

統合失調症と大脳皮質 GABA 神経伝達異常

橋本 隆紀^{1,2)}, 松原 拓郎¹⁾, David A. Lewis^{2,3)}Takanori Hashimoto, Takuro Matsubara, David A. Lewis :
Schizophrenia and Cortical GABA Neurotransmission

統合失調症の大脳皮質では、死後脳研究により、介在ニューロンによる GABA 伝達の変化を示す所見が集積している。介在ニューロンには、形態学および機能的に極めて多様な種類が存在するが、それらはマーカー分子の発現と投射の様式を指標に、いくつかのグループに大別される。そのうちの1つ、介在ニューロンの約 1/4 を占めるのが、カルシウム結合タンパク質 parvalbumin (PV) を発現するニューロン (PV ニューロン) である。統合失調症では、PV ニューロンにおいて、そのマーカーである PV mRNA の発現低下とともに、GABA 合成酵素 GAD67 および GABA トランスポーター GAT1 をコードする mRNA の発現低下が認められる。また、PV ニューロンが形成するシナプスでは、GABA-A 受容体 $\alpha 2$ サブユニットの発現が増加している。これらの変化は PV ニューロンによる GABA 伝達の障害とそれに対する代償を反映していると考えられる。一方、神経ペプチド somatostatin (SST) を発現するニューロン (SST ニューロン) は、PV ニューロンとは別の 1/4 に相当する。SST ニューロンでも SST mRNA の発現低下が認められ、さらに GAD67 mRNA の発現低下が示唆されている。すなわち、SST ニューロンによる GABA 伝達にも障害がある可能性が高い。さらに、統合失調症では、大脳皮質の GABA シナプスにおける最も普遍的な GABA 受容体の構成要素である $\alpha 1$ および $\gamma 2$ サブユニット、シナプス外受容体を構成する δ サブユニットなどの mRNA の発現が低下している。

このような GABA 伝達の変化は、作業記憶の中核である前頭前野をはじめ、前帯状回、1 次運動野、1 次視覚野などの広汎な皮質領域に存在する。PV ニューロンや SST ニューロンによる GABA 伝達は、 γ および θ 帯域における周期的皮質活動 (オシレーション) を形成し、皮質情報処理に極めて重要な役割を持つ。統合失調症では γ および θ オシレーションの低下が前頭葉をはじめとした様々な領域で報告されている。PV ニューロンや SST ニューロンによる GABA 伝達の異常は、皮質神経回路におけるオシレーション形成の障害をもたらす。統合失調症で認められる認知機能、情動機能、運動調節、知覚処理などのさまざまな高次機能の低下に寄与していると考えられる。

<索引用語：死後脳、介在ニューロン、作業記憶、parvalbumin, somatostatin, GAD67, GABA-A 受容体>

1. はじめに

脳内の神経細胞 (ニューロン) は、シナプス伝達を介し、神経回路を形成する。軸索の末端で

るシナプス前終末から放出された神経伝達物質は、シナプス後膜の受容体に結合し、シナプス電位を発生させる。シナプス電位には、膜電位を脱分極

著者所属：1) 金沢大学脳情報病態学 (精神医学), Department of Psychiatry and Neurobiology, Kanazawa University School of Medical Science

2) Department of Psychiatry, University of Pittsburgh

3) Department of Neuroscience, University of Pittsburgh

編 注：編集委員会からの依頼による総説論文である。

方向へシフトさせる興奮性と過分極方向へシフトさせる抑制性がある。興奮性シナプス電位を発生させる代表的伝達物質がグルタミン酸であり、抑制性シナプス電位を発生させる代表的伝達物質がガンマアミノ酪酸 (GABA) である。あるニューロンにおいて興奮性シナプス電位が積算され閾値を超えると活動電位が発生 (発火) する。活動電位は、そのニューロンの軸索を伝わり、そのシナプス前終末から伝達物質を放出し、次のニューロンにシナプス電位を発生させる。そして、抑制性シナプス電位は、興奮性シナプス電位の影響をキャンセルする方向に働く。

大脳皮質領域の神経回路は、グルタミン酸を興奮性伝達物質として用い、脳内の離れた領域へ軸索投射をする錐体ニューロンと、近隣のニューロンへ GABA を介した抑制性シナプスを形成する介在ニューロンによって構成される。

近年、神経科学や分子生物学の飛躍的な進歩を取り入れた死後脳組織の解析が盛んに行われているが、これらの研究により、統合失調症の大脳皮質では、介在ニューロンによる GABA を介した神経伝達の変化を示す所見が相次いで報告されている。統合失調症の病態生理については、ドーパミン仮説や NMDA 受容体機能障害仮説などが取り上げられることが多いが、これらの変化を示す再現性のある死後脳所見は、極めて少ない。一方、GABA 伝達を担う様々な機能分子の発現変化は、独立した脳バンクを用いた多くの研究により再現されている²³⁾。最近では、死後脳研究のみならず、機能的脳画像研究からも、大脳皮質 GABA 伝達の変化を支持する所見が報告され、GABA 伝達を標的にした薬理学的介入の試みも始まっている。

本総説では、統合失調症における大脳皮質 GABA 伝達の変化を示す死後脳所見について系統的に紹介し、病態生理としての意味について考察する。

2. 統合失調症の認知機能低下と 前頭前野介在ニューロン

統合失調症は、各種の知覚、記憶そして情動な

ど広汎な認知機能の低下を引き起こす。統合失調症における認知障害のなかでも代表的なものが作業記憶と呼ばれる情報を一時的に保持し思考や行動に役立てる機能の低下である^{13,39)}。作業記憶には、大脳皮質の背外側前頭前野 (以後、前頭前野と略記) が重要な役割を持つ¹⁴⁾。他の大脳皮質領域と同様に、前頭前野の神経回路もグルタミン酸作動性の錐体ニューロンと GABA 作動性の介在ニューロンによって構成される。サルを用いた神経生理学的研究により、作業記憶において保持される情報は、前頭前野や関連する皮質領域における錐体ニューロンの持続的発火によってコードされることが示されてきた。一方で、作業記憶には、介在ニューロンも不可欠であることが示されている。例えば、前頭前野における GABA 伝達の薬理的遮断により、作業記憶課題を行う能力が低下するとともに錐体ニューロンによる情報のコード化が損なわれる^{29,30)}。また、介在ニューロンは、作業記憶のための錐体ニューロン活動のタイミングを規定することも示されている⁸⁾。すなわち、介在ニューロンによる GABA 伝達は錐体ニューロンの活動を調節することで、作業記憶における情報処理を支えている。

