

—— 研究助成報告 ——

Scn1a ノックアウトラットの発達に伴う脳活動変化と背景病態に関する研究

田 原 麻 由, 日 暮 憲 道

要旨：Dravet症候群（DS）は主に*SCN1A*異常に起因する発達性てんかん性脳症で、大脳抑制性細胞の機能低下により発症するとされるが、年齢依存的に変化する表現型の背景病態を説明するには不十分である。DS病態の経齡的变化の理解を目指し、*Scn1a* ノックアウトラット脳の基礎活動とその発達による変化を、マンガン造影磁気共鳴画像法により解析した。その結果、野生型と比較してヘテロ型では3週齢でのみ広範な脳領域で有意な活動上昇が観察されたが、2、4週齢では有意差を認めなかった。この3週齢での一過性活動上昇はNKCC1阻害薬を前投与することで改善したことから、GABA_A受容体を介した抑制性シナプス伝達の未熟性の関与が示唆された。ラットの3週齢は、ヒトではDS発症ピークである6か月齢に相当するため、DSの発症には、抑制性細胞の機能低下とともに、抑制性シナプス伝達の未熟性の関与が推定された。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2023；34：51-60

Key Words：ブメタニド、発達性てんかん性脳症、GABA、マンガン造影磁気共鳴画像法、Dravet 症候群

序論

Dravet症候群（DS）は、複数の難治なてんかん発作型、熱過敏性発作、認知行動障害、運動障害などを特徴とする発達性てんかん性脳症の一つで¹⁻³⁾、症例の4~20%が早期に死亡する神経学的予後・生命予後不良な疾患である^{3, 4)}。電位依存性ナトリウムチャネル α サブユニット1 (Nav1.1) をコードする*SCN1A* 遺伝子に、ヘテロ接合性機能喪失型バリエーションが8割以上の患者で同定される^{2, 5)}。Nav1.1は錐体細胞の活動制御に重要なパルプアルブミン陽性GABA作動性細胞（以下PV細胞）に多く発現し^{6, 7)}、この細胞の機能低下がDSの主病態と考えられている^{6, 8, 9)}。しかし、DSの脳波臨床的特徴は年齢により大きく変化するが、その背景にある病態特性の変化を理解するには不十分である。

マンガン造影磁気共鳴画像法 (manganese-

enhanced magnetic resonance imaging, MEMRI) は、陽性造影剤の性質を持つマンガニオン (Mn^{2+}) が⁸⁾、神経組織でカルシウムイオン (Ca^{2+}) アナログとして作用することを利用し、*in vivo*での脳活動を高解像度に可視化することを可能とする。 Mn^{2+} は電位依存性カルシウムチャネルを介して脱分極した神経細胞内に取り込まれ、経シナプスの隣接神経細胞に輸送されるため¹⁰⁾、活動上昇を示す細胞がT1強調画像で高信号として描出される。 Mn^{2+} は全身投与後24時間かけて脳内に分布するため¹⁰⁻¹²⁾、MEMRIは発作やてんかん様放電など短時間の一過性神経活動ではなく、基礎活動の評価に適している¹³⁻¹⁵⁾。

本研究では、*Scn1a* ノックアウトラット (*Scn1a*^{+/-}ラット) の各脳領域における基礎活動を、MEMRIを用いて発達段階ごとに評価した。

方法

1. *Scn1a* ノックアウトラットの作製

Transcription activator-like effector nucleases (TALEN) を用いて、F344 ラットの *Scn1a* エクソン1にフレームシフトを起こし作製した。本研究では日齢15から38の雄ラットを使用した。

2. MEMRI 実験の流れ

初回のMRI撮像直後に MnCl_2 溶液 (66 mg/kg) を腹腔内投与し、24時間後に再度MRI撮像を行った¹⁰⁾。解析には、各画素のT1緩和時間をT1値として定量表示するT1マップを使用した。脳活動の上昇を示す領域はT1高信号、すなわちT1緩和時間の短縮、T1値の低下として算出することが可能となる^{16, 17)}。この手法を応用して、野生型 (*Scn1a*^{+/+}) ラットと *Scn1a*^{+/-} ラットの脳活動を領域ごとに定量比較した。

3. ブメタニド ($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ 共輸送体アイソフォーム1 (NKCC1) 阻害剤) 投与実験

