

学 位 論 文 要 旨

氏 名 岡 野 拓

題 目 ラットの lipopolysaccharide 誘発脳発達障害に対する α -glycosyl isoquercitrin の修飾効果に関する研究

(Studies on the modifying effect of alpha-glycosyl isoquercitrin on lipopolysaccharide-induced brain developmental defects in rats.)

周産期の感染症は母体、胎児、新生児の酸化ストレス反応を伴う神経炎症を誘導し、これは自閉症スペクトラム障害 (ASD) などの脳発達障害の危険因子である。発達期のラットにおける、炎症誘導物質であるリポポリサッカリド (LPS) 曝露による免疫活性化は、ASD 様行動を誘導し、神経新生障害やオリゴデンドロサイト (OL) 新生障害を引き起こすが、発達期での免疫活性化の時期による細胞標的性と成熟していく脳への影響の関連性は不明なままである。本研究ではこの関連性を明らかにする目的で、LPS を胎生期と新生児期の異なる曝露時期に投与した際の海馬神経新生障害と OL 新生障害に対する標的性と行動への影響を検討した。また、抗酸化剤で抗炎症作用を有する α グリコシルイソクエルシトリン (AGIQ) を LPS 投与前から継続的に投与してその修飾効果を解析することで、各障害についてそのメカニズムと炎症や酸化ストレス反応の関連性を検討した。

第1章では新生児期 LPS 投与実験として 1 mg/kg LPS を生後3日目のラットに腹腔内投与し、LPS 投与前から 0.5% (w/w) AGIQ を母動物に、離乳後は児動物に継続して混餌投与した。その結果、生後6日目の海馬で、LPS 投与により炎症性ミクログリアが増数し、炎症性サイトカイン遺伝子の発現が増加し、大脳マロンジアルデヒド量が増加した。また、生後10日目に超音波発声が減少したことから、LPS 投与後早期に炎症と酸化ストレスが誘導され、コミュニケーション障害を起こすことが示唆された。一方、離乳期までに抗炎症応答もみられた。LPS は離乳期の海馬顆粒細胞系譜の後期分化段階を標的とした神経新生を阻害し、春機発動期には社会的相互作用指標と恐怖記憶の獲得過程を抑制した。成体期では、後期分化段階を標的とした神経新生障害と恐怖記憶の獲得過程の学習障害は持続し、恐怖記憶の消去過程についても抑制された。AGIQ は炎症と酸化ストレス反応、神経新生と各行動指標の影響をほぼ改善した。以上より、新生児期 LPS 投与は急性かつ一過性の神経炎症と酸化ストレス反応を誘導し、海馬の神経新生を進行性に抑制するとともに、ASD 様異常行動を誘導する可能性が示唆された。AGIQ は炎症反応と酸化ストレスを確実に抑制し、その後の進行性変化を改善したことから、新生児期 LPS 投与による海馬神経新生や神経行動への影響は、投与後早期の炎症反応と酸化ストレスに起因するものであると考えられた。

第2章では胎生期 LPS 曝露実験として 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ LPS を妊娠 15, 16 日目のラットに腹腔内投与し, LPS 投与前から 0.5% (w/w) AGIQ を母動物に離乳時まで, 離乳後は児動物に継続混餌投与した。LPS を曝露された児動物は, 生後においては脳における神経炎症及び酸化ストレス反応を示さなかった。また, 生後 21 日目から生後 77 日目にかけて主に顆粒細胞系譜の初期段階を標的とした海馬神経新生障害とシナプス可塑性の抑制が進行性に生じた。成体期には運動活性の抑制と恐怖記憶の獲得と消去過程の学習障害がみられた。これには GABA あるいはグルタミン酸作動性の神経伝達物質シグナル及び BDNF/TrkB シグナルの抑制が関与した可能性が示唆された。AGIQ は LPS による影響をほぼ改善したことから, 胎生期の LPS 曝露後早期の免疫活性化が正常な神経発達を障害し, 生後にみられる影響を誘導したと考えられた。また, AGIQ の成体期までの継続投与により GAD67 を介した神経保護作用を示した可能性も示唆された。

第3章では, 第1章と第2章のサンプルを用いて海馬歯状回門における OL 分化に対する LPS の発達期での曝露ウインドウの違いによる影響の差異と AGIQ の修飾効果を検討した。新生児期での LPS 曝露は, 生後 6 日目での未熟～成熟 OL の減数と, 生後 6 日目と離乳時でのアストロサイトの増数を誘導したが, その原因として, 神経炎症に応答したオリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) のアストロサイトへ分化促進が考えられた。離乳時には生後 6 日目の *Il1b* の発現増加に起因すると考えられる OPC 数の減少がみられた。また, OL の分化促進因子である KLOTHO の発現抑制と成熟 OL の減数がみられた。これに対して胎生期 LPS 曝露は, 離乳期までの OPC 数の減少を誘導し, これは生後早期の前および未成熟 OL の増加を示唆するものであった。いずれの LPS 曝露ウインドウにおいても成体期までに自発性の回復がみられ, AGIQ 投与は LPS による OPC/OL に対する影響をほぼ改善したことから, LPS による炎症反応が発達期の OPC/OL 分化過程を可逆的に障害することが示唆された。

本研究により, 胎生期と新生児期の異なる時期の LPS 曝露による神経新生障害と OL 新生障害の標的性の違いが見出されたが, これは発達期 LPS の異なる曝露ウインドウでの標的となる各細胞の発生・分化過程の違いを反映した可能性が示唆された。行動障害の発現には海馬の神経新生障害とシナプス可塑性の抑制の関与が示唆されたが, 詳細なメカニズムを明らかにするためには, 他の関連脳領域での検討も必要であると考えられた。AGIQ は抗酸化, 抗炎症作用により, 発達期の炎症に起因した脳発達障害に対し予防効果を発揮するとともに神経新生障害に対する保護効果を示した。本研究からヒトにおける母体、新生児の過剰な免疫活性化とそれに起因する脳発達障害疾患の予防には AGIQ の投与が有用であると考えられ, 今後のさらなる研究が望まれる。

(備考) 1 学位論文題目が日本語の場合は英訳を、英語の場合は和訳を () 内に記入すること。(英語の表記は、論文目録と同じ。)