

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07337

研究課題名（和文）マウスを用いたプラセボ反応に関与する脳内機構の解明と神経疾患治療法の探索

研究課題名（英文）Analysis of the molecular and neural mechanism involved in the placebo response by using mouse models for neuronal diseases.

研究代表者

岸本 泰司 (Kishimoto, Yasushi)

帝京大学・薬学部・教授

研究者番号：90441592

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：様々な条件や系を変えることで当初の目的であったマウスに対するプラセボ反応の評価系を確立することができた。この系に対して、薬理学/遺伝子学的/脳破壊的処置の影響を評価することにより、プラセボ反応の脳内分子機序の一旦(主にはドパミン系とエンドカンナビノイド系)を明らかにできた。しかしながら、プラセボ反応中における皮質脳波解析では変化が見られず、しかし例数も少ないことから脳波の個体差に隠れてしまった可能性もある。神経疾患モデルマウス3種について解析し、一部の系統ではプラセボ効果による治療の可能性を示唆できた。また、実験者による実験結果の違い(実験者効果)については、現時点では解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスに対してプラセボおよびノセボ反応を再現性よく評価できる条件づけ系を確立した。拮抗薬、作動薬、合成酵素阻害剤などの効果を評価した結果、プラセボ反応におけるドパミン受容体やカンナビノイド受容体の重要性が明らかになった。さらに自閉症、統合失調症、アルツハイマー病の3モデルマウスに対して本システムを適応し、野生型マウスに比べ、それぞれ特徴的な変異を呈することを明らかにした。本研究の学術的意義はシステムの確立自体に加え、プラセボ反応の分子の実態の一端を解明したことにある。今後、医療や治験においてプラセボ効果を積極的に活かす、もしくは減じる方法論を提示するものでありその社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）： By changing various conditions and systems, we were able to establish a system for evaluating the placebo response in mice, which was our initial goal. By evaluating the effects of pharmacological, genetic, and brain-destructive treatments on this system, we were able to elucidate the molecular mechanisms of the placebo response in the brain (mainly dopamine and endocannabinoid systems). However, cortical EEG analysis during the placebo response showed no changes, but the small number of cases may have been masked by individual differences in EEG. We analyzed three mouse models of neurological disease and were able to suggest the possibility of treatment by placebo effect in some strains. In addition, differences in experimental results by experimenter (experimenter effect) are under analysis at this time.

研究分野：神経科学

キーワード：プラセボ反応 うつ病 疼痛 統合フレームワーク理論 モルヒネ 実験者効果

1. 研究開始当初の背景

- (1) プラセボ効果/反応 (placebo effect/response)とは、狭義には不活性物質である偽薬が、患者の様々な症状を改善する現象である。この現象は古代より経験的に医療に利用されてきたが、長らく自然科学研究の俎上には乗らなかった。近代以降、心理学が主にこの現象を取扱ってきたが2000年代以降、人間を対象として脳機能イメージングによるプラセボ鎮痛反応に関する研究が活発になり、これまでに前頭皮質、島皮質、前帯状皮質などが重要な脳領域として推定されている(Wager et al., Science 2003)。
- (2) 動物でもプラセボ反応が起こること自体は、パブロフ以来過去いくつかの報告がある(Herrnstein et al., Science 1962)。しかしながらプラセボ反応についてはモデル動物を活用した研究は限られており、特に齧歯類をモデル動物としたプラセボ研究は、その有用性は認識されていながら、再現性の点からも進展が見られない状況が続いていた。またプラセボは、沈痛効果だけではなく、うつ病や自閉症スペクトラムといった様々な認知・精神疾患に対して著効をもたらすが(Masi et al., Transl. Psychiatry 2015)、こうした分子メカニズムについては殆ど研究が進んでいない状況にあった。

2. 研究の目的

マウスに対してプラセボ反応を再現性よく評価できる実験系を開発し、プラセボ反応の脳内メカニズムを明らかにすることを主目的とする。統合フレームワーク理論の生物学的検証、神経伝達物質の役割、各脳領域の役割などを明らかにする。さらに、うつ病、アルツハイマー病、統合失調症などの各種神経疾患モデルマウスにおけるプラセボ反応の評価を試みる。併せて実験者が被験者の行動に及ぼす実験統制外の効果として知られる「実験者効果」についてもプラセボ反応の文脈として評価を行う。