既報告¹⁸⁾にしたがって、日齢12から日齢20、または日齢26までブメタニド溶液 (0.2 mg/kg)、または対照として等量の生理食塩水 (4 mL/kg) を1日2回連日投与し、MEMRIと温熱誘発発作特性の変化をこれら二群間で比較した。温熱負荷は、45℃の湯を満たした10 cmの深さの浴槽内でラットを泳がせ、最大5分間または発作出現まで観察した¹⁹⁾。各ラットについて、水面接触から発作出現までの潜時、発作持続時間、発作の重症度を記録した。発作の重症度は、Racineの分類に基づいてスコア化し²⁰⁾、最も高いスコアを解析に用いた。

4. 統計解析

広範な領域の脳活動を調べるため、ANCOVA型混合効果モデルを用いて、異なる遺伝子型、発達段階、および脳領域のそれぞれ異なる水準下で得られた実験データに対して、二方分割型デザインを適用し、 MnCl_2 溶液投与前のT1値 ($T_{1\text{pre}}$) で調整した $T_{1\text{post}}$ (MEMRI T1マップ)

値) を比較した²¹⁾。ラットの発達段階は、既報告にしたがって次のように定義した²²⁾：日齢15~18 (新生児期)、日齢19~22 (乳児期)、日齢23~26 (離乳期)、日齢27~30 (幼児期)、日齢31~34 (児童期)、日齢35~38 (前思春期)。MEMRI実験では、遺伝子型と発達段階を1次単位 (動物) に、2次単位 (動物内の領域) に適用した。ブメタニドの有無によるMEMRI実験では、遺伝子型と薬物 (ブメタニドまたは生理食塩水) を1次単位 (動物) に、脳領域を2次単位 (動物内の脳領域) に適用した。繰返しの効果はError (A) とError (B)²¹⁾ を含み1次誤差に統合し、SASのType III Sum of Squaresを主結果として用いた。各発達段階における脳領域ごとの $T_{1\text{post}}$ を遺伝子型間で比較、あるいは各遺伝子型における脳領域ごとの $T_{1\text{post}}$ をブメタニドと生理食塩水投与群で比較するために、SchefféあるいはTukey多重比較検定を2次誤差を用いて実施した。温熱誘発発作の発作型はMann-Whitney U検定を用いて評価した。p値は両側とし、 $p < 0.05$ を統計的に有意とした。

結果

1. *Scn1a* ノックアウトラットの表現型

確立した *Scn1a* ノックアウトラットでは、エクソン1の94塩基対の欠失と、脳Nav1.1発現の低下が確認された。*Scn1a*^{-/-} ラットは生後2週までに全個体が死亡したが、*Scn1a*^{+/-} ラットは実験期間中の自然死を認めず、平均体重も *Scn1a*^{+/+} ラットと有意差はなかった。温熱誘発発作は、解析した2~4週齢の *Scn1a*^{+/-} ラット全個体で認めたが、*Scn1a*^{+/+} ラットでは出現しなかった。*Scn1a*^{+/-} ラットでは自発発作は4週齢以降で時折確認された。DSモデルとして確立されている *Scn1a*^{+/-} マウスでは3週齢から自発発作が認められ、20~50%の個体が6週齢までに早期死亡することが報告されており^{8, 23-25)}、本ラットの重症度はこれより軽症であると考えられた。

