

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：32203  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2020～2023  
課題番号：20K07925  
研究課題名（和文）臨床を反映した抗精神病薬慢性投与下におけるワーキングメモリー障害改善手法の探索

研究課題名（英文）Exploration for therapeutic strategy to improve working memory deficit in an animal model of schizophrenia under clinically relevant antipsychotic dose regimen

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） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症患者の認知機能障害は、機能的転帰に極めて重要であるにも関わらず治療法が未確立である。また、その神経回路病態の理解も不十分である。本研究ではフェンサイクリジン（PCP）を慢性投与したマウスのワーキングメモリー障害の責任神経回路の候補である、前辺縁皮質2-3層のバルブアルブミン陽性抑制性神経を化学遺伝学的に活性化することでPCP慢性投与マウスのワーキングメモリー障害を改善することに成功した。さらに重要なことに、この改善効果は抗精神病薬の慢性投与下でも発揮されていた。これらの知見は、統合失調症の認知機能障害の改善を目指した新たな治療戦略を提示し、今後の治療薬開発の一助となることが期待される。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症は多くが思春期から青年期に発症する慢性の精神疾患である。患者の機能的転帰に極めて重要であるにも関わらず有効な治療法のないアンメットメディカルニーズである。本研究で得られた成果は、統合失調症における前頭前野のバルブアルブミン陽性抑制性神経と認知機能障害の因果関係を支持する新たな証拠を提供するものである。加えて、前頭前野のバルブアルブミン陽性抑制性神経に対する摂動が抗精神病薬へのadd-on療法としても機能し、統合失調症の認知機能障害を改善することを目的とした創薬に新たな知見を提供する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Cognitive deficits in patients with schizophrenia, such as working memory, is critically important to functional outcomes, yet none produce meaningful improvements in cognitive deficits. In addition, their neurocircuit pathophysiology is not fully understood. In the present study, we have succeeded in ameliorating working memory deficit in mice chronically treated with phencyclidine (PCP) by chemogenetic activation of parvalbumin-positive interneurons in layers 2-3 of the prelimbic cortex, which we had identified as a candidate neural circuit responsible for the working memory deficit in mice chronically treated with PCP. More importantly, this improvement effect was also exhibited under chronic administration of antipsychotic drugs. These findings suggest a new therapeutic strategy to ameliorate cognitive deficits in schizophrenia and may assist in the development of future therapeutic agents.

研究分野：精神神経科学

キーワード：統合失調症 動物モデル 認知機能障害 前頭前野 パルブアルブミン陽性抑制性神経 抗精神病薬  
化学遺伝学 in vivoイメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

統合失調症は生涯有病率が 0.8~1%程度で、多くが思春期や青年期に発症する慢性の精神疾患である。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による薬物療法は、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。認知機能障害は患者の機能的転帰の極めて重要な予後予測因子であるにも関わらず、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。

これまでに研究者は、最も確立した統合失調症の薬理学的モデルの1つであるフェンサイクリジン (PCP) を慢性投与したマウスを用い、そのワーキングメモリ障害の責任領域候補として前頭前野の一領域である前辺縁皮質の2-3層を同定してきた。一方、実際の臨床現場に目を向けると、ドーパミン D2 受容体阻害作用を共通の機序として持つ抗精神病薬はワーキングメモリなどの認知機能障害には明確な有効性を持たないものの、幻覚・妄想などの陽性症状の改善には有効であり、急性期に加えて維持期、寛解期でも服薬継続が強く推奨されることから、統合失調症患者の認知機能障害を改善する手法を開発するためには、抗精神病薬の服薬下でも効果が発揮され、かつ抗精神病薬の抗精神病作用は阻害しない神経メカニズムを明らかにすることが重要である。

### 2. 研究の目的

そこで本研究の目的は、(1) 臨床用量を反映した抗精神病薬慢性投与下において、統合失調症モデルマウスのワーキングメモリ障害の病態神経回路を同定し、(2) 上記(1)で見出す病態神経回路の活動を特異的に操作することにより、統合失調症モデルマウスのワーキングメモリ障害に特化した改善手法を探索することである。