ところで、介在ニューロンにおいて GABA の合成を行うグルタミン酸脱炭酸酵素 (glutamic acid decarboxylase, GAD) には、分子量が 67 kDa (GAD67) と 65 kDa (GAD65) の 2 種類がある。両者は、正常の大脳皮質では、すべての介在ニューロンに発現する。Akbarian らは、統合失調症の前頭前野で、GAD67 mRNA を発現する細胞の数が減っていること、しかし介在ニューロンの数そのものには変化がないことを報告し、一部の介在ニューロンにおいて GAD67 の発現が検出限界以下に低下していることを示唆した¹⁾。GAD67 の発現の減少は、タンパク質レベルでも、再現されている^{9,15)}。Volk らは、細胞レベルの解析を行い、大脳皮質の 1 層から 5 層にかけて GAD67 mRNA を発現する細胞数が 25 % ほど減少していること、GAD67 の発現が検出される細胞では、細胞当たりの発現量は正常レベルにある

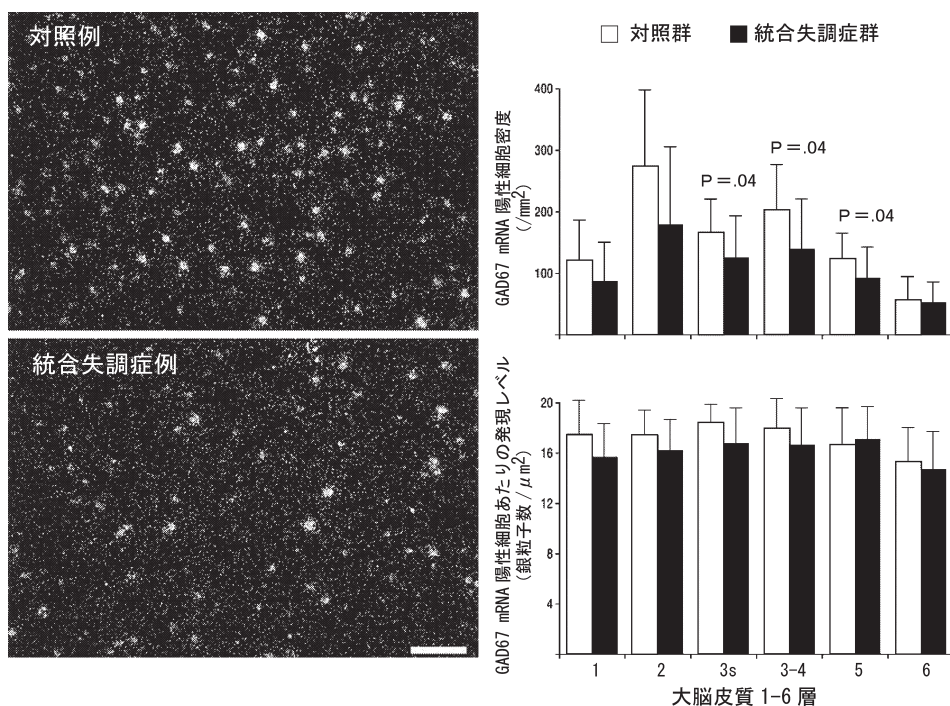


図1 統合失調症の前頭前野における GAD67 mRNA 陽性細胞の減少 (文献 36 より改変)
 左：GAD67 mRNA を発現する細胞は、*in situ* hybridization 法により銀粒子の集積として検出される。対照例（上）では、GAD67 mRNA 陽性ニューロンが多数認められるのに対し、性別・年齢・死後経過時間がマッチした統合失調症例（下）では減少している。
 右：大脳皮質各層における GAD67 mRNA 陽性ニューロンの数（密度，上のグラフ）および陽性細胞あたりの GAD67 mRNA の発現レベル（下）。発現量は、陽性ニューロンあたりの銀粒子数として計測される。統合失調症では、皮質 2～5 層にかけて、GAD67 mRNA 陽性ニューロンの減少が認められる。一方で、どの層においても、陽性ニューロン 1 つあたりの GAD67 mRNA の発現レベルには変化がない。

ことを示した³⁶⁾ (図 1)。これらの結果は、統合失調症の前頭前野では、介在ニューロンの一部において GABA の合成が低下し、GABA 伝達が障害されていることを示す。さらに、介在ニューロンの一部にのみ選択的な発現の低下は、放出された GABA の再取り込みを行う GABA トランスポーター (GABA transporter 1, GAT1) mRNA についても認められ、同じ介在ニューロンにおいて GAD67 および GAT1 mRNA の発現が低下していることが示唆された³⁵⁾。それでは、大脳皮質の介在ニューロンにはどのようなものがあり、統合失調症では、どのような介在ニューロンによる GABA 伝達に変化が存在するのか？

3. 大脳皮質介在ニューロンの種類

霊長類の大脳皮質には、形態学的に 13 種以上の介在ニューロンが存在する²⁴⁾ が、それらは大きく 3 つのグループに分けることができる^{20,25)} (図 2)。第 1 のグループ (PV) は、カルシウム結合タンパク質である parvalbumin (PV) を発現する。これらは、錐体ニューロン (P) の細胞体周囲へ抑制性のシナプスを形成する。細胞体周囲へのシナプス入力、錐体ニューロンの活動電位が生じる軸索始起部の膜電位へ強力な影響を及ぼすので、PV ニューロンは錐体ニューロンの発火のタイミングを制御すると考えられる。第 2 のグループ (SST) は、神経ペプチドである

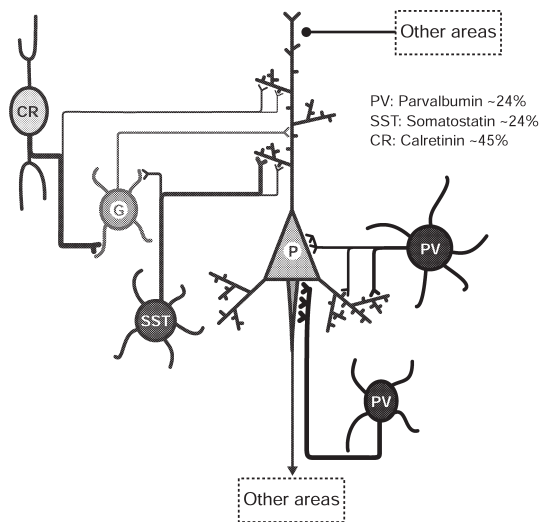


図2 大脳皮質における介在ニューロンの種類
カルシウム結合タンパク質 parvalbumin を発現するニューロン (PV) は、錐体ニューロン (P) の細胞体周囲に抑制性シナプスを形成し、全介在ニューロンの 25 % を占める。一方、神経ペプチド somatostatin を発現するニューロン (SST) は、錐体ニューロンの樹状突起に抑制性シナプスを形成し、全介在ニューロンの 25 % を占める。全介在ニューロンの半数を占める calretinin 発現ニューロン (CR) は、他の介在ニューロン (G) にシナプスを形成する。

somatostatin (SST) を発現する。SST ニューロンは、錐体ニューロンの樹状突起の末端部に抑制性のシナプスを形成する。錐体ニューロンの樹状突起末端部には、他領域からの投射ニューロンが興奮性シナプスを形成する。SST ニューロンによる GABA 伝達は、これらのシナプスにおける興奮性シナプス電位をキャンセルすることで、他領域からの入力を選択性を調節していると考えられる。SST ニューロンの多くは、神経ペプチド neuropeptide Y (NPY) も発現する。第3のグループ (CR) は、カルシウム結合タンパク質 calretinin (CR) を発現する。これらは他の介在ニューロン (G) へ抑制性のシナプスを形成する。介在ニューロンの多くは、錐体ニューロンに抑制性シナプスを形成するので、CR ニューロンは錐体ニューロンの脱抑制を行っていると考えられる。PV ニューロンおよび SST ニューロンは、大脳