2. MEMRIによる脳活動の経齢変化

日齢15~38の *Scn1a*^{+/+} および *Scn1a*^{+/-} ラッ

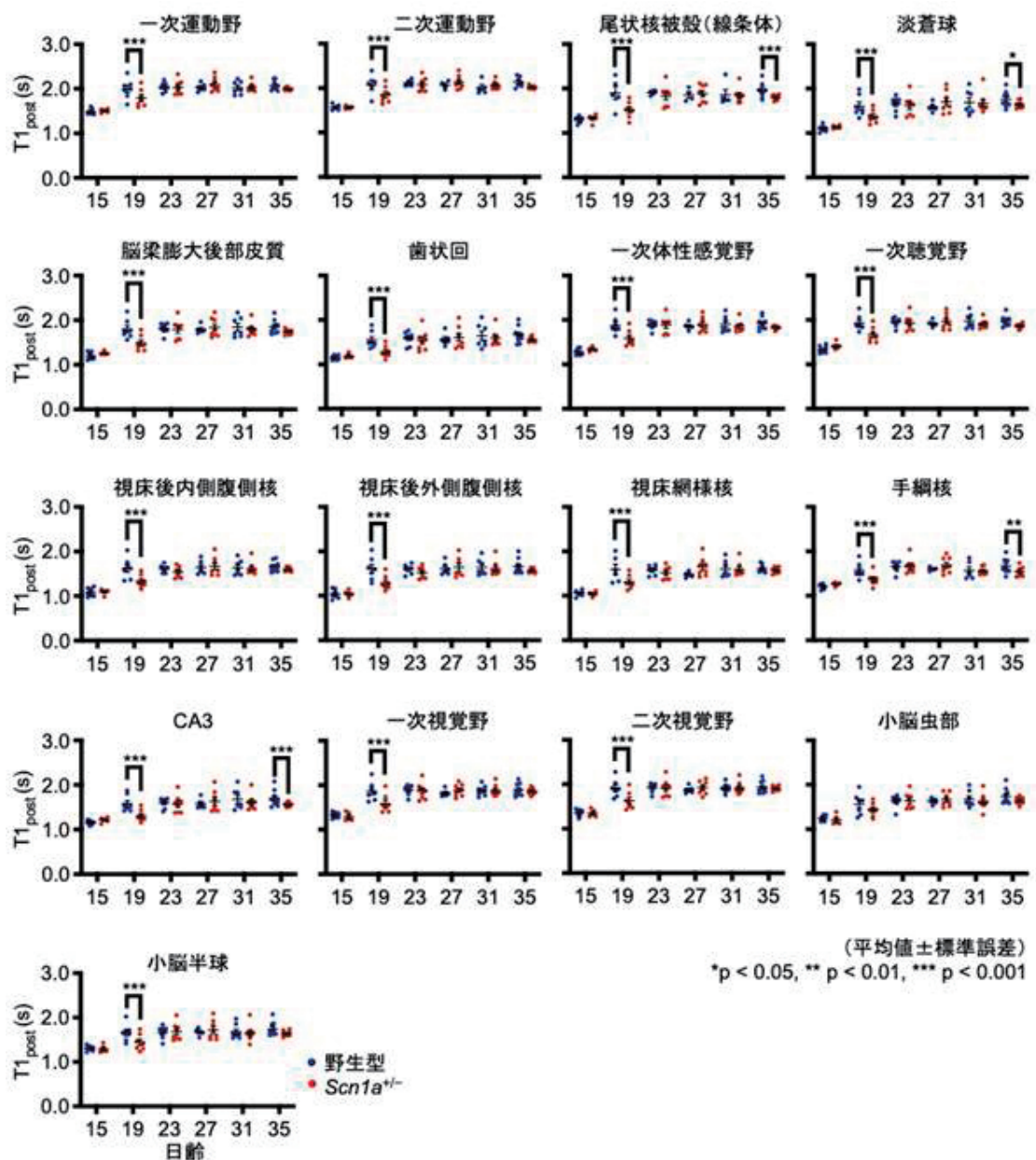


Fig. 1 *Scn1a*^{+/+}と*Scn1a*^{+/-}ラットの各日齢・各脳領域のT1_{post}の比較

Scn1a^{+/-}ラットでは、日齢19~22に小脳虫部を除く全領域で、有意なT1値の低下を認める ($p < 0.001$)。また、日齢35~38には海馬CA3 ($p < 0.001$)、外側手網核 ($p = 0.007$)、淡蒼球 ($p = 0.05$)、尾状核 ($p < 0.001$)で有意な減少を認めた。

ト (各44匹) を対象にMEMRIを実施した。T1値は髄鞘化の影響を回避するため^{26, 27)}、MnCl₂投与前のT1値(T1_{pre})と投与24時間後のT1値(T1_{post})を測定し、T1_{pre}で調整した各関心領域

のT1_{post}を比較した (Fig. 1)。T1_{post}のANCOVAでは、遺伝子型の有意な主効果も、発達段階、遺伝子型、関心領域間の3因子交互作用も有意ではなかったが、交互作用の各水準間のTukey