以上により、認知機能障害を直接治療することによる統合失調症患者の機能的転帰の改善を目指した、神経回路病態を基盤とした全く新しい治療戦略を提示する。

### 3. 研究の方法

統合失調症のモデルマウスとして PCP 慢性投与マウスを、ワーキングメモリの評価手法として T 字型迷路による遅延非場所合わせ課題を用いた。モデルマウスにおける抗精神病薬の治療効果の指標として、統合失調症患者の治療域として知られる線条体における 60~80%のドーパミン D2 受容体の持続的占拠とモデルマウスにおける急性の低用量 PCP への過感受性への抑制効果を指標とした。抗精神病薬であるハロペリドール、オランザピン、あるいは溶媒を充填した浸透圧ポンプをマウスの皮下に移植し、3日後、13日後、28日後に選択的ドーパミン D2 受容体アンタゴニストである S-ラクロプリド 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  を尾静脈に投与し、線条体と小脳を採取し、高速液体クロマトグラフィー-接続型質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いて試料中の S-ラクロプリドを定量することで各薬剤のドーパミン D2 受容体の占有率を算出した。抗精神病薬の薬効評価は、低用量 PCP に対する過活動に対する影響をオープンフィールド試験で解析し、その後に誘導される c-Fos タンパク質を発現する細胞数の計測によって神経活動の変動を解析することによって実施した。また、研究者が確立した抗精神病薬の慢性投与に対して治療抵抗性を示すモデルマウスの神経基盤を前辺縁皮質において組織学的に探索した(1. 樹状突起スパインの三次元解析、2. 皮質 皮質間のグルタミン酸作動性神経終末に発現する VGLUT1 と視床 皮質間のグルタミン酸作動性神経終末に発現する VGLUT2、3. GABA 作動性抑制性神経終末で発現する GAD65、4. パルブアルブミン (PV) 陽性抑制性神経終末で発現するパルブアルブミン)。見出した病態神経回路の候補の活動を化学遺伝学 (DREADDs) の人工受容体である hm3Dq とその特異的リガンドであるデスクロロクロザピン (DCZ) で特異的な摂動を与えることでワーキングメモリ障害の改善手法を探索した。また、in vivo 受容体結合試験で明らかにする抗精神病薬の慢性投与下でもワーキングメモリ障害への効果を検討した。神経回路活動の操作、計測には、DREADD の hm3Dq 受容体と蛍光カルシウムセンサータンパク質 GCaMP7 を用い、ニポウディスク型の共焦点顕微鏡による in vivo カルシウムイメージング法を適用した。

#### 4. 研究成果

##### (1) マウスにおける臨床を反映した抗精神病薬慢性投与法の確立

LC-MS/MS を用いたマウス線条体における *in vivo* ドーパミン D2 受容体占有率解析により、ハロペリドール 0.5 mg/kg/day で 13 日間、オランザピン 7.5 mg/kg/day で 28 日間、統合失調症患者での治療域（線条体における 60~80% のドーパミン D2 受容体の持続的占拠）を持続的に維持することができることがわかった。オランザピン 7.5 mg/kg/day は PCP 慢性投与マウスにおいて急性の低用量 PCP による過活動と側坐核シェル領域での c-Fos 発現細胞数の上昇を有意に抑制した。これらの結果は、統合失調症患者の抗精神病薬の服薬状況をマウスにおいて模倣する投薬方法が一定程度確立できたことを示唆している。

