3H/He、DBA/2、C57BL/6、BALB/c、ddY) を使って調べている。哺乳齢期の IL-1 $\alpha$  皮下投与は、DBA/2、C57BL/6 系統のマウスでプレパルスインヒビション (PPI) の低下を示し、C3H/He、ddY 系統では変化を示さなかった。新奇探索運動量、音驚愕反応、学習能などの行動指標に対する IL-1 $\alpha$  の影響も、マウス系統に依存して異なることを観察している。なかでも DBA/2 系統は IL-1 $\alpha$  投与により最も著明な行動異常を示し、このマウスにおける IL-1 $\alpha$  依存的な脳内 p38MAP キナーゼリン酸化や I- $\kappa$ B の分解の亢進レベルの高さとの合致を見ている。このように申請者は IL-1 への反応性が、その脳内炎症シグナル強度のみならず行動変化率において、顕著なマウス系統間差を示すことを明らかにしている。したがって本論文は哺乳類の認知行動発達に対して、環境 (炎症) と遺伝間の相互作用が重要な影響を發揮している可能性を示したものであり、その点に学位論文としての価値を認める。