

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19495

研究課題名（和文）錯聴・幻聴の神経科学的な動物モデリングとその解析

研究課題名（英文）Animal Modeling of Hallucination and Its Neurobiological Analysis

研究代表者

那波 宏之（Nawa, Hiroyuki）

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：50183083

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：「幻聴」とは、言語聴覚認知システムの一部が崩壊し、誤作動していると考えられているものの、その神経科学的な脳内プロセスは多くの謎に包まれている。本研究では上皮成長因子受容体抗体や上皮成長因子を用いて、モデル動物を作成・評価したところ、抗体投与ではなく、因子投与により、一次聴覚野の無音過活動とその前頭葉皮質との神経活動連絡障害が再現された。この結果は、前頭葉からの予測情報の欠落により聴覚野は異常活動を起こし、幻聴を誘引しているという仮説を提起する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

幻聴や幻覚は、統合失調症や認知症において観察される代表的な病態であるが、その神経科学的メカニズムはいまだ、謎に包まれていた。本研究結果は、脳の聴覚皮質と前頭葉との情報連絡の障害は、音声文脈予測の統合異常を引き起こすため、幻聴を引き起こしているという仮説を提起する。この仮説を検証することで、当該脳疾患の治療法につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）："Hallucination" may stem from a malfunction of the speech-language-auditory cognitive system, but its brain processes are shrouded in many mysteries. In this study, model animals were created and evaluated by administering epidermal growth factor receptor antibody or epidermal growth factor itself. As a result, spontaneous hyperactivity in the primary auditory cortex and its impaired signal integration with the frontal cortex were observed in the animal model prepared with epidermal growth factor but not with its receptor antibody. These results raise the hypothesis that, after exposure to the inflammatory cytokine, the auditory cortex might produce an abnormal hyperactivity with the given lack of predictive information coding from the frontal cortex, possibly resulting in auditory hallucinations.

研究分野：認知脳科学

キーワード：幻聴 幻覚 統合失調症 モデル動物 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

覚醒剤中毒患者や統合失調症を発症したヒトは、しばしば「宇宙人に「お前は火星に來い！>>ここから飛び降りろ！>>と言われた」といった幻聴を聞く。患者はこのような「嘘の声」を、どのような脳内メカニズムで実際に耳から聞こえているように感じるのでしょうか。「幻聴」とは、言語聴覚認知システムの一部が崩壊し、誤作動や過活動していると考えられているものの、その神経科学的な脳内プロセスは多くの謎に包まれている。最新のヒト脳画像 (MRI) や脳波生理学研究は、幻聴・幻覚に関する脳科学的なヒントを与えている。統合失調症患者の幻聴体験時には大脳皮質 (一次聴覚野と、ブローカ野、運動野) が、まるで本当に音声言語を両耳から聞いているかのように活動するのである (Kuhn et al., 2014; Tamura et al., 2015)。また統合失調症患者おける聴覚生理反応障害などの研究から、幻聴が患者の聴覚認知異常に起因するエビデンスも集積しつつある (Javitt et al. 2015)。なかでも我々が注目しているのは、上皮成長因子の受容体 (EGFR) 抗体を用いたヒト抗ガン治療が、その投与直後に幻聴を惹起しうる事実である (Pfister et al., 2007; 長岡 他 2016)。また、上皮成長因子 (EGF) を新生児期投与した動物モデルでは、思春期に顕在化する認知学習障害、社会行動異常、錯乱行動といった統合失調症類似の病態を観察している (Sakai et al. 2014; 中村ほか 2015)。これらの現象は当該サイトカイン (EGF) と幻聴・幻覚との強い関係性を示唆している。

2. 研究の目的

ヒト失語症の研究から、おもに言語の聴覚認知プロセスには、ウイルニッケ野 (言語性聴覚野) やブローカ野 (言語性運動野 = 口腔運動野) が重要な働きをしていることが判明している。また、統合失調症患者の脳機能画像の研究から、実際に幻聴を体験しているとき、「あたかも実際に当該ヒト音声を両耳で聞いている」かのように、これら大脳皮質での連合的神経活動が観測される。特に本研究ではヒトで幻聴誘発能力のある上皮成長因子受容体抗体や、上皮成長因子を用いた統合失調症モデル動物を用いて、上皮成長因子受容体 (EGFR) 抗体投与後の聴覚活動、当該モデル動物の無音での一次聴覚野の自発活動、一次聴覚野と前頭葉の神経活動とその同期性・連合性を解析し、幻聴体験時のヒト脳活動パターンと比較した。これらの実験結果を通して「幻聴」や「錯聴」の脳内プロセスの再現を試みるとともに、EGF シグナルと聴覚認知異常、つまり「幻聴」との関係性に迫る神経科学的エビデンスを取得することを目標とした。