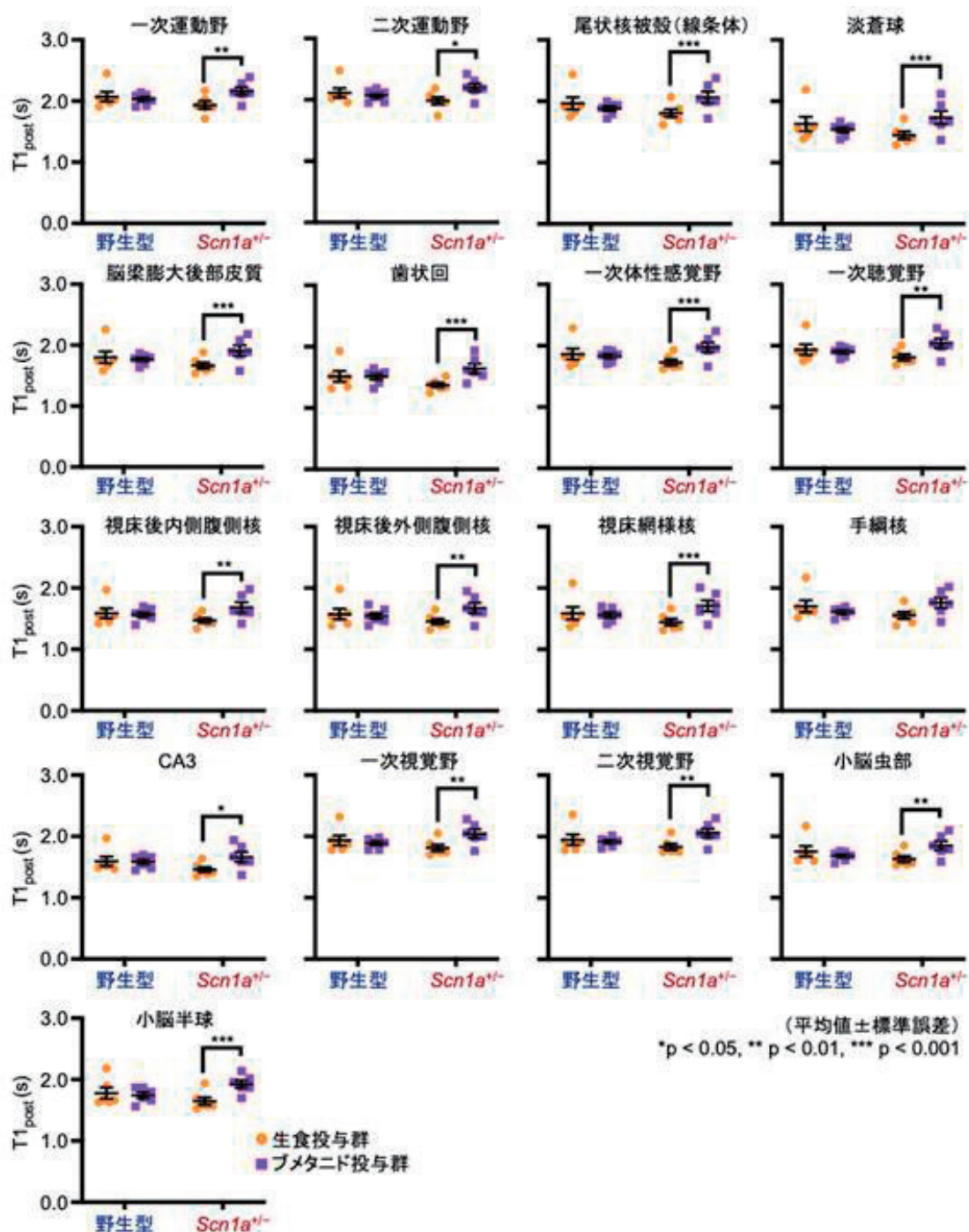


Fig. 2 ブメタニド投与群と生理食塩水投与群における日齢21での $T1_{\text{post}}$ 比較
 $Scn1a^{+/-}$ ラットでは、生理食塩水投与群と比較してブメタニド投与群で、外側手綱核を除く全領域で $T1_{\text{post}}$ の有意な上昇を認める ($p < 0.05$)。 $Scn1a^{+/+}$ ラットではこれらに有意差は認めない、

