

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08033

研究課題名(和文)統合失調症モデルマウスを用いた「幻覚・妄想」の神経基盤の解明

研究課題名(英文)Neural basis of "Hallucination and delusion" using schizophrenia mouse models

研究代表者

三輪 秀樹 (Miwa, Hideki)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・室長

研究者番号：80468488

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)：「幻覚・幻聴」の神経基盤として、そのモデルとしてdrug-induced psychosis物質誘発精神病モデルを利用し、ケタミンを含むPCP系薬物のNMDA受容体応答性に関するNR2サブユニット構成および標的神経回路を明らかにすることを目標にした。海馬、扁桃体、視床、前頭前野を含む急性スライス標本を作製し、パッチクランプ法による電気生理学的解析によりサブユニット特異的反応性について解析した。その結果、細胞種毎に、メマンチン、ケタミン、PCPのNMDA受容体への反応性が異なることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

「幻覚・妄想」は、統合失調症「陽性症状」の主訴であるが、これらの症状はアルツハイマー病を含む精神神経疾患でも観察される。このことは、異なる精神神経疾患間においても、共通の分子・細胞・神経回路の異常が存在することが推察される。したがって、本研究成果は、統合失調症だけでなく、他の精神神経疾患を含む、幻覚・妄想の症状の神経基盤を明らかにすることができる。さらに、将来的には、これらの研究成果をもとに、幻覚・妄想の新規治療薬の開発につなげることができると考えている。

研究成果の概要(英文)：As for the neural basis of delusion and hallucination, we aimed to reveal the responsibility of the NMDA receptor and target neural circuit to psychedelic NMDA receptor antagonist, including ketamine and phencyclidine. In this study, we performed in vitro electrophysiological analysis of response of NMDA receptors in the various brain regions to NMDA receptor antagonists, including memantine, and ketamine. As a result, these responsibilities of NMDA receptors are different between cell types.

研究分野：脳神経科学

キーワード：統合失調症 モデルマウス 幻覚 視床 NMDA受容体

1. 研究開始当初の背景

幻覚・妄想は統合失調症の最も典型的で衰弱性の主訴である。さらには、気分障害、パーキンソン病、アルツハイマー病、一部の一般人でさえも観察される精神現象である。幻覚・妄想は「ヒト特有の病理現象である」という考えが一般的であり、ほとんどの研究ではヒト患者を対象とした、fMRI のような主に機能的脳イメージングを用いて実施されているが、神経生物学的基盤は不明のままである。一方、精神疾患の主な症状に関連する行動およびその分子・細胞・神経回路基盤に関する生理学的研究には、動物モデルによる行動実験が大きな貢献をしてきた。例えば、恐怖などの情動学習行動には、フリージング(震え)行動を評価し、扁桃体のシナプス可塑性を含む神経回路の変化をそのモデルシステムとして捉え、その神経基盤の解明が目指されている。しかしながら、現在までのところ、「幻覚・妄想」を適切に評価できる行動実験およびその神経回路の基盤については、確立されておらず、統合失調症の病態およびそれに基づく新規治療薬の開発が画期的に発展していない要因の1つであると考えられる。また、本研究計画で使用する、バルブアルブミン(PV)陽性特異的 GAD67 ノックアウトマウスは、統合失調症死後脳解析結果にもとづく「GABA 仮説」を、マウスを用いて検証し、その結果、統合失調症様中間表現型を呈することを見出し、上記の分子発現変化は統合失調症発症の病因の一部であることを示唆し、申請者が世界に先駆けて行った研究成果である。本研究では、幻覚・妄想のモデル行動システムを確立し、「GABA 仮説」に基づいた統合失調症モデルマウスにおいて、「幻覚・妄想」に関与すると考えられているドーパミン神経系の異常について解析し、「GABA 系-ドーパミン系」の相互作用を明らかにすることで、「幻覚・妄想」の分子・細胞・神経回路基盤を明らかにする。

2. 研究の目的

幻覚・妄想の神経基盤として、抗精神病薬としてドーパミン D₂ 受容体拮抗薬が使用されていることから、ドーパミンシステムの関与が促される。また、ケタミンやフェンサイクリジンなど NMDA 受容体拮抗薬は幻覚剤でもあることから、NMDA 受容体を介するシグナルも幻覚・妄想の神経基盤に存在することが推測される。本研究では、ドーパミン作動性ニューロンの動態に着目し、その標的として、感覚ゲーティングを担うとされる視床網様核や注意の情報処理に関わっているとされる前頭前野の神経調節機構を明らかにするため、ドーパミン作動性ニューロンを化学遺伝学により細胞活動を制御したり、GCaMP による *in vivo* Ca²⁺ イメージングにより神経活動の挙動を可視化したり、ケタミンやフェンサイクリジンの NMDA 受容体の作用機序を明らかにしたりすることで「幻覚・妄想」の神経基盤を明らかにする。以上から、統合失調症の主訴の1つである幻覚・妄想の神経基盤を明らかにするだけでなく、これらの研究成果をもとに、新たな統合失調症の治療法、治療薬、予防法の開発につなげていく基盤を構築することを目標とする。