皮質介在ニューロンのそれぞれ約 1/4 に相当し、CR ニューロンは、介在ニューロンの約半分を占める。

4. PV ニューロンの変化

統合失調症の前頭前野において、その GABA 伝達に変化をきたしている介在ニューロンを同定するために、介在ニューロングループの特異的マーカー分子のうち、まず PV と CR の発現解析が、統合失調症例と性別・年齢・死後経過時間がほぼ同じである健常対照例からなるペアを用いて行われた¹⁹⁾。対照例では、*in situ* hybridization (ISH) 法により、PV mRNA は主に 3~4 層を中心とした中間層に、CR mRNA は 2~3 層を中心とした表層に検出され (図3)、これは PV ニューロンおよび CR ニューロンの大脳皮質における分布と一致する。この mRNA の発現を各層にて定量し、健常対照例と統合失調症例の間で比較したところ、統合失調症では、1) PV mRNA の発現がその分布パターンを保ったまま皮質 3~4 層で有意に減少していること、2) CR mRNA の発現には、どの層においても変化が認められないことが明らかになった (図3)。ところで、各ペアにおける PV mRNA の発現低下と、GAD67 mRNA の発現低下の間には極めて強い相関 ($r=0.84$, $P<0.001$) が認められ、PV ニューロンにおいて GAD67 mRNA の発現が低下していることが強く示唆された。さらに、PV mRNA と GAD67 mRNA の同時検出を試みたところ、対照群ではほぼすべての PV ニューロンが GAD67 mRNA シグナルを有するのに対し、統合失調症群では PV ニューロンの約半数において GAD67 mRNA のシグナルが検出されないことが判明した¹⁹⁾。

PV ニューロンによる GABA 伝達の障害を示す死後脳所見は、PV mRNA や GAD67 mRNA の発現低下だけではない。GABA 伝達は、介在ニューロンのシナプス前終末から放出された GABA が、シナプス後膜の GABA-A 受容体に結合し、シナプス後ニューロンに抑制性シナプス

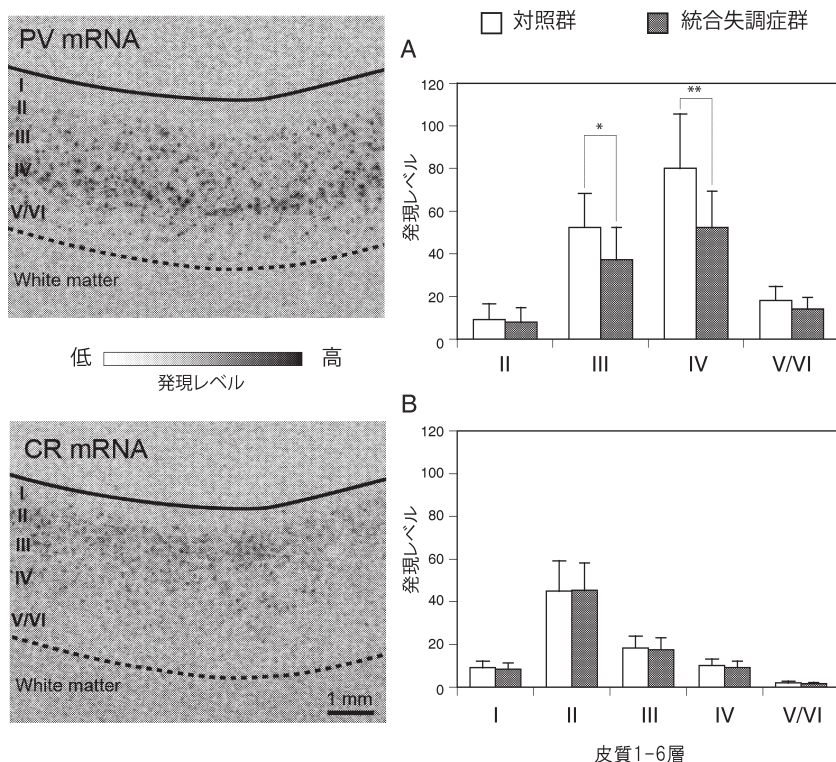


図3 前頭前野皮質における PV mRNA および CR mRNA の発現と統合失調症における変化 (文献 19 より改変)

左：健常対照例の前頭前野における PV mRNA (上) および CR mRNA (下) の発現。PV mRNA は中間層 (3・4 層) に、CR mRNA は表層 (2 層および 3 層の表層) に発現している。皮質の各層の位置は、右のローマ数字により示される。点線は、灰白質と白質の境界を示す。

右：各層における mRNA 発現の比較。PV mRNA (上) の発現は、皮質 3・4 層において、統合失調症群で有意に低下していたのに対し、CR mRNA (下) の発現には、どの層においても変化がなかった。

電位を発生させることで担われる。シナプス間隙に放出された GABA は、介在ニューロンのシナプス前終末に発現する GAT1 により軸索終末へ再び取り込まれる。統合失調症では、PV ニューロンの一種であるシャンデリア細胞のシナプス前終末における GAT1 の発現低下²⁷⁾、さらにシャンデリア細胞のシナプスを受ける錐体ニューロン軸索起始部における GABA-A 受容体 $\alpha 2$ サブユニットの発現増加などの所見が得られている³⁸⁾ (図 4)。GAT1 の PV ニューロンのシナプス前終末における発現低下は、PV ニューロンにおける

GAT1 mRNA の発現低下に対応した所見と考えられる。GAT1 の発現低下はシナプス間隙における有効 GABA 濃度を上昇させ、シナプス後膜における受容体の発現増加は GABA に対する感受性を高める効果がある。すなわち、これらの変化は、GAD67 の発現欠損による PV ニューロンからの GABA 放出の低下に対する代償過程を反映すると考えられる³⁷⁾。