3. 研究の方法

プラセボ鎮痛条件づけの大まかな実験方法は以下の記述の通りである。プラセボ抗うつ条件づけの手法は割愛した。

(1) 実験動物

野生型マウス(CL57BL/6J)の他に、MDGA1 KO マウス、MDGA2 KO マウス、アルツハイマー病モデルマウスとして rTg4510 マウスを使用した。

(2) 試薬

1. 無条件刺激(US)としてのモルヒネ塩酸塩 (10 mg/kg)は各行動実験開始 30 分前に腹腔内投与を行った。

2. プラセボ反応に関与する受容体を評価するために用いた試薬は以下の通りである。①ナロキソン、② 塩酸ナルトレキソン、③ アミスルプリド、④ プラミペキソール、⑤ プログルミド、⑥ リモナバン、⑦ URB597、⑧ URB602。

3. 行動課題として、ホットプレート試験を用いて、試験1(条件づけ試行)と試験2(評価試行)を行った。

試験1 午前にマウスを 55 °Cに保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動(足をなめる、立ち上がる、ジャンプなど)するまでの潜時を測定した。その後、透明なプラスチック製ケージ(215 mm × 320 mm、高さ 140 mm)に入れ、8時間間隔をあけた。午後はマウスに腹腔内投薬を行い、chamber(700 mm × 500 mm、高さ 600 mm)の中にある透明なプラスチック製の円筒(直径 11 cm、高さ 25 cm)にマウスを 30 分間入れ、55 °Cに保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの潜時を測定した。これを 4 日間、午前と午後を入れ替えて交互に行った。5 日目は、実験群とコントロール群に分けて実験を行った。実験群は午前に腹腔内投薬を行い chamber 中の円筒にマウスを 30 分間入れた後、55 °Cに保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの時間を測定した後、ケージに入れ 8 時間間隔をあけた。午後はモルヒネ、又はモルヒネと各薬(投薬 3 又は 4)を腹腔内投与し、ケージに 30 分間入れた後、55 °Cに保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの潜時を測定した。コントロール群は午前に生理食塩液を腹腔内投与し、chamber 中の円筒にマウスを 30 分間入れた後、55 °Cに保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの潜時を測定し、8 時間間隔をあけた。午後はモルヒネを腹腔内投与し、ケージに 30 分間入れた後、55 °Cに保た

れたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの潜時を測定した。

試験 2 午前には、マウスに PBS 又は各試薬を腹腔内投薬した 30 分後、55°C に保たれたプレート上に置き熱刺激を与え、鎮痛関連行動するまでの潜時を測定した。また、比較対象として腹腔内投薬を行わないマウス (NT) でも同じ操作を行った。午後には、PBS もしくはモルヒネを投与して潜時を測定した。

4. 研究成果

(1) マウスにおけるプラセボ/ノセボ条件づけの確立

試験 1 を 4 日連続で行ったのち、5 日目 AM に PBS を投与すると、4 日目 PM と 5 日目 AM との潜時の間で統計的有意差 ($p = 0.021$) がみられた (図 1)。すなわちこの結果は、モルヒネを投与していないにも関わらず、有意な鎮痛効果が得られたことを示し、マウスにおけるプラセボ鎮痛条件づけを確立できた。一方、4 日目 AM と 5 日目 PM との潜時では有意差 ($p = 0.37$) がみられなかった。新たな定量値として、プラセボ値 = 「5 日目 AM の潜時」 / 「4 日目 PM の潜時」、ノセボ値 = 「4AM の潜時」 / 「5PM の潜時」と定義した場合、前者は 205%、後者は 143% を示し、いずれにおいても増加傾向が示された。