3. 研究の方法

DAT-Cre;tdTomato マウスに対して、逆行性神経トレーサーであるコレラ毒素 B サブユニット(CTB)[CTB-488 および CTB633]あるいは逆行性アデノ随伴ウイルス rgAAV-flex-GFP を前頭前野(Infralimbic cortex)および側坐核にそれぞれインジェクションし、腹側被蓋野におけるそれぞれのドーパミン神経の起始部の分布を解析した。あるいは逆行性アデノ随伴ウイルス rgAAV-flex-GFP を前頭前野(Infralimbic cortex)および側坐核にそれぞれインジェクションし、中脳皮質ドーパミン系路および中脳辺縁系ドーパミン系路の分布を解析した。また、化学遺伝学的手法により、腹側被蓋野の神経活動を活性あるいは抑制することによる、行動変化をオープンフィールド試験、プレパルス抑制試験など統合失調症との関連性を念頭に解析し、AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry をインジェクションをしたマウスはオープンフィールド試験に置いてコントロールマウスと比較して過活動を示した。当初の計画とは異なり、複数のプロジェクトを同時並行させながら進行させている。「幻覚・幻聴」の神経基盤として、そのモデルとして drug-induced psychosis 物質誘発精神病モデルを利用し、ケタミンを含む PCP 系薬物の NMDA 受容体応答性に関する NR2 サブユニット構成および標的神経回路に関しても、海馬、扁桃体、視床、前頭前野を含む急性スライス標本を作製し、パッチクランプ法による電気生理学的解析によりサブユニット特異的反応性について解析した。

4. 研究成果

DAT-Cre;tdTomato マウスに対して、逆行性神経トレーサーであるコレラ毒素 B サブユニット(CTB)[CTB-488 および CTB633]あるいは逆行性アデノ随伴ウイルス rgAAV-flex-GFP を前頭前野(Infralimbic cortex)および側坐核にそれぞれインジェクションし、腹側被蓋野におけるそれぞれのドーパミン神経の起始部の分布を解析した。あるいは逆行性アデノ随伴ウイルス rgAAV-flex-GFP を前頭前野(Infralimbic cortex)および側坐核にそれぞれインジェクションし、中脳皮質ドーパミン系路および中脳辺縁系ドーパミン系路の分布を解析した。また、化学遺伝学的手法により、腹側被蓋野の神経活動を活性あるいは抑制することによる、行動変化をオープンフィールド試験、プレパルス抑制試験など統合失調症との関連性を念頭に解析し、AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry をインジェクションをしたマウスはオープンフィールド試験に置いてコントロールマウスと比較して過活動を示した。当初の計画とは異なり、複数のプロジェクトを同時並行させながら進行させている。「幻覚・幻聴」の神経基盤として、そのモデルとして drug-induced psychosis 物質誘発精神病モデルを利用し、ケタミンを含む PCP 系薬物の NMDA 受容体応答性に関する NR2 サブユニット構成および標的神経回路に関しても、海馬、扁桃体、視床、前頭前野を含む急性スライス標本を作製し、パッチクランプ法による電気生理学的解析によりサブユニッ