5. SST ニューロンの変化

統合失調症の前頭前野での GAD67 陽性ニュー

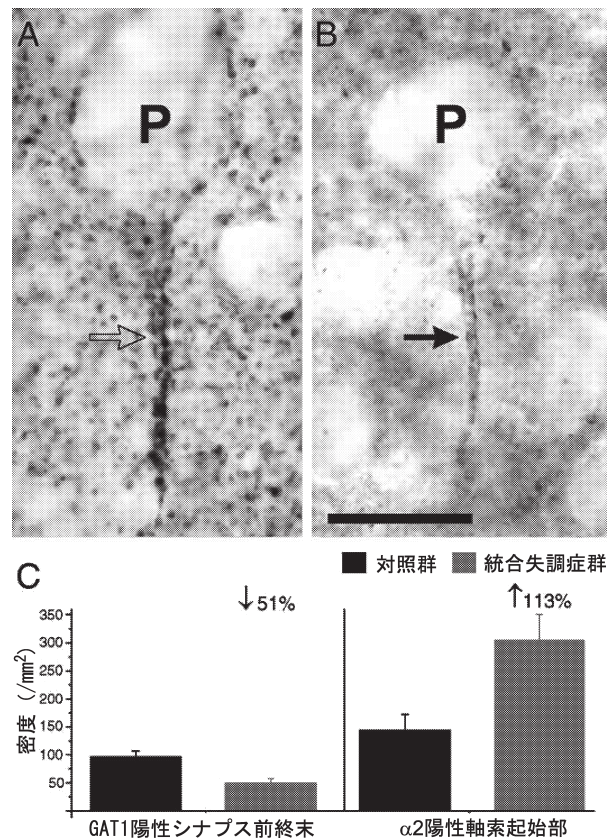


図4 parvalbumin (PV) 陽性介在ニューロンに属するシャンデリア細胞により、錐体ニューロンの軸索起始部に作られる抑制性シナプスの変化 (前頭前野) (文献 37 より)

- A: 錐体ニューロンの細胞体 (P) から軸索突起が伸びている。その起始部にシャンデリア細胞は、Axon Cartridge と呼ばれる抑制性シナプスを形成する。写真では、PV ニューロンによるシナプス前終末に発現する GABA トランスポーター (GAT-1) が免疫組織化学的に検出されている (白抜きの矢印)。
- B: シャンデリア細胞によるシナプスを受ける錐体ニューロンの軸索起始部での GABA-A 受容体 $\alpha 2$ サブユニットの発現。
- C: GAT-1 陽性 PV ニューロンシナプス前終末の密度は、統合失調症で約半分に減少し、 $\alpha 2$ サブユニット陽性の錐体ニューロン軸索起始部の密度は、約 2 倍に増加している。スケール (A, B) は、20 μm 。

ロンの減少 (GAD67 mRNA が検出限界以下に低下したことによる) は、PV ニューロンが分布する大脳皮質の 3~4 層において顕著であり (図 1 と図 3)、PV ニューロンにおける GAD67 の発現欠損とつじつまが合う。しかしながら、

GAD67 陽性ニューロンの減少は、3~4 層だけではなく、2~5 層まで幅広く認められる (図 1)。すなわち、統合失調症において認められる GAD67 陽性ニューロンの減少は、PV ニューロンのみでは説明できない。そこで、PV ニューロ

表1 DNA マイクロアレイにより検出された GABA 伝達を担う機能分子の発現変化

遺伝子	ALR	% change	P
somatostatin (SST)	-0.665	-37.0	0.028
GABA A receptor, alpha 1 (GABA _A α 1)	-0.521	-30.3	0.003
GABA A receptor, delta (GABA _A δ)	-0.512	-29.9	0.026
neuropeptide Y (NPY)	-0.462	-27.4	0.028
cholecystokinin (CCK)	-0.462	-27.4	0.007
membrane GABA transporter 1 (GAT 1)	-0.458	-27.2	0.011
glutamate decarboxylase 1 67kDa (GAD ₆₇)	-0.411	-24.8	0.006
GABA A receptor, gamma 2 (GABA _A γ 2)	-0.387	-23.5	0.029
GABA A receptor, alpha 4 (GABA _A α 4)	-0.317	-19.7	0.039
GABA A receptor, beta 3 (GABA _A β 3)	-0.312	-19.5	0.026

統合失調症の前頭前野において発現が低下している GABA 関連遺伝子の発現変化の度合い (ALR=Average Log Ratio: 統合失調症例/健常対照例の比を自然対数変換した値, % change: 健常対照例からの変化率) を, student t-test による P 値とともに表示した。

ン以外の介在ニューロンの変化を調べるために、介在ニューロンのマーカー分子の発現が、他の GABA 伝達を担う様々な分子とともに、DNA マイクロアレイにより系統的に調べられた¹⁶⁾。この解析では、これまでも繰り返し報告されてきた GAD67 mRNA や GAT1 mRNA の発現の減少が再現されたほか、SST、NPY などの神経ペプチドをコードする mRNA の発現低下が検出され (表1), real-time PCR や ISH 法など別の方法でも確認された (図5)。興味深いことに、SST mRNA と NPY mRNA の発現変化にはきわめて強い相関 ($r=0.81$, $P<0.001$) が認められ、さらに、それぞれの神経ペプチド mRNA 発現の変化と GAD67 mRNA 発現の変化には、多重検定補正後も有意である強い相関が認められた (SST - GAD67: $r=0.71$, $P<0.005$, NPY - GAD67: $r=0.72$, $P<0.004$)。このような相関は、SST、NPY、GAD67 の mRNA が SST ニューロンにおいて低下していることを示唆する所見といえる。SST の発現パターン (図5) からわかるように、SST ニューロンは、大脳皮質2層そして5/6層に多く分布するので、これらのニューロンにおける GAD67 の発現欠損は、PV ニューロンでは説明のつかない2層および5層における GAD67 陽性ニューロンの減少に対応していると考えられる。ちなみに、SST mRNA 発現

の皮質各層ごとの解析では、統合失調症における変化は、2層と3層上部を含む表層および5層を含む深層にて最も著しかった²⁶⁾。

6. GABA-A 受容体の変化

統合失調症の前頭前野では、GABA-A 受容体の変化も認められる。GABA-A 受容体は、Cl⁻ イオンチャンネルを形作る5つのサブユニットから構成される。サブユニットには、 α (1-6)、 β (1-3)、 γ (1-2)、 δ などがあり、受容体チャンネルは2つの α 、2つの β 、そして1つの γ あるいは δ サブユニットにより構成される。すでに述べたように、錐体ニューロンの軸索起始部では、PV ニューロンによる GABA 伝達低下に対する代償と解釈できる $\alpha 2$ サブユニットの発現増加が認められ、 $\alpha 2$ サブユニットを含む GABA-A 受容体の増加があることがうかがわれる。GABA-A 受容体に対する放射性リガンド結合を調べた研究においても、PV ニューロンからの抑制性シナプスを多く受ける錐体ニューロンの細胞体周囲で、代償性と考えられる GABA-A 受容体の増加が示唆されている⁴⁾。