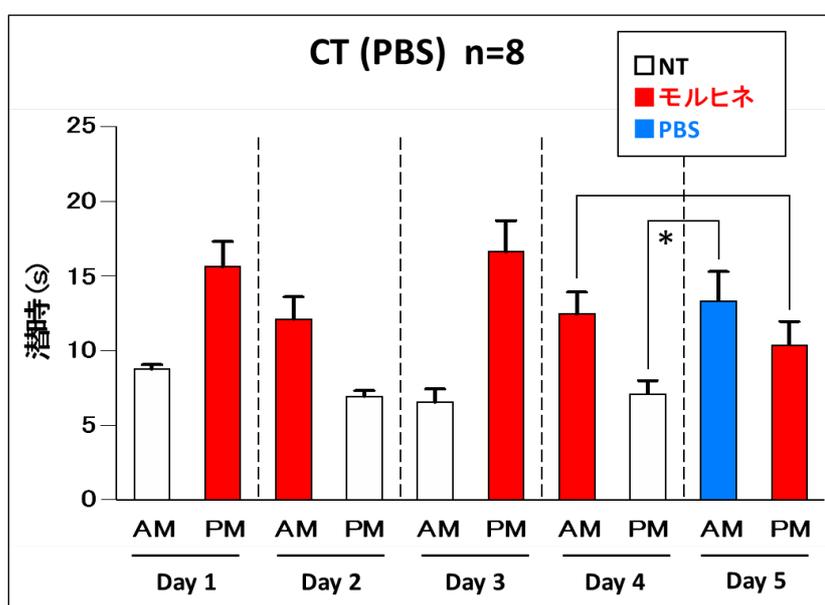


図 1. マウスにおけるプラセボ条件づけの結果

(2) マウスにおけるプラセボ条件づけに対する薬理的検証

以下に主な結果を示す。

- ① CT 群とナルトレキソン投与群のプラセボ値で、統計的有意差 ($p = 0.0047$) がみられ、ナルトレキソン投与はプラセボ反応を消失させた (図 2)。ナルトレキソンはオピオイドの μ 受容体に対する拮抗薬であり、本結果はマウスにおけるプラセボ反応が、実際にオピオイド受容体を介した現象であることを示唆するものである。

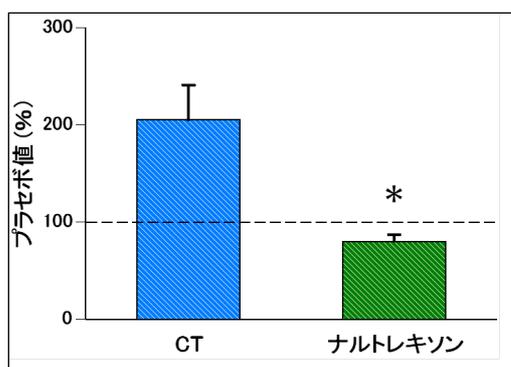


図 2. プラセボ反応に対するナルトレキシソンの効果

- ② CT 群とアミスプリド群との間でも、そのプラセボ値で、統計的有意差($p=0.049$)がみられた。アミスプリドはドパミン受容体拮抗薬であり、本結果は、ヒトと同様にマウスにおけるプラセボ反応でも、ドパミン受容体を介した分子機構がはたらいしていることを示唆するものである。
- ③ CT 群とプラミペキソール投与群(0.1, 4, 12 mg/kg)の間では、いずれの投与量でもプラセボ値に統計的有意差がみられなかった。プラミペキソールはドパミン受容体作動薬であり、プラセボ効果はドパミン受容体を活性化しても増強することはできないことを示唆する結果となった。
- ④ CT 群とリモナバン(3mg/kg)投与群の間では、そのプラセボ値に統計的有意差がみられた。リモナバンは CB1 受容体拮抗薬であり、プラセボ効果は内在性カンナビノイドを介した分子機構がはたらいしていることを示唆するものとなった。
- ⑤ ④の結果を受けて、その内在性カンナビノイドの生理的物質を明らかにするために、URB597 あるいは URB602 の効果を調べた。その結果、FAAH 阻害剤である URB597(0.3mg/kg)投与群ではプラセボ値の減少傾向がみられたものの、URB597(1.0 mg/kg)投与群ではほぼ変化をもたらさなかった。対して、モノアシルグリセロールリパーゼ(MGL)の阻害薬である URB602 (3mg/kg)では対照群に対して有意なプラセボ値の増加を見た($P = 0.045$)が検出された。これらの結果より、プラセボ反応における内在性カンナビノイドはアナンダマイドより 2-AG である蓋然性が高いと考察される。