3. 研究の方法

ヒト型 EGF 受容体抗体 (Cetuximab) と上皮成長因子 (EGF) はヒト型を購入した。Cetuximab の脳内作用を評価するため、ヒト型 EGFR 遺伝子のノックインマウスを共同研究者の Sibilialia 教授より入手し、Cetuximab (5-50 μ g) の脳室内急性投与を、あらかじめ第 3 脳室へ留置しておいたカニューレを介して実施した。EGF 自身の急性脳活動への影響評価については、野生型 SD ラットを用いて EGF (2 μ g) の脳室投与を行った。それらの大脳皮質活動への影響は、投与 2 - 3 時間後の各大脳皮質部位における Fos や、Arc, EGR1 遺伝子の活性化レベル変化をウエスタン法で判定した。

EGF シグナルの慢性的影響は、上皮成長因子をラット新生児期に連続皮下投与して作成した統合失調症モデル動物を用いて評価した。成熟した当該モデルラットの前頭葉、一次聴覚野、小脳に硬膜上電極を留置したのち、約 2 週間後から脳波と音刺激性の事象関連電位を測定した。ラットは社会行動時に 3 種類の鳴き声を発して低次のコミュニケーションをするので、あらかじめ録音しておいたラットの陽性鳴き声と似通った音程の純音 (5.5 kHz) を 75 dB 音圧でラットに 200 回聞かせて、その言語関連処理能力を分析した。その脳波と事象関連電位を取得後、フーリエ変換、ウェーブレット変換により、その特徴を分析した。加えて、当該モデルラットの無音自由行動下での自発性一次聴覚野活動を、一次聴覚野にあらかじめ埋め込んだタングステン電極からの単一細胞記録を実施し、コントロールラットの頻度と比較した。さらに電極の代わりに、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて一次聴覚野にカルシウムセンサーである GCAMP 遺伝子を発現させ、GCAMP 蛍光をファイバーフォトメトリー法で計測することで、自発性一次聴覚野活動の強度を推定した。

4. 研究成果

(1) 課題：上皮成長因子受容体抗体や上皮成長因子の脳内注入による幻の聴覚野活動の惹起
 ヒトがん患者で幻聴誘発能力が存在すると報告のある上皮成長因子受容体抗体 (Cetuximab) を使って、その聴覚野活性化能を検証するモデル動物実験を実施した。ヒト型上皮成長因子受容体を発現するノックインマウス (hEGFR-KI) を受精卵より繁殖させた。この hEGFR-KI マウスと野生型マウスに対し、その第 3 脳室に停留させたカニューレより Cetuximab を 5 マイクログラム投与し、1 時間経過後に一次聴覚野を含む 4 部位の組織を採取した。ウエスタンブロット法により、脳部位での上皮成長因子受容体リン酸化レベル、並びに神経活動マーカー EGR1 と Fos 発現を調べた。残念ながらリン酸化及び、神経活動マーカーの上昇も観察できなかった。Yoshida T (2008) らの報告では、Cetuximab には上皮成長因子受容体の 2 量体化を介するリン酸化能があることになっている。そこで培養 U87 グリオーマを用いて用いた Cetuximab の当該活性を調べたところ、20 分後より、弱いリン酸化 (Y1173) しか観察されなかった。これらの結果より、入手した Cetuximab の品質への疑念もしくはその活性化の必要条件の欠損が推定された。

他方、上皮成長因子の直接投与により、脳内 EGF シグナルと一次聴覚野活動との関係性を探求した。成熟後ラットの脳室内への上皮成長因子投与では、一次聴覚野を含む皮質の広領域で、Fos 遺伝子、EGR1 遺伝子の活性化、つまり神経活動亢進が観察された。一方、上皮成長因子の新生児期投与モデルでは、その成熟後、EGR1 遺伝子の活性化が同様に観察されたが、その部位は一次聴覚野に限局していた。なぜ、EGR1 遺伝子の活性化が新生児期投与モデルでは一次聴覚野に限局しているかは、大変、興味深い現象であったが、今のところ、その理由を適切に説明できていない。

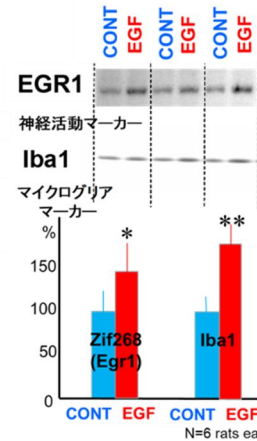


図 1：EGFモデル聴覚皮質の慢性的過活動

(2) 課題：統合失調症モデル動物における一次聴覚野活動と前頭葉皮質活動の同期性と異常性
 上皮成長因子の新生児期投与モデルの一次聴覚野では、統合失調症患者でみられるような一次聴覚野の過活動が確認されている。そこでさらに、このモデルでヒト統合失調症患者でも見られるような高次聴覚：言語神経回路にも神経解剖学的な異常、大脳生理学的な障害があるかどうか検討した。当該モデルでは、一次聴覚野から前頭葉への神経線維投射に異常があること、無音時でも一次聴覚野と前頭葉間の脳波の同期性が高いことが判明した。後者異常な聴覚野：前頭葉間の異常な脳波同期性は、抗精神病薬の投与で劇的に改善することが判明した。当該モデル動物では、一次聴覚野から前頭葉への神経線維投射が欠損しているにもかかわらず、安静時の聴覚野と前頭葉間の機能的結合性が高いのは、聴覚野情報が迂回経路を使い大幅に増幅されて前頭葉に到達している、もしくは聴覚野にフィードバックされている可能性を示唆するが、この説明は幻聴の仮説とも矛盾しない。