一方、我々が行った DNA マイクロアレイによる GABA 伝達関連分子の系統的な発現解析では、大脳皮質に最も多い GABA-A 受容体を構成する $\alpha 1$ や $\gamma 2$ サブユニットなどに加え、 $\alpha 4$ や δ サブ

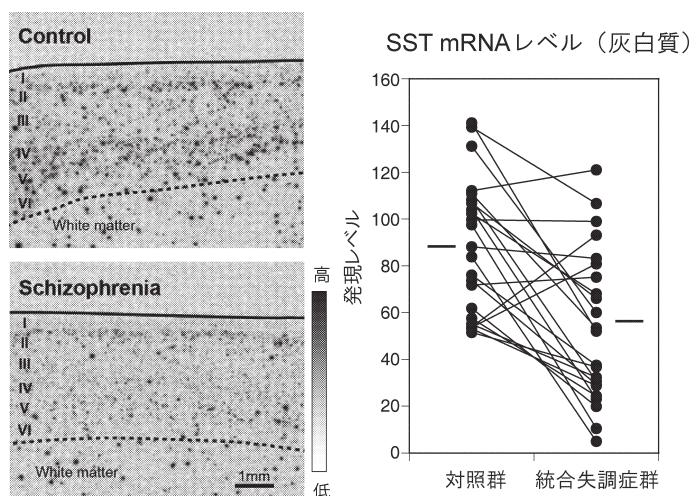


図5 前頭前野における神経ペプチド somatostatin mRNA の発現変化 (文献 16 より改変)

対照例 (Control) の前頭前野皮質では (左上), SST mRNA は, 2 層, 3 層の上部, そして 4~5 層に強い発現が認められる。皮質における, 統合失調症例 (左下) で低下していた。右のグラフは 23 ペアにおける発現の比較の結果を示す。

ユニットなどの mRNA の発現レベルに有意な低下が認められ (表 1), PCR や ISH 法などの方法でも確認された¹⁶⁾。α1 および γ2 サブユニットは, シナプスにおける受容体を構成し, シナプスに放出された GABA による抑制性伝達を担う。一方, δ サブユニットは, シナプスが形成されていない細胞膜上に存在する受容体を構成する。シナプス外 GABA-A 受容体は, 細胞外液に含まれる低濃度の GABA により持続的に活性化される。細胞外液に定常的に存在する GABA (シナプス間隙から漏れ出てきたもの) は, シナプス外の GABA-A 受容体を介して, ニューロンの興奮性を調節している¹¹⁾。統合失調症の前頭前野では, PV ニューロンによって作られるシナプス以外の部位でも, シナプスおよびシナプス外の GABA 伝達に, 変化が生じている可能性が高い。しかし, これらの所見と介在ニューロンにおける GAD67 や GAT1 の発現低下との関係は, 現在のところ不明である。

7. 前頭前野以外の皮質領域における GABA 伝達関連分子の発現変化

統合失調症においては, 前頭前野に依存する作業記憶のみならず, 情動, 運動, 視覚情報処理などの様々な高次脳機能の低下が知られており, 一方でこれらの機能を担う各種の皮質領域の変化が脳画像研究により報告されている^{5,6,33)}。そこで, PV ニューロンや SST ニューロンにおける選択的な変化や GABA-A 受容体の変化は, 前頭前野のみに限局するのか, あるいは, 他の皮質領域にも存在し, それらの機能障害に寄与しているのかという疑問が生じる。これに答えるために, 我々は, 前頭前野 (9 野), 前帯状回 (24 野), 運動野 (4 野), 視覚野 (17 野) の複数領域において, 前頭前野における GABA 伝達の変化を反映する分子 (GAD67, GAD65, GAT1, PV, SST, CR, GABA-A 受容体 α1 サブユニット, δ サブユニット) の遺伝子発現解析を real-time PCR 法を用いて行った¹⁷⁾。その結果, GAD67, GAT1, PV, SST, α1 および δ サブユニットの発現低下は,