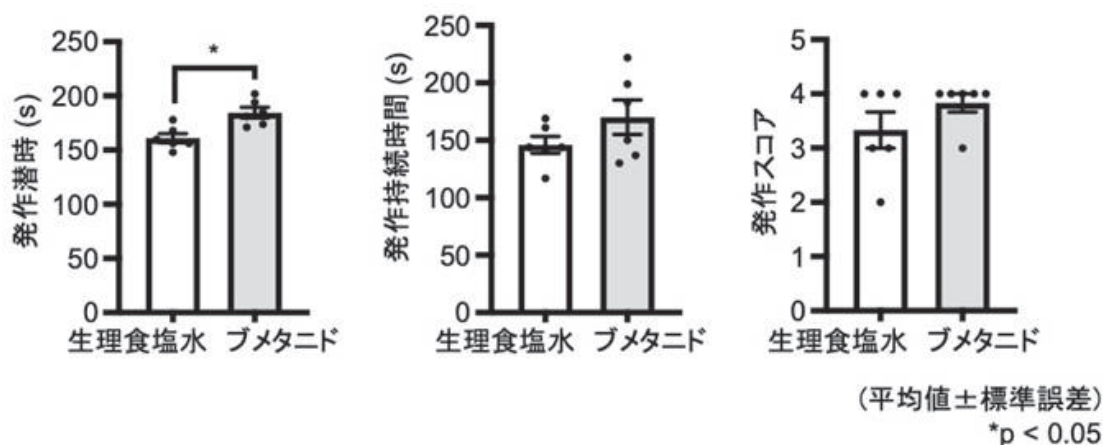


Fig. 3 *Scn1a*^{+/-}ラットにおけるブメタニド投与群と生理食塩水投与群の日齢21での温熱誘発発作特性の比較
生理食塩水投与群と比較して、ブメタニド投与群で発作潜時の有意な延長を認める。発作持続時間、
発作スコアには有意な変化を認めない。

多重比較検定では、日齢19~22において、*Scn1a*^{+/-}ラットの広範な脳領域で野生型と比較してT1_{post}の有意な減少（つまり活動上昇）を認めた。日齢15~18、23~34では有意差を認めなかったが、日齢35~38では、*Scn1a*^{+/-}ラットの複数の領域で再び有意な減少を認めた。*Scn1a*^{+/-}ラットでは、ヒトのDS発症月齢に相当する日齢19~22に一過性に^{1, 4, 28}、広範な脳領域で有意に活動が増大することが示された。

3. ブメタニド投与による日齢19-22の脳活動上昇への影響

NKCC1とKCC2(K⁺-Cl⁻共輸送体アイソフォーム2)の発現バランスの関係から、未熟な神経細胞では細胞内塩化物イオン濃度([Cl⁻]_i)が高く、GABA_A受容体伝達が脱分極（興奮）性に作用、あるいは過分極（抑制）性に作用してもその効果が弱いことが知られている^{26, 29, 30}。成熟に伴い[Cl⁻]_iは低下し、十分な過分極性伝達となる^{26, 29}。齧歯類では2(〜3)週齢までに[Cl⁻]_iが低下することが知られており²⁹⁻³⁴、*Scn1a*^{+/-}ラットでみられた日齢19~22の一過性脳活動上昇の背景に、このGABA_A受容体伝達の遅延の関与が想定された。これを検証するため、NKCC1阻害剤のブメタニド²⁶投与と本実験を行った。*Scn1a*^{+/+}および*Scn1a*^{+/-}ラットにブメ

タニドまたは生理食塩水(対照群)を、日齢12から20まで連日腹腔内投与し、日齢21にMEMRIを行った(全ての実験で各群6匹実施)。*Scn1a*^{+/+}ではブメタニド投与群と生理食塩水投与群とでT1_{post}に有意差を認めなかったが、*Scn1a*^{+/-}ではブメタニド群で生理食塩水群と比較して、広範な領域でT1_{post}の有意な上昇を認めた(Fig. 2)。一方、ブメタニドあるいは生理食塩水投与を日齢26まで継続し、日齢27に行なったMEMRIでは、いずれの群にも有意な変化を認めなかった。従って、発達性に[Cl⁻]_iが低下する過程において、*Scn1a*^{+/-}ラットでは3週齢で一時的に遅延しているが、その後には*Scn1a*^{+/+}レベルに追いつくことが示唆され、日齢19-22の一過性脳活動上昇の背景に抑制性シナプス伝達の未熟性の関与が示唆された。

4. ブメタニド投与による*Scn1a*^{+/-}ラットの温熱誘発発作への影響

ブメタニド投与が*Scn1a*^{+/-}ラットの発作特性に影響するかを確認するため、上記と同様の方法でブメタニドあるいは生理食塩水を投与し、日齢21に温熱誘発発作の特性を比較した(各群6匹)。発作持続時間や発作スコアに有意差を認めなかったが、発作潜時はブメタニド投与群で有意に延長した(Fig. 3)。一方、日齢27でも

同様の実験を行なったが、いずれも有意差を認めなかった(データは省略)。これらより、3週齢での抑制性シナプス伝達の未熟性は、発作閾値にも影響していることが示唆された。

