

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：32203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16397

研究課題名（和文）ワーキングメモリー障害の原因神経回路の解明

研究課題名（英文）Identification of neural circuits underlying working memory impairments

研究代表者

有銘 預世布 (Arime, Yosefu)

獨協医科大学・医学部・講師

研究者番号：80609404

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症の中核症状と考えられているワーキングメモリーなどの認知機能障害は、現存する抗精神病薬ではほとんど効果がない。また、その神経回路病態も不明である。本課題ではフェンサイクリジン（PCP）を慢性投与したマウスが示すワーキングメモリー障害の責任領域候補として同定していた前辺縁皮質の2-3層における興奮性シナプスと抑制性シナプスのバランス異常を見出し、同領域における特定の神経回路の異常がワーキングメモリー障害の神経基盤を成す可能性が示唆された。本課題により、PCP慢性投与マウスのワーキングメモリー障害の原因神経回路に関する基盤的データを収集できたと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症の中核症状と考えられているワーキングメモリーなどの認知機能障害は、現存する抗精神病薬ではほとんど効果がない。また、その神経回路病態も不明である。本課題により得られた統合失調症のモデルマウスにおけるワーキングメモリー障害の原因神経回路に関する基盤的データは、神経回路活動の特異的な操作手法などを用いることによって認知機能障害の因果性の解明に迫ることを可能とし、将来的には統合失調症の認知機能障害を特異的に標的とした治療法の開発に寄与すると期待される。

研究成果の概要（英文）：Cognitive dysfunctions including working memory, which are considered to be a core symptom of schizophrenia, are resistant to the effects of antipsychotic medication. In this study, we found an imbalance between excitatory and inhibitory synapses in layer 2–3 of the prefrontal cortex, which was previously identified as a responsible region for working memory impairments in mice chronically treated with phencyclidine (PCP). Our data suggested that the abnormalities of specific neural circuits in this region might form the neural basis of working memory impairments. We think we were able to collect foundational data on neural circuits that cause working memory impairments in a mouse model of schizophrenia.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 モデルマウス ワーキングメモリー 神経回路 前辺縁皮質 背内側線条体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は生涯有病率が約1%程度で、多くが思春期・青年期に発症する。幻覚・妄想などの陽性症状や感情鈍麻・社会的引きこもりなどの陰性症状に加えて、実行機能やワーキングメモリーなどの認知機能が顕著に障害されており、治療が生涯にわたって続くことによる患者本人の苦痛に加えて、社会的・経済的にも損失の極めて大きな精神疾患である。

統合失調症治療の中心となる抗精神病薬は、陽性症状に対する有効性を有するものの、患者の多くに認められ、かつ患者の機能予後に直結することが明らかになっている認知機能障害に対する有効性はほとんど認められない。統合失調症における認知機能の顕著な低下が患者の社会生活における大きな支障となっているにも関わらず、その神経回路病態に関する理解は未だ十分ではなく、病態に基づいた治療法の開発には至っていない。

2. 研究の目的

そこで本課題は、既存の抗精神病薬による治療が極めて困難な認知機能障害の1つであるワーキングメモリーに焦点を当て、統合失調症のモデルマウスにおけるワーキングメモリー障害の神経回路基盤を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ワーキングメモリー障害の責任領域候補の同定

神経活動の入力に応答して発現が誘導される c-Fos タンパク質の陽性細胞を指標に用い、以下の実験を実施することによって、PCP 慢性投与マウスのワーキングメモリー障害に関わる責任領域候補の同定を試みた。

本課題ではワーキングメモリー課題として T 字型迷路を用いた遅延非見本合わせ課題を用い、PCP 慢性投与マウスと生理食塩水を慢性投与したマウス（コントロール）との比較に加えて、各々のマウスにおけるワーキングメモリー課題の影響

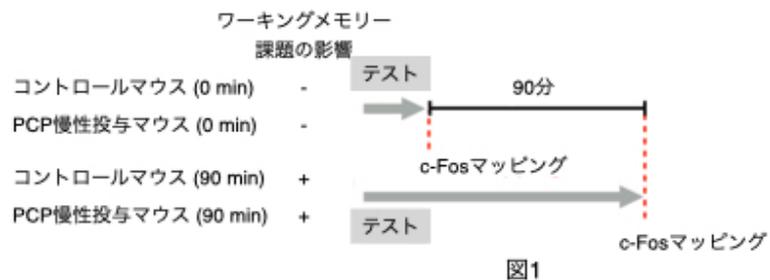


図1

の有無を検証することで、ワーキングメモリー障害の責任領域候補を探索した (図1)。

(2) ワーキングメモリー障害の責任神経回路の探索

同定したワーキングメモリー障害の責任領域候補において、PCP 慢性投与マウスがどのような神経回路異常を有するのかを共焦点顕微鏡によるイメージングを行い、組織学的に検証した。

