

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17093

研究課題名（和文）アデノシン2A受容体と統合失調症の病態の関連の解明

研究課題名（英文）The clarification of the relevance of adenosine 2A receptor to pathology of schizophrenia

研究代表者

守谷 俊平（MORIYA, SHUNPEI）

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：60647139

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：カルシウムイメージングシステムによるファイバーフォトメリー法を用いて脳内のモノアミン神経の疼痛ネットワークへの関連経路を探索した。急性の疼痛刺激時にドーパミン神経A13神経核及びセロトニン神経B9神経核の神経活動が急激に上昇することで疼痛ネットワークに両神経核が関連することを明らかにした。更に、B9神経核－腹側被蓋野神経経路及びB9神経核－青斑核神経経路が疼痛ネットワークに関連することを明らかにした。これは、下降性疼痛抑制系のネットワークシステムにおける新たな神経回路の関連を示唆するものであり意義の深いものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疼痛制御における脳内ネットワークについては下降性疼痛抑制系を中心に知られているが未解明な面も多い。A13ドーパミン神経核及びB9セロトニン神経核が疼痛ネットワークに関連する報告はこれまでになく意義がある。腹側被蓋野及び青斑核は下降性疼痛抑制系で知られており、B9セロトニン神経核からの神経経路が疼痛ネットワークに関連する所見は、下降性疼痛抑制系に関連する新たな神経回路を示唆するものであり、意義深いものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We used fiber photometry system adopting calcium imaging system and explored related brain monoamine neuronal circuit to nociceptive network. We showed that acute nociceptive stimuli increased neuronal activities of A13 dopamine neuronal nucleus and B9 serotonin neuronal nucleus. That indicated that both neuronal nucleus are meaningful parts in nociceptive network. Also, we showed that B9-ventral tegmental area circuit and B9-lucis coeruleus circuit are related to nociceptive network. That indicates new neuronal network related to descending antinociceptive system, and so meaningful.

研究分野：精神神経学

キーワード：ファイバーフォトメリー モノアミン神経 神経活動 疼痛ネットワーク

### 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は人口の約 1%程度が罹患する、急性の発症から慢性の経過を辿る精神疾患である。臨床症状の特徴として、幻聴を中心とした知覚異常、妄想思考、突然奇異な行動をきたす精神運動機能異常などの陽性症状が、臨床診断及び治療上重要である。主要な病態仮説としては、1966年に統合失調症の DA 仮説が提唱され(van Rossum JM., Arch Int Pharmacody Ther., 1966)、薬物治療においては、DA 神経をターゲットとするドーパミン D2 受容体(D2R)拮抗薬が主体である。さらに、その他にも様々な仮説が提唱されており、その中の一つとして、アデノシン 2A 受容体(A2AR) 仮説が 1994年に提唱され(Ferre et al., Neurosci., 1994)、これまでにいくつかの報告はあるが、詳細なメカニズムは明らかになっていない。また、A2AR と D2R の関連についても、これまでにいくつかの報告がある。A2AR と統合失調症の病態の関連について、より詳細に調べるためには、意識清明下の実験動物個体において、A2AR に作用する薬物を投与した際に、DA 神経活動がリアルタイムに測定されること、精神運動機能などの行動面の変化が画一的に測定されること、さらに DA 神経活動と行動面の変化の関連が特定の時間ごとに解析できることが最善である。近年、高感度カルシウムプローブによるイメージング技術の著しい発展により、高度な時間分解能での神経活動の測定が可能となった。申請者らは、カルシウムイメージングを利用したファイバーフォトメトリー法(FP法)を用いて、これまでに意識清明下の動物個体において、リアルタイムに脳内 DA 神経活動を記録することに成功している (Moriya et al., Neurosci., 2018)。A2AR 作動薬を用いた際の DA 神経活動を測定することにより、詳細な A2AR と DA 神経の関連メカニズムが明らかになる。また、申請者らは、Noldus 社の Ethovision 自動動画解析システム (Ethovision 法) を用いて、これまでに自由行動下の動物個体において、高度な時間分解能での瞬間的な動作の移動速度を、mobility という指標を用いて評価することに成功している。これにより、A2AR 作動薬を用いた際の、動作の質を詳細に解析することが可能と考えられる。実験動物個体として統合失調症モデルマウスである Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1) mutant マウスを用いることにより、統合失調症の精神運動機能への A2AR の関連について評価することが可能となる。このような背景から、本研究では、統合失調症の病態に関しての A2AR 仮説を明らかにすること、A2AR と DA 神経活動の関連を高い時間分解能で解析すること、A2AR をターゲットとした統合失調症の薬物療法を提唱することを目指す。