考察

本研究では、MEMRIを用いることで、*Scn1a*^{+/-}ラット脳神経の基礎活動レベルが、*Scn1a*^{+/+}ラットと比較して日齢19~22に一過性に、しかし広範に上昇していることを明らかにした。4週齢では*Scn1a*^{+/+}ラットと有意差を認めず、さらにブメタニド投与での観察から、*Scn1a*機能減弱が、抑制性シナプス伝達の成熟過程が3週齢で一時的に遅延すると推測された。

ラットの日齢19~22はヒトの6か月齢に相当し²²⁾、DS患者の発作発症時期に合致する^{1, 4, 28)}。年齢依存的な脳機能特性変化がDS発症時期に増強することは他研究でも確認されている。例として、*Scn1a*^{+/-}マウスのPV細胞の発火機能は、日齢18~21で強く障害されるが、疾患発症前の2週齢や成体では野生型と有意差がない³⁵⁾。また、*Scn1a*^{+/-}マウスの背景脳波活動のパワースペクトル密度は、野生型と比較して2週齢では有意差がなく、3週齢で有意に低下し差が最大となるが、その後は差が小さくなる³⁶⁾。*Scn1a*バリエーションの影響による脳機能変化が3週齢で増大することでDS発症に寄与することが示唆された。

齧歯類の抑制性神経回路の発達過程で2~3週齢は重要な時期である。Nav1.1発現は2週齢より上昇し始める^{6, 37)}。PV細胞の発火能などの電気生理学的機能やGABA性シナプス形成は2~4週齢で成熟する³⁸⁻⁴⁰⁾。GABA_A受容体伝達の過分極から脱分極性反応へのスイッチはほぼ2週齢までに、一部の遅い領域でも3週齢前半までには完了する^{17, 19-21, 26)}。本研究で確認された3週齢での脳活動上昇には、当然すでに確立しているPV細胞の発火機能低下³⁵⁾の関与は考慮されるが、この機能低下がまだ残存する4週齢ですでに脳活動上昇が改善していたことから、他の機序の関与が推測される。ブメタニド実験結果から、[Cl⁻]_iの発達性低下が不十分なことによる抑制性シナプス伝達の減弱が関

与することが示唆された。さらにPV細胞の発火機能の低下が正常同等な2週齢では脳活動上昇は認めないことから、初期の[Cl⁻]_iの発達性低下は障害されておらず、2週齢以降にNav1.1発現が上昇し、この細胞の発火機能が高まる時期のアウトプットが弱いことで、[Cl⁻]_i低下の最終段階が遅延する可能性が考慮された。

本研究ではいくつかlimitationがある。まず、今回使用した*Scn1a*^{+/-}ラットの表現型が、*Scn1a*^{+/-}マウスより軽症であり、DSモデルとして不完全な可能性がある。背景に動物種や系統の遺伝学的特性や耐久性の違いが考慮されるが、*Scn1a*^{+/-}マウスで実験をした場合、結果が異なる可能性がある。しかし、本実験計画をマウスで行うことは、実験条件、身体的耐性、解像度などの観点から容易ではなく、本ラットで早期死亡や重度の自発発作・重積状態を欠くことは、より純粋に*Scn1a*病態を評価できることが期待される。また、今回オスのみで行ったが、今後メスでも同様の所見が得られるか確認する必要がある。さらに、3週齢での一過性脳活動上昇の背景に[Cl⁻]_iの発達性低下の遅延を推測したが、電気生理学的、生化学的に実証がないため仮説の域を出ない。今後精巧な手法で確認する必要がある。最後に、日齢35~38に一部の領域で活動上昇が再確認され、成人期の臨床的表現型との関連が推定されるが、この所見の意義についても検討の余地がある。

最後に、本研究の成果から、MEMRIが今後、他の発達性てんかん性脳症の病態研究にも応用できる可能性が期待された。

謝辞

本研究を実施するにあたり多大なご支援、ご指導を頂いた西川雅子先生、岡野ジェイムス洋尚先生(慈恵医大)、畑純一先生(東京都立大学)、廣瀬伸一先生(福岡大学)、真下知士先生(東京大学)、金子武人先生(岩手大学)、佐久間哲史先生、山本卓先生(広島大学)に深謝申し上げます。

文献

- 1) Dravet C. The core Dravet syndrome phenotype. *Epilepsia* 2011 ; 52 : 3-9.