ト特異的反応性について解析した。スクロース過剰摂取による統合失調症発症リスクを明らかにするため、新たな統合失調症モデルマウスとして、Glo1 ヘテロノックアウトマウスにスクロース含有食を施したマウスについて、組織学・行動学、電気生理学的解析を行い、糖分過剰摂取による統合失調症発症リスクの増加の可能性について明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Shinobu Hirai, Hideki Miwa, Tomoko Tanaka, Kazuya Toriumi, Yasuto Kunii, Takuya Sakamoto, Mizuki Hino, Ryuta Izumi, Atsuko Nagaoka, Hirooki Yabe, Tomoya Nakamachi, Seiji Shioda, Takashi Dan, Toshio Miyata, Yasumasa Nishito, Hiroko Shimbo, Kazuhiro Suzuki, Mitsuhiro Miyashita, Masanari Itokawa, Makoto Arai, Haruo Okado	4. 巻 Posted October 06
2. 論文標題 Brain Angiopathy and Impaired Glucose Metabolism in Model Mice with Psychiatric-Related Phenotypes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv.	6. 最初と最後の頁 1-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2020.02.14.939546	査読の有無 無
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 Miwa H, Kobayashi K, Hirai S, Yamada M, Watanabe M, Okado H, Yanagawa Y.	4. 巻 Posted October 27
2. 論文標題 Roles of GABA Signaling in Directing Basket Cell Axonal Projections Toward Purkinje Cells in the Cerebellum.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 1-34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21203/rs.3.rs-95440/v1	査読の有無 無
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 三輪秀樹, 平野羊嗣	4. 巻 3(4)
2. 論文標題 統合失調症におけるトランスレータブル脳指標としてのガンマ帯域オシレーションとノンレム睡眠スピンドル波.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本生物学的精神医学会誌	6. 最初と最後の頁 190-200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11249/jsbpjpp.31.4_190	査読の有無 無
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 Osana M, Miwa H, Tamura A, Kikuta S, Iguchi Y, Yanagawa Y, Kobayashi K, Katayama N, Tanaka T, Mushiake H.	4. 巻 1293
2. 論文標題 Multimodal Functional Analysis Platform: 1. Ultrathin Fluorescence Endoscope Imaging System Enables Flexible Functional Brain Imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol.	6. 最初と最後の頁 471-479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-15-8763-4_31.	査読の有無 無
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 Shibasaki Koji, Yamada Katsuya, Miwa Hideki, Yanagawa Yuchio, Suzuki Michiyasu, Tominaga Makoto, Ishizaki Yasuki	4. 巻 100
2. 論文標題 Temperature elevation in epileptogenic foci exacerbates epileptic discharge through TRPV4 activation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 274 ~ 284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-019-0335-5	査読の有無 無
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 Miwa Hideki, Kobayashi Ken, Hirai Shinobu, Yamada Mitsuhiko, Watanabe Masahiko, Okado Haruo, Yanagawa Yuchio	4. 巻 Published: 21 October 2021
2. 論文標題 GAD67-mediated GABA Synthesis and Signaling Impinges on Directing Basket Cell Axonal Projections Toward Purkinje Cells in the Cerebellum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Cerebellum	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12311-021-01334-8	査読の有無 無
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 Otsuka Rina, Naganuma Fumito, Nakamura Tadahito, Miwa Hideki, Nakayama-Naono Rumi, Matsuzawa Takuro, Komatsu Yurika, Sato Yuki, Takahashi Yuna, Tatsuoka-Kitano Haruna, Yanai Kazuhiko, Yoshikawa Takeo	4. 巻 212
2. 論文標題 Contribution of astrocytic histamine N-methyltransferase to histamine clearance and brain function in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuropharmacology	6. 最初と最後の頁 109065 ~ 109065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuropharm.2022.109065	査読の有無 無
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 Inoue Yukiko U., Miwa Hideki, Hori Kei, Kaneko Ryosuke, Morimoto Yuki, Koike Eriko, Asami Junko, Kamijo Satoshi, Yamada Mitsuhiko, Hoshino Mikio, Inoue Takayoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0423 ~ 21.2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0423-21.2022	査読の有無 無
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 Fujiyama Tomoyuki, Takenaka Henri, Asano Fuyuki, Miyanishi Kazuya, Hotta-Hirashima Noriko, Ishikawa Yukiko, Kanno Satomi, Seoane-Collazo Patricia, Miwa Hideki, Hoshino Mikio, Yanagisawa Masashi, Funato Hiromasa	4. 巻 16
2. 論文標題 Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 02 June 2022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2022.910461	査読の有無 無
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4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 三輪秀樹
2. 発表標題 視床網様核におけるGAD67遺伝子欠損のノンレム睡眠スピンドル波発生及び睡眠依存 性記憶固定への影響
3. 学会等名 日本睡眠学会第44回定期学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪秀樹
2. 発表標題 「オプトジェネティクスによる精神疾患病態解明」
3. 学会等名 東京工業大学 生命理工オープンイノベーション 第6回 LiHubフォーラム 光先進医療 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪秀樹
2. 発表標題 統合失調症モデルマウスにおけるノンレム睡眠スピンドル波異常
3. 学会等名 第21回応用薬理シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三輪秀樹
2. 発表標題 An animal model based on GABA hypothesis of schizophrenia and its phenotypes
3. 学会等名 The 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP2019) (招待講演) (国際学会)
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
研究分担者	山田 光彦 (Yamada Mitsuhiro) (60240040)	国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所 精神薬理研究部・部長 (82611)	

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