### 2. 研究の目的

FP 法は、光ファイバーとカルシウムプローブの G-CaMP6 を用いており、近年発展している最新の測定法である。中枢神経の DA 神経系は、主に脳幹を起始核としていくつかの投射経路を形成している。FP 法は、特定の箇所の神経活動をリアルタイムに非常に高い時間分解能で測定できる点で強い利点がある。Ethovision 法は、非常に高い時間分解能において、瞬時の動きの質を解析することが可能である。mobility という指標を用いて、瞬時の移動速度の速い方から順に、highly mobile、mobile、immobile と分類できること、全体として解析した際に、それぞれの mobility への移行頻度が解析できることなどの多岐な機能を有しており、モデルマウスとして、DISC1 mutant マウスを用いることにより、統合失調症における特に精神運動機能関連の陽性症状を解析評価することが可能となる。さらに、FP 法でのリアルタイムの DA 神経活動測定と Ethovision 法での瞬時の動きの動作解析を同時に施行することで、瞬時の DA 神経の神経活動と動作の質の関連の解析する。これにより、正常状態における経時的な動作と DA 神経活動の状態の変動、また、統合失調症病態においてのそれぞれの状態を評価することが可能である。それにより統合失調症の病態に伴う行動と神経活動の関連を理解することが可能である。

### 3. 研究の方法

高感度カルシウム蛍光プローブの G-CaMP6 を用いて FP 法で測定する。DA 神経特異的に GCaMP6 を発現させるために、DA 神経において、DA トランスポータープロモーター依存的に Cre リコンビナーゼを発現するマウス (DAT-Cre マウス) を用いる。このマウスの VTA 領域に、Cre 依存的に G-CaMP6 を発現させるアデノ随伴ウイルス (AAV-CAG-FLEX-GCaMP6-WPRE) を局所感染させ、VTA と投射先の NAc に G-CaMP6 を発現させる。VTA、NAc の直上に刺入した光ファイバーから青色励起光を照射し、同ファイバーから蛍光強度を検出することで、*in vivo* での DA 神経活動記録を施行する。Ethovision 法を用いて、CGS21680 を 6 日間連続投与された DISC1 mutant マウスにおいて、7 日目に、マウスの活動期 6 時間の行動測定を行う。mobility の指標を用いて、瞬時の移動速度を速い方から highly mobile、mobile、immobile に分類し、測定可能なその他の指標とともに、各時間と全体の時間での解析を施行する。特に、素早い動作である highly mobile の指標を、統合失調症の陽性症状の一つである精神運動機能異常との相関と考え、A2AR と統合失調症の病態の関連、及び、A2AR をターゲットとした薬物治療の構築の一助となることを目指す。FP を用いて、DAT-Cre マウスの VTA、NAc DA 神経活動を測定し、同時に Ethovision 法にて主

に mobility の測定を行う。経時的に解析し、特に highly mobile 時と immobile 時に、それぞれ FP 法にて DA 神経活動がどのように変動しているかを解析する。これにより、DA 神経活動とマウスの瞬時の動きの間の因果関係を明らかにする。ここまでの実験により A2AR VTA-NA 系 DA 神経活動 統合失調症の病態 それぞれの面について、 - の因果関係を明らかにし、統合失調症の病態理解を進め、また、新たな薬物治療ターゲットを選定していくことを目的とする。