(3) 遺伝子改変マウスへのプラセボ条件づけの適用

- ① 統合失調症モデルマウスとしての MDGA1 KO マウスでプラセボ/ノセボ反応を調べたところ、いずれの値も有意に減少していた。また、ヒトにおいてプラセボ反応を増強させることが知られているプログルミドを投与した上で MDGA1 KO マウスでプラセボ/ノセボ反応を再度確認したところ、プラセボ反応には影響をあたえなかったもののノセボ反応の回復が見られた。
- ② 自閉症モデルマウスとしての MDGA2 KO マウスでプラセボ/ノセボ反応を調べたところ、プラセボ反応では減少傾向がみられたものの統計的には有意でなかった。ただしノセボ反応では有意な減少が見られた。プログルミドの効果は、プラセボおよびノセボ反応のいずれにも影響を与えなかった。
- ③ アルツハイマー (タウパチー) 病モデルマウスである rTg4510 マウスでは、プラセボ反応の減弱が見られた。
- ④ MDGA2 KO マウスでは海馬 LTP の障害が検出され、野生型マウスへの海馬損傷はプラセボ効果には影響せず、ノセボ効果を有意に減少させた。これらの結果は、ノセボ反応には海馬の寄与が大きいことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tohyama Shoichi, Kishimoto Yasushi	4. 巻 47
2. 論文標題 Dataset of eyeblink conditioning in mice treated with the selective mGluR1 antagonist JNJ16259685	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Data in Brief	6. 最初と最後の頁 108935 ~ 108935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dib.2023.108935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masahisa Matsumura, Kana Sato, Takashi Kubota, Yasushi Kishimoto	4. 巻 36
2. 論文標題 Spatial and latent memory data in PS2Tg2576 alzheimer's disease mouse model after memantine treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Data in Brief	6. 最初と最後の頁 107031
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dib.2021.107131	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 -

1. 著者名 Hossain Md Razib, Jamal Mostofa, Tanoue Yu, Ojima Daiki, Takahashi Hiroo, Kubota Takashi, Ansary Tuba M., Ito Asuka, Tanaka Naoko, Kinoshita Hiroshi, Kishimoto Yasushi, Yamamoto Tohru	4. 巻 716
2. 論文標題 MDGA1-deficiency attenuates prepulse inhibition with alterations of dopamine and serotonin metabolism: An ex vivo HPLC-ECD analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 134677 ~ 134677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2019.134677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岸本泰司 中村裕子	4. 巻 26
2. 論文標題 動物モデルを用いたプラセボ反応の研究	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 臨床精神薬理	6. 最初と最後の頁 867 ~ 873
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佃 京華
2. 発表標題 プレパルス抑制が障害されるCuprizone誘発性脳内炎症モデルマウスの前頭前皮質と中脳におけるチロシンヒドロキシラーゼの存在量の相補的变化
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佃 京華
2. 発表標題 Cuprizone短期投与によりプレパルス抑制が障害されたマウスにおける統合失調症関連分子の免疫組織化学的研究
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佃 京華, 窪田 剛志, 千葉 葵, 岸本 泰司, 中島 健太郎
2. 発表標題 Cuprizone短期投与による脳内炎症モデルマウスは統合失調症様精神行動障害を示す
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岸本泰司、中村裕子、新開崇広、青野仁美、藤原友佳、大畑南美、松崎真也、山本融
2. 発表標題 Exploring the molecular basis of placebo response using mouse placebo analgesia conditioning
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松崎真也、萩かれん、中澤鈴菜、尾嶋大喜、山本融、窪田剛志、岸本泰司
2. 発表標題 MDGA1ノックアウトマウスの社会性行動に対するD-サイクロセリンの効果
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村裕子、新開崇広、青野仁美、藤原友佳、岸本泰司
2. 発表標題 マウスモデルを用いたプラセボ反応における内在性カンナビノイド受容体およびドパミン受容体の役割の解析
3. 学会等名 第58回日本薬学会日本薬剤師会日本病院薬剤師会中国四国支部学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新開崇広、中村裕子、青野仁美、藤原友佳、岸本泰司
2. 発表標題 プラセボ反応に対するドパミン受容体およびカンナビノイド受容体拮抗薬の効果
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

主催研究室のWebページ https://plaza.umin.ac.jp/~teikyo-physchem/ http://kp.bunri-u.ac.jp/kph/index-7.html researchmap https://researchmap.jp/read0109518 研究室のwebpage http://kp.bunri-u.ac.jp/kph/index-7-ja.html
--

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------