- 2) Gataullina S, Dulac O. From genotype to phenotype in Dravet disease. *Seizure* 2017 ; 44 : 58-64.
- 3) Genton P, Velizarova R, Dravet C. Dravet syndrome: The long-term outcome. *Epilepsia* 2011 ; 52 : 44-49.
- 4) Shmueli S, Sisodiya SM, Gunning WB, Sander JW, Thijs RD. Mortality in Dravet syndrome: A review. *Epilepsy Behav* 2016 ; 64 : 69-74.
- 5) Marini C, Scheffer IE, Nabbout R, Suls A, De Jonghe P, Zara F, et al. The genetics of Dravet syndrome. *Epilepsia* 2011 ; 52 : 24-29.
- 6) Ogiwara I, Miyamoto H, Morita N, Atapour N, Mazaki E, Inoue I, et al. Nav1.1 localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons: A circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an *Scn1a* gene mutation. *J Neurosci* 2007 ; 27 : 5903-5914.
- 7) Dutton SB, Makinson CD, Papale LA, Shankar A, Balakrishnan B, Nakazawa K, et al. Preferential inactivation of *SCN1A* in parvalbumin interneurons increases seizure susceptibility. *Neurobiol Dis* 2013 ; 49 : 211-220.
- 8) Yu FH, Mantegazza M, Westenbroek RE, Robbins CA, Kalume F, Burton KA, et al. Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nat Neurosci* 2006 ; 9 : 1142-1149.
- 9) Higurashi N, Uchida T, Lossin C, Misumi Y, Okada Y, Akamatsu W, et al. A human Dravet syndrome model from patient induced pluripotent stem cells. *Mol Brain* 2013 ; 6 : 1-12.
- 10) Silva AC, Lee JH, Aoki I, Koretsky AP. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI): Methodological and practical considerations. *NMR Biomed* 2004 ; 17 : 532-543.
- 11) Aoki I, Wu YJL, Silva AC, Lynch RM, Koretsky AP. In vivo detection of neuroarchitecture in the rodent brain using manganese-enhanced MRI. *Neuroimage* 2004 ; 22 : 1046-1059.
- 12) Watanabe T, Frahm J, Michaelis T. Functional mapping of neural pathways in rodent brain in vivo using manganese-enhanced three-dimensional magnetic resonance imaging. *NMR Biomed* 2004 ; 17 : 554-568.
- 13) Alvestad S, Goa PE, Qu H, Risa Ø, Brekken C, Sonnewald U, et al. In vivo mapping of temporospatial changes in manganese enhancement in rat brain during epileptogenesis. *Neuroimage* 2007 ; 38 : 57-66.
- 14) Immonen RJ, Kharatishvili I, Sierra A, Einula C, Pitkänen A, Gröhn OHJ. Manganese enhanced MRI detects mossy fiber sprouting rather than neurodegeneration, gliosis or seizure-activity in the epileptic rat hippocampus. *Neuroimage* 2008 ; 40 : 1718-1730.
- 15) Malheiros JM, Persike DS, Castro LUC de, Sanches TRC, Andrade L da C, Tannús A, et al. Reduced hippocampal manganese-enhanced MRI (MEMRI) signal during pilocarpine-induced status epilepticus: Edema or apoptosis? *Epilepsy Res* 2014 ; 108 : 644-652.
- 16) Kikuta S, Nakamura Y, Yamamura Y, Tamura A, Homma N, Yanagawa Y, et al. Quantitative activation-induced manganese-enhanced MRI reveals severity of Parkinsons disease in mice. *Sci Rep* 2015 ; 5 :
- 17) Fontaine SN, Ingram A, Cloyd RA, Meier SE, Miller E, Lyons D, et al. Identification of changes in neuronal function as a consequence of aging and tauopathic neurodegeneration using a novel and sensitive magnetic resonance imaging approach. *Neurobiol Aging* 2017 ; 56 : 78-86.
- 18) Brandt C, Nozadze M, Heuchert N, Rattka M, Löscher W. Disease-modifying effects of phenobarbital and the NKCC1 inhibitor bumetanide in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2010 ; 30 : 8602-8612.
- 19) Hayashi K, Ueshima S, Ouchida M, Mashimo T, Nishiki T, Sendo T, et al. Therapy for hyperthermia-induced seizures in *Scn1a*