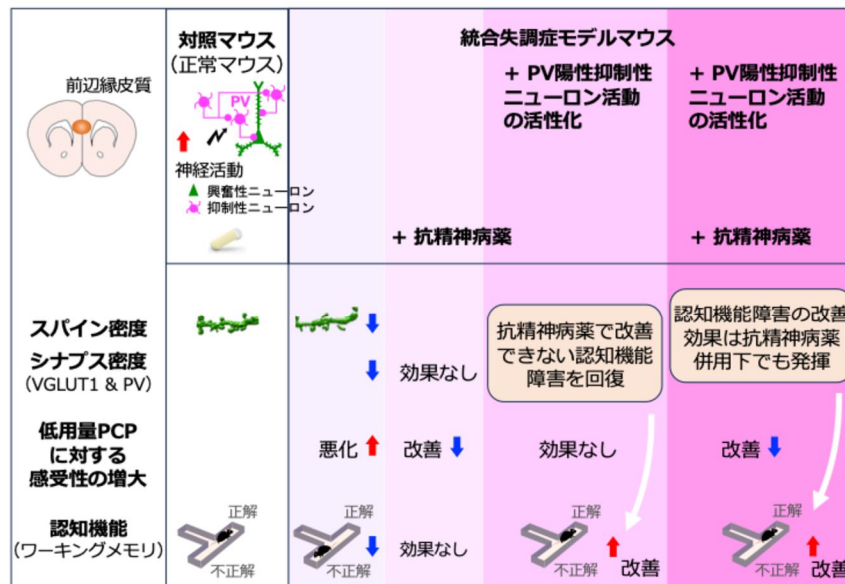
##### (2) 抗精神病薬の慢性投与に治療抵抗性を示す病態神経回路の候補の探索

オランザピン 7.5 mg/kg/day での 2 週間投与は PCP 慢性投与マウスのワーキングメモリ障害を改善しないことに加えて、前辺縁皮質 2-3 層における VGLUT1 陽性シナプスの減少や錐体細胞への PV 陽性抑制性神経細胞終末の減少にも影響を与えなかった。これらの結果は、抗精神病薬で改善できないワーキングメモリ障害を有するモデルマウスを見出したことに加え、前辺縁皮質の PV 陽性抑制性神経細胞異常が抗精神病薬に治療抵抗性を示す病態神経回路である可能性が示唆された。また、これらの結果は、死後脳研究などから提唱されてきた、背外側前頭前野における PV 陽性抑制性神経異常などの興奮性 / 抑制性神経バランス異常に関して、統合失調症における前頭前野 PV 抑制性神経とワーキングメモリ障害の因果関係を支持する新たな知見を提供するものである。

##### (3) 化学遺伝学的手法による PV 陽性抑制性神経の活性化とワーキングメモリへの影響

前辺縁皮質で興奮性 DREADD の人工受容体 hM3Dq と蛍光カルシウムセンサータンパク質 GCaMP7 を共発現する PV-Cre マウスの腹腔内に DCZ 3 µg/kg を投与することによって、同領域における PV 陽性抑制性神経活動の人為的な活性化を確認した。その条件でワーキングメモリへの影響を遅延非場所合わせ課題で検討したところ、生理食塩水慢性投与（コントロール）マウスでは課題中の反応潜時には変化がなかったが、有意な正答率の低下を示した。この結果は、オプトジェネティクスや化学遺伝学を用いた先行研究結果と一致している。一方、PCP 慢性投与マウスでは課題中の反応潜時には変化がなかったが、有意な正答率の上昇を示した。この結果は、hM3Dq と DCZ による前辺縁皮質の PV 陽性抑制性神経の特異的活性化が PCP 慢性投与マウスのワーキングメモリ障害を改善したことを示している。加えて、オランザピン 7.5 mg/kg/day で投薬中の PCP 慢性投与マウスにおいても、課題中の反応潜時には変化がなかったが、有意な正答率の上昇を示した。この結果は、hM3Dq と DCZ による前辺縁皮質の PV 陽性抑制性神経の特異的活性化による PCP 慢性投与マウスのワーキングメモリ障害改善作用は臨床用量を反映した抗精神病薬慢性投与下でも発揮されることを示唆している。さらに、hM3Dq と DCZ による前辺縁皮質の PV 陽性抑制性神経の特異的活性化は、急性の低用量 PCP による過活動をオランザピン 7.5 mg/kg/day が抑制する作用に対しては影響しなかった。