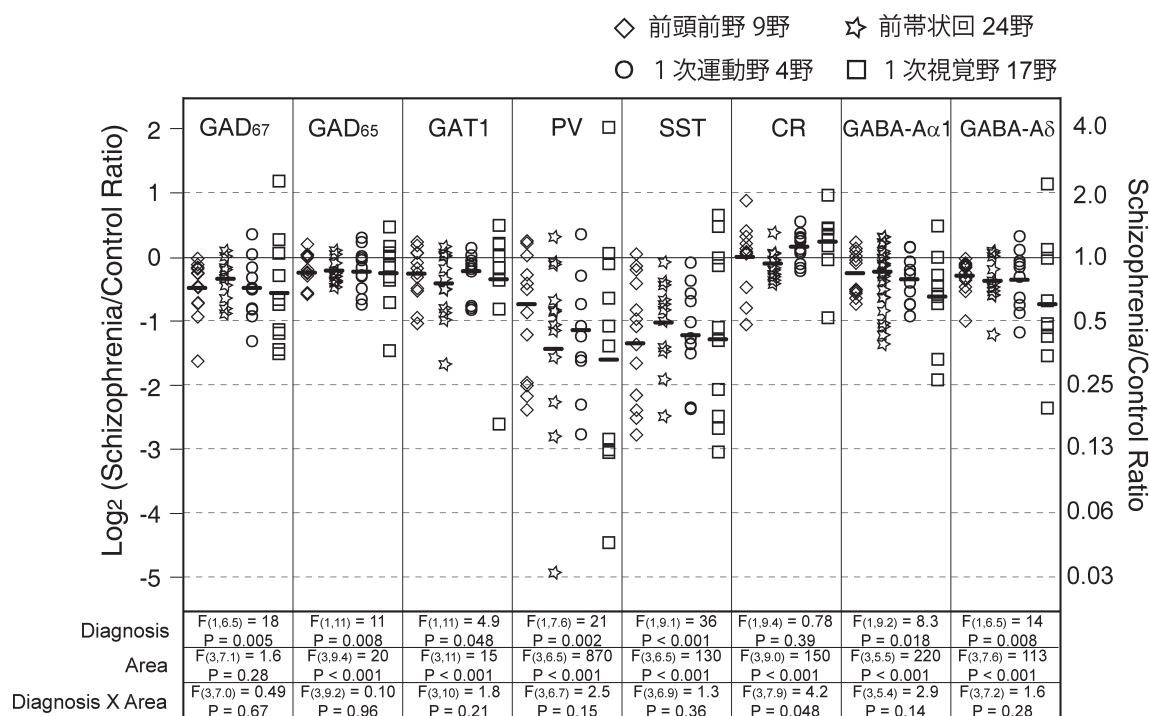


図6 統合失調症の大脳皮質多領域におけるGABA伝達関連遺伝子のreal-time PCRによる発現評価（文献17より改変）
統合失調症例と性別、年齢、死後経過時間がマッチした健常対照例から成るペアごとに、統合失調症例の発現レベルの対照例の発現レベルに対する比を $\log_2$ 変換した値として表示。右縦軸に、対応する統合失調症例と健常対照例の発現レベルの比を示す。 $\log_2$ （統合失調症例/対照例の発現比）が0の場合、統合失調症例と健常対照例の発現量は等しい（発現レベルの比は1）。 $\log_2$ （発現比）が-1の場合、統合失調症例は健常対照例の半分の発現量である（比は0.5）。反対に、 $\log_2$ （発現比）が+1の場合、統合失調症例は健常対照例の倍の発現量である（比は2）。遺伝子ごとに、2元ANOVAによる解析結果を、グラフ下に示す。CR以外の遺伝子については、Diagnosis（診断）により発現レベルに有意な変化（統合失調症での減少）が認められる。これらの遺伝子のどれでも、DiagnosisとArea（皮質領域）の相互作用は、有意ではなく、発現変化の程度が領域間で変わらないことがうかがわれる。◇：前頭前野（9野）、☆：前帯状回（24野）、○：1次運動野（4野）、□：1次視覚野（17野）

前頭前野のみでなく、前帯状回、運動野、視覚野においても共通して認められた（図6）。一方で、前頭前野において変化の認められないCRの発現は、他のすべての領域においても変化がなかった。

興味深いことに、各領域を通して、これらのGABA関連遺伝子の発現変化のパターンは類似していた（図6）。各領域をとおり最も発現低下の程度が著しかったのは、介在ニューロンのサブグループのマーカーであるPVおよびSSTであり、健常対照例から約50～60%の減少を示した。次に、発現低下の程度が大きかったのが、GABA伝達を担うGAD67、GAT1、GABA-A

受容体の $\alpha 1$ および δ サブユニットであり、約20～30%の減少を示した。そして、各領域をとおり、最も発現低下の程度が小さかったのがGAD65であり、15%の減少を示した。このような所見は、統合失調症では、広汎な皮質領域にわたり、介在ニューロンのサブタイプに特異的なGABA合成の低下やGABA-A受容体の変化に基づいたGABA伝達障害が存在し、機能障害に結びついている可能性を示している。

8. 薬物療法の影響

死後脳研究では、大部分の統合失調症例にて、

死亡時まで薬物療法を受けている。そこで、認められた GABA 伝達の変化を示す所見と薬物の関係が問題となる。現在までのところ、薬物の影響は、1) 死亡時からさかのぼって一定期間、薬物投与を受けていなかった症例、2) 統合失調症患者と同様の薬物治療を受けていた気分障害などの症例、3) 抗精神病薬や抗パーキンソン薬などを血中濃度をヒトの治療域に保ちつつ長期間投与したサル^{10,27)}、などにおいて統合失調症と同様の変化の有無を調べることにより、評価されている。

まず、PV ニューロンや SST ニューロンにおける PV, SST, GAD67 mRNA などの発現の変化は、数か月から数年間、薬物療法を受けていない症例においても認められる^{16,18,19)}。次に、シャンデリア細胞のシナプス前終末における GAT1 の発現低下や錐体ニューロン軸索起始部における $\alpha 2$ サブユニット発現の増加などは、向精神薬（抗精神病薬を含む）を使用していた他の精神疾患例では明らかでない^{27,38)}。最後に、抗精神病薬を長期投与したサルの前頭前野にて、GAD67, GAT-1, PV, SST, GABA-A 受容体 $\alpha 1$ および $\alpha 2$ サブユニットなどの発現が調べられているが、どれについても有意な変化は認められていない^{16,19,27,35,36)}。これらの所見より、統合失調症における皮質 GABA 伝達の変化は、薬物療法による二次的な変化ではなく、疾患過程を反映していると考えられる。

9. 大脳皮質 GABA 伝達変化とその機能的意味

統合失調症における大脳皮質 GABA 伝達の異常を示す所見を以下にまとめる (図 7)。1) 介在ニューロンのサブグループである PV ニューロンにおいて、選択的マーカーである PV とともに、GABA 合成酵素 GAD67 および GABA トランスポーター GAT1 の発現が低下しており、PV ニューロンによる GABA 伝達の障害が示唆される。2) SST ニューロンにおいても、マーカーである SST や NPY の発現の低下とともに GAD67 の発現低下も示唆される。3) PV ニューロンによるシナプスを受ける錐体ニューロンの軸索起始部

では、GABA-A 受容体 $\alpha 2$ サブユニットの増加があり、このサブユニットを含む GABA-A 受容体の代償性の増加がうかがわれる。4) $\alpha 2$ サブユニット以外の、GABA-A 受容体サブユニットのうち、大脳皮質の GABA シナプスに最も多く存在する GABA 受容体を構成する $\alpha 1$ および $\gamma 2$ サブユニット、シナプス外受容体を構成する δ サブユニットなどの発現が低下している。5) 以上の GABA 伝達関連分子の変化パターンは、前頭前野、前帯状回、1 次運動野、1 次視覚野などの広汎な皮質領域に存在する。

このような変化により示唆される GABA 伝達の障害が、認知機能の低下に結びつくメカニズムとして着目されているのが、大脳皮質の周期的活動（オシレーション）である。なかでも、 γ 帯域（30~100 Hz）の周波数を有するもの（ γ オシレーション）は、ニューロン間の情報伝達の効率に大きな影響をもち、皮質情報処理に重要な役割をもつことが示されている^{12,32)}。PV ニューロンは、お互いにシナプスを形成しネットワークを形成する。また、個々の PV ニューロンは多数の錐体ニューロンの細胞体周囲（軸索起始部を含む）へ抑制性シナプスを形成し、その発火のタイミングを規定する。このような特性により、PV ニューロンによる GABA 伝達は、多くの皮質ニューロンの活動を同期させ、 γ オシレーションの形成に中心的な役割を持つ^{2,32)}。統合失調症では、様々な知覚刺激や認知課題にともなって誘導される γ オシレーションの低下が、前頭前野をはじめとする様々な領域で繰り返し報告されている^{7,34)}。すなわち、PV ニューロンによる GABA 伝達の障害は、 γ オシレーションの形成不全を引き起こすことで、作業記憶や知覚情報処理の障害などに結びついていると考えられる。上記のように、PV 陽性のシャンデリア細胞によるシナプスを受ける錐体ニューロンの軸索起始部には、 $\alpha 2$ サブユニット含有 GABA-A 受容体が多く、統合失調症では代償性の増加が認められる。興味深いことに、この $\alpha 2$ サブユニット含有 GABA-A 受容体による伝達を選択的に促進する物質は、統合失調症患者