- mutant rats. *Epilepsia* 2011 ; **52** : 1010-1017.
- 20) Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972 ; **32** : 281-294.
 - 21) Hinkelmann K, Kempthorne O. "The split-split-plot design" in *Design and Analysis of Experiments*. V. Barnett et al., Eds. Hoboken: John Wiley & Sons, 1994 : 454.
 - 22) Sengupta P. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int J Prev Med* 2013 ; **4** : 624-630.
 - 23) Oakley JC, Kalume F, Yu FH, Scheuer T, Catterall WA. Temperature- and age-dependent seizures in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009 ; **106** : 3994-3999.
 - 24) Hawkins NA, Anderson LL, Gertler TS, Laux L, George AL, Kearney JA. Screening of conventional anticonvulsants in a genetic mouse model of epilepsy. *Ann Clin Transl Neurol* 2017 ; **4** : 326-339.
 - 25) Kalume F, Westenbroek RE, Cheah CS, Yu FH, Oakley JC, Scheuer T, et al. Sudden unexpected death in a mouse model of Dravet syndrome. *J Clin Invest* 2013 ; **123** : 1798-1808.
 - 26) Deoni SCL, Mercure E, Blasi A, Gasston D, Thomson A, Johnson M, et al. Mapping infant brain myelination with magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 2011 ; **31** : 784-791.
 - 27) Deoni SCL, Dean DC, Remer J, Dirks H, O' Muircheartaigh J. Cortical maturation and myelination in healthy toddlers and young children. *Neuroimage* 2015 ; **115** : 147-161.
 - 28) Cheah CS, Westenbroek RE, Roden WH, Kalume F, Oakley JC, Jansen LA, et al. Correlations in timing of sodium channel expression, epilepsy, and sudden death in Dravet syndrome. *Channels* 2013 ; **7** : 468-472.
 - 29) Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, et al. The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 1999 ; **397** : 251-255.
 - 30) Tyzio R, Holmes GL, Ben-Ari Y, Khazipov R. Timing of the developmental switch in GABA_A mediated signaling from excitation to inhibition in CA3 rat hippocampus using gramicidin perforated patch and extracellular recordings. *Epilepsia* 2007 ; **48** : 96-105.
 - 31) Berglund K, Schleich W, Krieger P, Loo LS, Wang D, Cant NB, et al. Imaging synaptic inhibition in transgenic mice expressing the chloride indicator, Clomeleon. *Brain Cell Biol* 2006 ; **35** : 207-228.
 - 32) Ben-Ari Y, Gaiarsa JL, Tyzio R, Khazipov R. GABA: A pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiol Rev* 2007 ; **87** : 1215-1284.
 - 33) Galanopoulou AS, Kyrozis A, Claudio OI, Stanton PK, Moshé SL. Sex-specific KCC2 expression and GABA_A receptor function in rat substantia nigra. *Exp Neurol* 2003 ; **183** : 628-637.
 - 34) Kyrozis A, Chudomel O, Moshé SL, Galanopoulou AS. Sex-dependent maturation of GABA_A receptor-mediated synaptic events in rat substantia nigra reticulata. *Neurosci Lett* 2006 ; **398** : 1-5.
 - 35) Favero M, Sotuyo NP, Lopez E, Kearney JA, Goldberg EM. A transient developmental window of fast-spiking interneuron dysfunction in a mouse model of dravet syndrome. *J Neurosci* 2018 ; **38** : 7912-7927.
 - 36) Fadila S, Quinn S, Turchetti Maia A, Yakubovich D, Ovadia M, Anderson KL, et al. Convulsive seizures and some behavioral comorbidities are uncoupled in the Scn1aA1783V Dravet syndrome mouse model. *Epilepsia* 2020 ; **61** : 2289-2300.
 - 37) Gazina E V., Richards KL, Mokhtar MBC, Thomas EA, Reid CA, Petrou S. Differential expression of exon 5 splice variants of sodium channel α subunit mRNAs in the developing mouse brain. *Neuroscience* 2010 ; **166** : 195-200.

- 38) Goldberg EM, Jeong HY, Kruglikov I, Tremblay R, Lazarenko RM, Rudy B. Rapid developmental maturation of neocortical FS cell intrinsic excitability. *Cereb Cortex* 2011 ; **21** : 666-682.
- 39) Pangratz-Fuehrer S, Hestrin S. Synaptogenesis of electrical and GABAergic synapses of fast-spiking inhibitory neurons in the neocortex. *J Neurosci* 2011 ; **31** : 10767-10775.
- 40) Chattopadhyaya B, Di Cristo G, Higashiyama H, Knott GW, Kuhlman SJ, Welker E, et al. Experience and activity-dependent maturation of perisomatic GABAergic innervation in primary visual cortex during a postnatal critical period. *J Neurosci* 2004 ; **24** : 9598-9611.