#### 4 . 研究成果

研究機関を通じて脳内のモノアミン神経活動の測定を種々の実験条件下で測定した。ドーパミン(DA)神経系において、痛覚刺激時に A13DA 神経核の神経活動が急激に上昇することを明らかにした。ノルアドレナリン(NA)神経系において、痛覚刺激時に A5 / A7NA 神経核及び A6NA 神経核の神経活動が急激に上昇することを明らかにした。A13 神経核における痛覚への関連を示す所見はこれまでにほとんど報告がなく本所見は意義がある。A5/A7 神経核においても同様にほとんどこれまでに報告がなく本所見は意義がある。セロトニン(5-HT)神経系においては、B95HT 神経核-青斑核神経経路及び B95-HT 神経核-中脳腹側被蓋野神経経路の痛覚刺激時の神経活動を測定した、いずれの神経回路においても、B9 神経細胞体における 5-HT 神経活動及び神経軸索末端における 5-HT 神経活動が痛覚刺激時に急激に上昇することを明らかにした。下降性疼痛抑制系においては腹側被蓋野及び青斑核は重要な中継核となっていることから、本所見は下降性疼痛抑制系において新たな神経回路の関連を示唆するものであり意義がある。オレキシン神経系において、自由行動条件下のマウスに急性に嫌悪刺激を与えた際に、オレキシン神経活動の急激な上昇と心拍数が急激に上昇すること、その上昇がほぼ同時に起こることを明らかにした。心拍数は自立神経系指標の代表的なものであり、本所見は中枢神経系と末梢神経系のストレス反応時の連関を明確に示すものであり意義がある。アデノシン 2A 受容体と統合失調症の関連について、DISC1 モデルマウスを使用しての実験は現在進行中である。同マウスとコントロールのワイルドタイプにおいて、活動期の自由行動条件において経時的な mobility state の測定を実施した。そして、アデノシン 2A 受容体作動薬の腹腔内投与を亜急性投与した際のそれぞれの群の mobility state の測定を実施した。あわせて、FP 法を用いて DISC1 モデルマウスとワイルドタイプマウスの自由行動条件において、経時的に DA 神経活動を測定し、mobility state との関連を解析した。これらの所見を通じて、アデノシン 2A 受容体作動薬の統合失調症モデルマウスの自由行動及び DA 神経活動への寄与を検討した。一連の研究成果については、現在論文投稿作業を進行している段階である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Moriya Shunpei, Yamashita Akira, Masukawa Daiki, Setoyama Honami, Hwang Yunsu, Yamanaka Akihiro, Kuwaki Tomoyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Involvement of A13 dopaminergic neurons located in the zona incerta in nociceptive processing: a fiber photometry study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 1415 ~ 1416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00600-w	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 Moriya Shunpei, Takahashi Hitoshi, Masukawa Daiki, Yamada Makiko, Ishigooka Jun, Nishimura Katsuji	4. 巻 144
2. 論文標題 Ziprasidone, a second-generation antipsychotic, affects core clock gene mRNA expression in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 57 ~ 59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.06.005	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 Moriya Shunpei, Takahashi Hitoshi, Masukawa Daiki, Yamada Makiko, Ishigooka Jun, Nishimura Katsuji	4. 巻 145
2. 論文標題 Dual orexin receptor antagonist (DORA-12) treatment affects the overall levels of Net/maoA mRNA expression in the hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 198 ~ 201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2020.12.003	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 Moriya Shunpei, Yamashita Akira, Nishi Ryusei, Ikoma Yoko, Yamanaka Akihiro, Kuwaki Tomoyuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Acute nociceptive stimuli rapidly induce the activity of serotonin and noradrenalin neurons in the brain stem of awake mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IBRO Reports	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ibror.2019.05.005	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 Moriya Shunpei, Yamashita Akira, Masukawa Daiki, Kambe Yuki, Sakaguchi Junichi, Setoyama Honami, Yamanaka Akihiro, Kuwaki Tomoyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Involvement of suprallemniscal nucleus (B9) 5-HT neuronal system in nociceptive processing: a fiber photometry study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-0553-1	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 Moriya Shunpei, Yamashita Akira, Masukawa Daiki, Setoyama Honami, Hwang Yunsu, Yamanaka Akihiro, Kuwaki Tomoyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Involvement of A13 dopaminergic neurons located in the zona incerta in nociceptive processing: a fiber photometry study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-020-00600-w	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 -

[学会発表] 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 守谷俊平、山下哲、坂口純一、桑木共之
2. 発表標題 急性の嫌悪刺激は覚醒マウスの腹側被蓋野ドーパミン神経活動を急速に上昇させる
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 守谷俊平、山下哲、坂口純一、山中章弘、桑木共之
2. 発表標題 急性の痛覚刺激は意識清明下のマウスの脳幹のセロトニン神経及びノルアドレナリン神経の神経活動を急速に活性化させる
3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会年会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

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