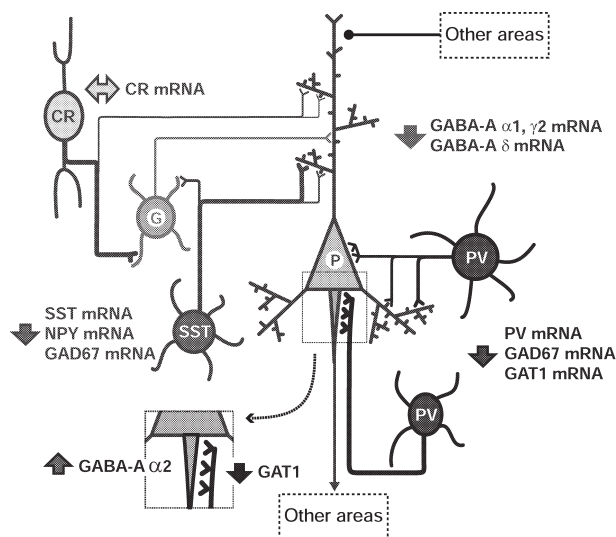


図7 統合失調症の大脳皮質において GABA 伝達の変化を示す所見 (文献 16 より改変)

統合失調症の大脳皮質では、parvalbumin (PV) を発現する介在ニューロンにおいて、PV mRNA とともに、GABA 合成酵素である GAD67 や GABA トランスポーター (GAT1) の mRNA 発現が低下している。さらに somatostatin (SST) を発現する介在ニューロンでも、そのマーカーである SST や NPY の mRNA 発現の低下とともに、GAD67 mRNA の低下も示唆されている。一方で、calretinin (CR) を発現する介在ニューロンでは、CR mRNA の発現に変化は認められない。PV ニューロンによる GABA 伝達の低下は、PV ニューロンのシナプス前終末における GAT-1 の発現低下および錐体ニューロン軸索起終末における GABA-A 受容体 $\alpha 2$ サブユニットの発現増加を伴っており、このニューロンによる GABA 伝達の障害に対する代償と考えられる。さらに、上記の介在ニューロンの変化との関係は不明であるが、大脳皮質で最も多い GABA-A 受容体を構成する $\alpha 1$ および $\gamma 2$ サブユニットの mRNA、シナプス外の GABA-A 受容体を構成する δ サブユニットなどの mRNA の発現の低下も認められる。

者にて、作業記憶および前頭前野の γ オシレーションを改善した²²⁾。これも、PV ニューロンによる GABA 伝達障害が、 γ オシレーションと認知機能の低下に寄与していることを支持する所見である。

一方、SST ニューロンは、 θ 帯域 (4~7 Hz) における周期的活動の形成に関与することが示唆されている³⁾。作業記憶課題では、前頭前野と後方感覚領域の間で θ 帯域において同期した活動

が認められ、保持されるべき情報の選択に重要な役割を持つことが提唱されている^{21,28)}。統合失調症罹患患者では、作業記憶課題遂行時に前頭部に誘導される θ オシレーションの低下も報告されている³¹⁾。SST ニューロンによる GABA 伝達の障害も、大脳皮質における θ 帯域での周期性活動の形成障害をもたらし、認知機能の障害に寄与している可能性がある。

文 献

- 1) Akbarian, S., Kim, J.J., Potkin, S.G., et al.: Gene expression for glutamic acid decarboxylase is reduced without loss of neurons in prefrontal cortex of schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry*, 52; 258-266, 1995
- 2) Bartos, M., Vida, I., Jonas, P.: Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nat Rev Neurosci*, 8; 45-56, 2007
- 3) Beierlein, M., Gibson, J.R., Connors, B.W.: A network of electrically coupled interneurons drives synchronized inhibition in neocortex. *Nat Neurosci*, 3; 904-910, 2000
- 4) Benes, F.M., Vincent, S.L., Marie, A., et al.: Up-regulation of GABAA receptor binding on neurons of the prefrontal cortex in schizophrenic subjects. *Neuroscience*, 75; 1021-1031, 1996
- 5) Butler, P.D., Schechter, I., Zemon, V., et al.: Dysfunction of early-stage visual processing in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 158; 1126-1133, 2001
- 6) Carter, C.S., MacDonald, A.W., III, Ross, L.L., et al.: Anterior cingulate cortex activity and impaired self-monitoring of performance in patients with schizophrenia: an event-related fMRI study. *Am J Psychiatry*, 158; 1423-1428, 2001
- 7) Cho, R.Y., Konecky, R.O., Carter, C.S.: Impairments in frontal cortical gamma synchrony and cognitive control in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103; 19878-19883, 2006
- 8) Constantinidis, C., Williams, G.V., Goldman-Rakic, P.S.: A role for inhibition in shaping the temporal flow of information in prefrontal cortex. *Nat Neurosci*, 5; 175-180, 2002
- 9) Curley, A.A., Arion, D.A., Lewis, D.A.: GAD67 and GAD65 protein levels in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Soc Neurosci Abstr*, 340; 5, 2009
- 10) Dorph-Petersen, K.A., Pierri, J.N., Perel, J.M., et al.: The influence of chronic exposure to antipsychotic medications on brain size before and after tissue fixation: a comparison of haloperidol and olanzapine in macaque monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 30; 1649-1661, 2005
- 11) Farrant, M., Nusser, Z.: Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA (A) receptors. *Nat Rev Neurosci*, 6; 215-229, 2005
- 12) Fries, P.: Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annu Rev Neurosci*, 32; 209-224, 2009
- 13) Goldman-Rakic, P.S.: Working memory dysfunction in schizophrenia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 6; 348-357, 1994
- 14) Goldman-Rakic, P.S.: Cellular basis of working memory. *Neuron*, 14; 477-485, 1995
- 15) Guidotti, A., Auta, J., Davis, J.M., et al.: Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. *Arch Gen Psychiatry*, 57; 1061-1069, 2000
- 16) Hashimoto, T., Arion, D., Unger, T., et al.: Alterations in GABA-related transcriptome in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 13; 147-161, 2008
- 17) Hashimoto, T., Bazmi, H.H., Mirnics, K., et al.: Conserved regional patterns of GABA-related transcript expression in the neocortex of subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 165; 479-489, 2008
- 18) Hashimoto, T., Bergen, S.E., Nguyen, Q.L., et al.: Relationship of brain-derived neurotrophic factor and its receptor TrkB to altered inhibitory prefrontal circuitry in schizophrenia. *J Neurosci*, 25; 372-383, 2005
- 19) Hashimoto, T., Volk, D.W., Eggan, S.M., et al.: Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Neurosci*, 23; 6315-6326, 2003
- 20) Kawaguchi, Y., Kondo, S.: Parvalbumin, somatostatin and cholecystokinin as chemical markers for specific GABAergic interneuron types in the rat frontal cortex. *J Neurocytol*, 31; 277-287, 2002
- 21) Lee, H., Simpson, G.V., Logothetis, N.K., et al.: Phase locking of single neuron activity to theta oscillations during working memory in monkey extrastriate visual cortex. *Neuron*, 45; 147-156, 2005
- 22) Lewis, D.A., Cho, R.Y., Carter, C.S., et al.: Subunit-selective modulation of GABA type A receptor neurotransmission and cognition in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 165; 1585-1593, 2008
- 23) Lewis, D.A., Hashimoto, T., Volk, D.W.: Cor-

tical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*, 6 ; 312-324, 2005

24) Lund, J.S., Lewis, D.A. : Local circuit neurons of developing and mature macaque prefrontal cortex : Golgi and immunocytochemical characteristics. *J Comp Neurol*, 328 ; 282-312, 1993