具体的には、興奮性のグルタミン酸作動性シナプスの入力部位（ポストシナプス）である樹状突起スパインを含めた錐体細胞が GFP で標識されているトランスジェニックマウスを用いて PCP 慢性投与マウス及び対照群を作成し、前辺縁皮質における樹状突起スパインを共焦点顕微鏡で撮影し、デコンボリューション処理を行い、三次元立体構築した後、形態（mushroom 型、stubby 型、thin 型）及びスパイン頭部の大きさを定量的に解析した (図2)。スパインはその形態（頭部の大きさ）とその機能に顕著な相関がある、つまり形態を解析することによってシナプス機能を精度よく推測することが可能である。

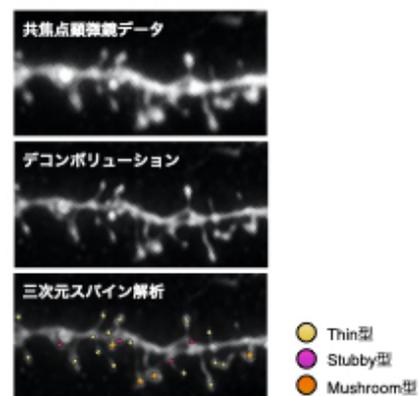


図2

また、興奮性及び抑制性神経終末にあるプレシナプスマーカー（皮質-皮質間の興奮性神経終末に発現する小胞性グルタミン酸トランスポーター（VGLUT）1、視床-皮質間の興奮性神経終末に発現する VGLUT2、抑制性の GABA 作動性介在神経終末に発現する GABA 合成酵素である GAD65、パルブアルブミン陽性神経細胞で発現するパルブアルブミン）を免疫組織学的に可視化し、共焦点顕微鏡で撮影し、デコンボリューション処理を行った後、粒子解析（蛍光強度、粒子密度、サイズ）を実施することによって、ワーキングメモリーの責任領域候補における神経回路異常を探索した。

4. 研究成果

(1) ワーキングメモリー障害の責任領域候補の同定

PCP 慢性投与による影響、及びワーキングメモリー課題の影響の有無による c-Fos タンパク質陽性細胞数を内側前頭前野皮質（前辺縁皮質、下辺縁皮質、前部帯状回皮質）、背内側及び背外側線条体、視床（背内側核、結合核、室傍核）、背側（歯状回、CA1、CA3）及び腹側海馬（CA1/海馬台）、黒質（背側、内側）、腹側被蓋野（内側、外側、束間核）で解析した。結果、ワーキングメモリー課題によって内側前頭前野皮質（前辺縁皮質、下辺縁皮質、前部帯状回皮質）、背内側線条体の一部、視床室傍核、腹側被蓋野で有意な c-Fos 陽性細胞数の増加が認められ、腹側海馬において有意な c-Fos 陽性細胞数の減少が認められた（図 3）。さらに興味深いことに、PCP 慢性投与マウスの前辺縁皮質 2-3 層及び背内側線条体の一部において、ワーキングメモリー課題によってコントロールと比較してさらに有意な c-Fos 陽性細胞数の増加が認められた（Arime et al., *PLoS ONE*, 2017）。このことは、ワーキングメモリー障害を示す PCP 慢性投与マウスでは、前辺縁皮質 2-3 層及び背内側線条体の一部においてワーキングメモリー課題負荷による過剰な神経活動を示唆している。この結果により、当初の目的である PCP 慢性投与マウスのワーキングメモリー障害の責任領域候補が同定できたと考えている。

(2) ワーキングメモリー障害の責任神経回路の探索

上記実験でワーキングメモリー障害の責任領域候補として同定した前辺縁皮質における神経回路異常を探索した。前辺縁皮質はヒトのワーキングメモリーネットワークの中核と考えられている背外側前頭前野皮質と類似したげっ歯類の脳領域であり、錐体細胞と呼ばれる離れた領域間を連絡する興奮性のグルタミン酸作動性神経と局所領域の神経活動を調整する抑制性の GABA 作動性介在神経から構成され、それらの神経ネットワークが協調的に機能して認知機能など高次機能を担っていると考えられている。