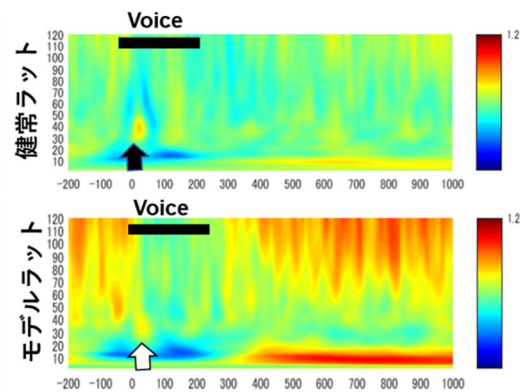


図2：鳴き声誘発性の聴覚皮質：前頭葉間脳波同期性

(3) 課題：統合失調症モデル動物における自発的・一次聴覚野活動の測定とその幻聴の関連性
 それでは統合失調症モデルで、幻聴を反映する無音下での一次聴覚野神経細胞の自発活動は起きているのであろうか。独語のような自分の鳴き声による一次聴覚野活動と区別するため、超音波領域に至る広域周波数をモニターできるシステムを構築した。そのうえで、当該モデルラット、もしくは健康ラットを防音チャンパーにいれて、その一次聴覚野から自由行動下での細胞外神経活動記録を実施した。モデルラットでは、音反応性細胞の活動が、無音下でもバースト発火を示すケースが多く存在した。このようなユニットレベルでのバースト発火が、より広範に聴覚野

に広がっているかどうか GCAMP 蛋白を用いたカルシウムイメージングで検証した。結果、モデルラットにおいて、無音下にもかかわらず、数秒間にわたる GCAMP の活性化、つまりは広範な神経活動が一次聴覚野で観察された。この結果は、当該モデルラットが音刺激のない状態で、幻聴に類するなんだかの音を、無音下にもかかわらず認知している可能性を示唆する。

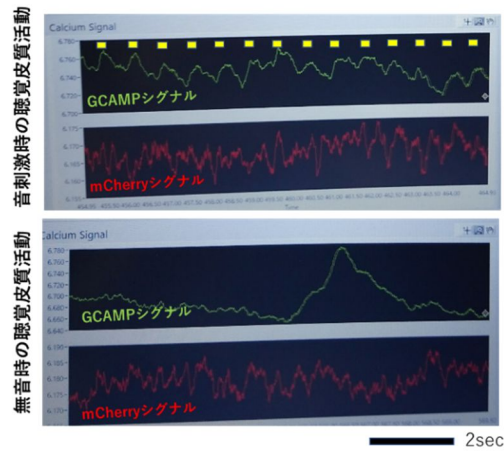


図3：有音下・音無音下でのEGFモデルの聴覚皮質Ca活動

< 参考論文 >

- Kuhn et al., *Frontiers Psycho* 5; 1393 (2014)
- Javitt et al., *Nat Review Neurosci* 16, 535-550 (2015)
- Sakai et al., *J Add Res Therapy* 5;170 (2014)
- Tamura et al., *Sci Rep* 5; 8779 (2015)
- Wible et al., *Schizo Bul* 1 35; 47-57 (2009)
- 長岡敦子 他 38回日本生物学的精神医学会(福岡)(2016)
- 中村克樹 他 京都大學霊長類研究所年報 45; (2015)
- Pfister DG et al., *J Clin Oncology* 24: 1072-1078 (2006)
- Yoshida T et al., *Int. J. Cancer* 122, 1530 (2008)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 那波宏之
2. 発表標題 統合失調症の動物モデル化の苦難；分子生物学から神経病態生理学を用いて
3. 学会等名 日本臨床神経生理学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyuki NAWA
2. 発表標題 Delirium-like motor behaviors induced by the negative alert voice in a rat model for schizophrenia
3. 学会等名 国際幻聴コンソーシアム京都，京都大学、平成30年10月18日（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 那波宏之
2. 発表標題 幻聴・幻覚はどうして起きるのか？
3. 学会等名 日本神経化学会若手育成セミナー（招待講演）
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
---------------------------	-----------------------	----

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			
オーストリア	Medical University of Vienna			