25) Melchitzky, D.S., Lewis, D.A. : Dendritic-targeting GABA neurons in monkey prefrontal cortex : comparison of somatostatin- and calretinin-immunoreactive axon terminals. *Synapse*, 62 ; 456-465, 2008

26) Morris, H.M., Hashimoto, T., Lewis, D.A. : Alterations in somatostatin mRNA expression in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia or schizoaffective disorder. *Cereb Cortex*, 18 ; 1575-1587, 2008

27) Pierri, J.N., Chaudry, A.S., Woo, T.U., et al. : Alterations in chandelier neuron axon terminals in the prefrontal cortex of schizophrenic subjects. *Am J Psychiatry*, 156 ; 1709-1719, 1999

28) Raghavachari, S., Kahana, M.J., Rizzuto, D.S., et al. : Gating of human theta oscillations by a working memory task. *J Neurosci*, 21 ; 3175-3183, 2001

29) Rao, S.G., Williams, G.V., Goldman-Rakic, P. S. : Destruction and creation of spatial tuning by disinhibition : GABA (A) blockade of prefrontal cortical neurons engaged by working memory. *J Neurosci*, 20 ; 485-494, 2000

30) Sawaguchi, T., Matsumura, M., Kubota, K. : Delayed response deficits produced by local injection of bicuculline into the dorsolateral prefrontal cortex in Japanese macaque monkeys. *Exp Brain Res*, 75 ; 457-469, 1989

31) Schmiedt, C., Brand, A., Hildebrandt, H., et al. :

Event-related theta oscillations during working memory tasks in patients with schizophrenia and healthy controls. *Brain Res Cogn Brain Res*, 25 ; 936-947, 2005

32) Sohal, V.S., Zhang, F., Yizhar, O., et al. : Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, 459 ; 698-702, 2009

33) Sullivan, E.V., Shear, P.K., Lim, K.O., et al. : Cognitive and motor impairments are related to gray matter volume deficits in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 39 ; 234-240, 1996

34) Uhlhaas, P.J., Singer, W. : Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nat Rev Neurosci*, 11 ; 100-113, 2010

35) Volk, D., Austin, M., Pierri, J., et al. : GABA transporter-1 mRNA in the prefrontal cortex in schizophrenia : decreased expression in a subset of neurons. *Am J Psychiatry*, 158 ; 256-265, 2001

36) Volk, D.W., Austin, M.C., Pierri, J.N., et al. : Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 57 ; 237-245, 2000

37) Volk, D.W., Lewis, D.A. : Impaired prefrontal inhibition in schizophrenia : relevance for cognitive dysfunction. *Physiol Behav*, 77 ; 501-505, 2002

38) Volk, D.W., Pierri, J.N., Fritschy, J.M., et al. : Reciprocal alterations in pre- and postsynaptic inhibitory markers at chandelier cell inputs to pyramidal neurons in schizophrenia. *Cereb Cortex*, 12 ; 1063-1070, 2002

39) Weinberger, D.R., Berman, K.F., Zec, R.F. : Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional cerebral blood flow evidence. *Arch Gen Psychiatry*, 43 ; 114-124, 1986

Schizophrenia and Cortical GABA Neurotransmission

Takanori HASHIMOTO^{1,2)}, Takuro MATSUBARA¹⁾, David A. LEWIS^{2,3)}1) *Department of Psychiatry and Neurobiology, Kanazawa University School of Medical Science*2) *Department of Psychiatry, University of Pittsburgh*3) *Department of Neuroscience, University of Pittsburgh*

Individuals with schizophrenia show disturbances in a number of brain functions that regulate cognitive, affective, motor, and sensory processing. The cognitive deficits associated with dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex result, at least in part, from abnormalities in GABA neurotransmission, as reflected in a specific pattern of altered expression of GABA-related molecules. First, mRNA levels for the 67-kilodalton isoform of glutamic acid decarboxylase (GAD67), an enzyme principally responsible for GABA synthesis, and the GABA membrane transporter GAT1, which regulates the reuptake of synaptically released GABA, are decreased in a subset of GABA neurons. Second, affected GABA neurons include those that express the calcium-binding protein parvalbumin (PV), because PV mRNA levels are decreased in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia and GAD67 mRNA is undetectable in almost half of PV-containing neurons. These changes are accompanied by decreased GAT1 expression in the presynaptic terminals of PV-containing neurons and by increased postsynaptic GABA-A receptor $\alpha 2$ subunit expression at the axon initial segments of pyramidal neurons. These findings indicate decreased GABA synthesis/release by PV-containing GABA neurons and compensatory changes at synapses formed by these neurons. Third, another subset of GABA neurons that express the neuropeptide somatostatin (SST) also appear to be affected because their specific markers, SST and neuropeptide Y mRNAs, are decreased in a manner highly correlated with the decreases in GAD67 mRNA. Finally, mRNA levels for GABA-A receptor subunits for synaptic ($\alpha 1$ and $\gamma 2$) and extra-synaptic (δ) receptors are decreased, indicating alterations in both synaptic and extra-synaptic GABA neurotransmission. Together, this pattern of changes indicates that the altered GABA neurotransmission is specific to PV-containing and SST-containing GABA neuron subsets and involves both synaptic and extra-synaptic GABA-A receptors.

Our recent analyses demonstrated that this pattern exists across diverse cortical areas including the prefrontal, anterior cingulate, primary motor, and primary visual cortices. GABA neurotransmission by PV-containing and SST-containing neurons is important for the generation of cortical oscillatory activities in the γ (30–100 Hz) and θ (4–7 Hz) bands, respectively. These oscillatory activities have been proposed to play critical roles in regulating the efficiency of information transfer between neurons and neuronal networks in the cortex. Altered cortical GABA neurotransmission appears to contribute to disturbances in diverse functions through affecting the generation of cortical oscillations in schizophrenia.

<Authors' abstract>

<**Key words**: postmortem, working memory, parvalbumin, somatostatin, GAD67, GABA-A receptor>