以上の結果より、前辺縁皮質における PV 陽性抑制性神経の特異的な活性化は、抗精神病薬への add-on 療法として機能し、統合失調症の認知機能障害を改善することを目的とした創薬に新たな知見を提供する可能性があることが示唆された（下図）。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 有銘 預世布	4. 巻 47
2. 論文標題 統合失調症におけるトランスレーショナルリサーチの現状と今後の展開	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dokkyo Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 175-182
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 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 Arime Yosefu, Saitoh Yoshito, Ishikawa Mikiko, Kamiyoshihara Chikako, Uchida Yasuo, Fujii Kazuki, Takao Keizo, Akiyama Kazufumi, Ohkawa Noriaki	4. 巻 49
2. 論文標題 Activation of prefrontal parvalbumin interneurons ameliorates working memory deficit even under clinically comparable antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology	6. 最初と最後の頁 720 ~ 730
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41386-023-01769-z	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9件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 有銘預世布、斎藤喜人、内田康雄、石河三貴子、上吉原千賀子、藤井一希、高雄啓三、大川宜昭
2. 発表標題 統合失調症マウスモデルにおける臨床を反映した抗精神病薬投与下での認知機能障害の新規治療戦略
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会・第65回日本神経化学会大会・第32回日本神経回路学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Arime Y
2. 発表標題 A novel therapeutic strategy for cognitive dysfunctions under clinically relevant antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia
3. 学会等名 Learning & Memory Meeting 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有銘預世布、齋藤喜人、内田康雄、石河三貴子、上吉原千賀子、藤井一希、高雄啓三、大川宜昭
2. 発表標題 バルブアルブミン陽性抑制性細胞の活動制御は臨床を反映した抗精神病薬慢性投与下でも認知機能障害を改善させる
3. 学会等名 BPCNP/PPP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤井久彌子、前川正充、齋藤尚大、篠崎將貴、有銘預世布、岡安寛明、下田和孝、尾関祐二
2. 発表標題 診断が統合失調症である症例で成人型ニーマンピック病C型の可能性を検討する
3. 学会等名 BPCNP/PPP4学会合同年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有銘預世布、齋藤喜人、内田康雄、石河三貴子、上吉原千賀子、藤井一希、高雄啓三、大川宜昭
2. 発表標題 フェンサイクリジン慢性投与マウスが示すワーキングメモリー障害は化学遺伝学的手法と臨床用量を反映した抗精神病薬慢性投与の併用によって改善される
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会・第1回CJK国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井久彌子、前川正充、衛藤義勝、齋藤尚大、篠崎將貴、有銘預世布、永島隆秀、岡安寛明、下田和孝、尾関祐二
2. 発表標題 『薬剤性』と判断される統合失調症のジストニアについて成人型ニーマンピック病C型の可能性を検討する
3. 学会等名 第43回日本生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会 合同年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤井久彌子, 前川正充, 齋藤尚大, 篠崎將貴, 有銘預世布, 岡安寛明, 下田和孝, 尾関祐二
2. 発表標題 不随意運動を認める症例シリーズ - 精神科臨床で成人型ニーマンピック病C型の可能性を考える -
3. 学会等名 第42回精神科診断学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 有銘預世布
2. 発表標題 統合失調症モデルにおける認知機能障害の改善 - 臨床への適用を目指して -
3. 学会等名 第7回包括的神経グリア研究会 (UNG2024)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Arime Y, Saitoh Y, Ishikawa M, Kamiyoshihara C, Uchida Y, Fujii K, Takao K, Akiyama K, Ohkawa N
2. 発表標題 Activation of prefrontal parvalbumin interneurons ameliorates working memory deficit even under clinically comparable antipsychotic treatment in a mouse model of schizophrenia.
3. 学会等名 35th World Congress, The International College of Neuropsychopharmacology (CINP) (国際学会)
4. 発表年 2024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
---------	---------