前辺縁皮質における樹状突起スパイン解析とシナプス解析を行った結果、PCP 慢性投与マウスにおいて 3 層における興奮性グルタミン酸作動性の錐体細胞の樹状突起スパイン減少が認められた。また、同領域において視床からの興奮性神経終末には異常が認められなかったが、他の皮質から前辺縁皮質 3 層への興奮性シナプス数が減少していた。さらに、GABA 作動性介在神経終末に発現する GAD65 陽性シナプス数には変化がなかったが、GABA 作動性介在神経の 1 種であるパルプアルブミン陽性バスケット細胞からの入力と考えられる 3 層錐体細胞の細胞体への抑制性シナプス数の減少が認められた（図 4）。

これらの結果は、PCP 慢性投与マウスの前辺縁皮質における特定の神経回路における異常を示唆する結果であり、PCP 慢性投与マウスの前辺縁皮質 3 層において興奮性入力と抑制性入力のバランス異常が明らかになり、ワーキングメモリー障害の神経回路基盤を成す可能性を示唆している。

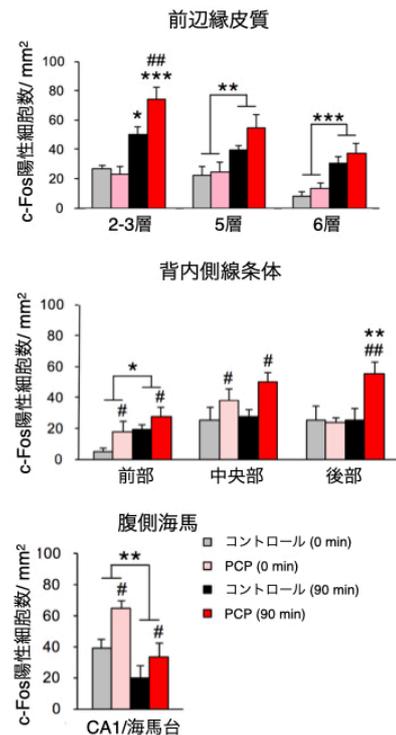


図3

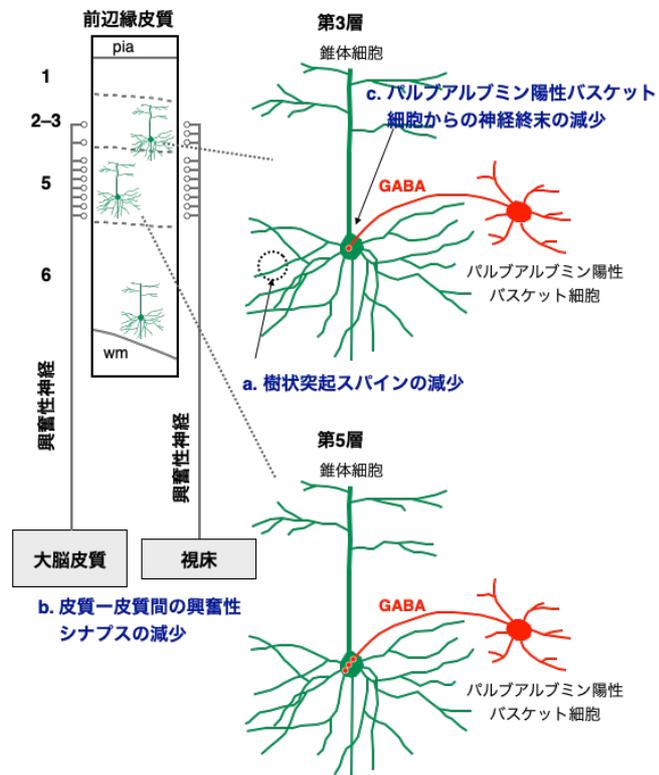


図4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Arime Yosefu, Akiyama Kazufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Abnormal neural activation patterns underlying working memory impairment in chronic phencyclidine-treated mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0189287
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0189287	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Arime Y, Akiyama K
2. 発表標題 Abnormal neural activation patterns underlying working memory impairment in chronic phencyclidine-treated mice.
3. 学会等名 The Society for Neuroscience (SfN) 48th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 有銘預世布, 秋山一文
2. 発表標題 Phencyclidine慢性投与マウスが示すワーキングメモリー障害の神経基盤の探索
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学学会大会 合同年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----