

統合失調症霊長類モデルの確立

京都大学霊長類研究所高次脳機能分野

鴻池 菜保

背景と目的

統合失調症は、罹患率1%と、決して稀ではない精神疾患であり、遺伝要因と環境要因の両者の関与によって発症すると考えられている。しかし、その原因や症状を引き起こす神経メカニズムなど未だ十分に解明されていない。発症機序や病態を解明し、新規治療法を開発するためには、疾患モデル動物が不可欠である。しかし、統合失調症は社会行動や認知行動の障害を主症状とするため、前頭葉が未発達で非常に小さいげっ歯類での評価には限界がある。精神症状および社会性の評価、認知機能の評価には霊長類モデルが必要である。

一方で、動物は幻聴や幻覚、妄想などの特徴的な症状を自ら説明することができないため、精神神経症状の評価が非常に難しい。このため、疾患モデル動物において、客観的に脳機能の評価が可能となる神経生理学的バイオマーカーの確立が必要となる。霊長類では性成熟に数年単位の期間が必要であり、げっ歯類に比べて疾患モデルを作出するサイクルは長くなる。また、産仔数が1-2頭であり、その希少性も高い。このため、脳機能の測定には非侵襲的な手法が望まれる。ヒトの診断基準が適応できない精神疾患モデル動物の妥当性を評価するため、非侵襲的な脳波測定の方法を確立することが本研究の目的である。

サイトカイン異常は統合失調症のリスクになると考えられている。インターフェロン治療や感染などを契機にしたサイトカイン曝露により精神症状が出現することや、ヒト統合失調症の死後脳ではサイトカイン発現の異常が見られることも統合失調症のサイトカイン仮説を支持する。げっ歯類では、新生児期にサイトカインを人為的に投与することで統合失調症様の行動異常を呈するマウスが作出できることが報告されている (Futamura et al., 2003)。新生児期サイトカイン曝露法は、①若齢期になり初めて症状が出現する点、②サイトカインの上昇という実際生体に起こり得る現象を模倣している点、③成熟個体に投与しても発症しないことから神経発達障害が関与していることを裏付ける点、からも非常に優れた統合失調症動物モデル作出方法と考えられる。

京都大学霊長類研究所では、サイトカインの一種である上皮成長因子(Epidermal growth factor: EGF)を新生児期に全身投与したアカゲザルが複数頭飼育されている。これらのうち、複数の個体が生後2年以上を経過したところで行動異常を呈し始めている。具体的には、他個体への関心の低下や社会交渉の減少もしくは異常亢進、認知機能の低下などである。本研究では、健常個体とこれらの個体を対象に非侵襲的な脳波を計測し、脳波のなかでも特に高次認知機能にも関わるとされ、ヒト統合失調症患者で異常が報告されている γ 帯域の脳活動に注目して比較した。連続した単純な音刺激により誘発される脳波は、聴性定常反応 (Auditory steady state response: ASSR) と呼ばれ、回答などの協力が得られない新生児や小児での聴力検査としても利用されており、動物への応用が可能である。

方法

被験体は2頭の健常アカゲザル (Macaca Mulatta, Monkey G, 7歳, 6kg, ♀/Monkey B, 8歳, 7kg, ♀) および2頭の疾患モデルアカゲザル (Monkey SO, 4歳, 7kg, ♂/Monkey SK, 6歳, 6kg, ♀) を用いた。すべての実験は京都大学霊長類研究所の飼育・実験ガイドラインを順守し、動物実験委員会の審査の後、承認を得て実施した。

サルは防音室の中でモンキーチェアに座った状態で実験をおこなった。脳波計測に先立ち、麻酔下で剃毛した後、個体ごとに頭部全体にフィットするマスクを作成した。また、サルを数日かけてモンキーチェアに馴化した。その後、頭皮の上に脳波電極を接着し、安静覚醒状態で音刺激を呈示中の脳波を計測した。聴性定常反応の計測ではヒト被験者での先行研究に倣い、持続時間1ミリ秒のクリック音を30, 40, 80Hzの3条件を用いた。各条件はランダムな順番で500ミリ秒間呈示し、刺激間隔は600ミリ秒とした。これらの聴覚刺激はMatlabを用いて合成し、waveファイルとして保存、コンピュータを介して再生した。スピーカーはサルの頭部から0.6m離れた位置に置き、音の強さが65-75 dB (SPL)になるように設定した。

電極はヒト用銀電極を用い、国際10-20法に基づいてサル頭の頭皮に接着した。inion (外後頭隆起)、nasion (鼻根点)、左右の耳介前点を解剖学的な指標とし、Fz, Cz, Pz, Ozおよび両耳介 (A1, A2) に、リファレンス電極はC3に設置した。脳波はBrainAmp (Brain Products社)を用いて増幅し、バンドパスフィルター (0.116-100Hz)を介して1000Hzでサンプリングした。データ解析にはMatlab R2018bおよびEEGLABを用いた。2Hzのハイパスフィルターをかけ、 $\pm 150\mu\text{V}$ を逸脱するデータはノイズとみなして解析から除外した。Monkey Bは1502試行、Monkey Gは2313試行、Monkey SKは2252試行、Monkey SOは2251試行を実施した。

結果

健常サルであるMonkey B、Monkey Gから計測した聴性誘発電位では、聴覚刺激が呈示されている500ミリ秒間に各刺激の周波数に一致した誘発電位が観察された。疾患モデルであるMonkey SOではやや崩れはあるものの刺激に同期した脳波が見られた。しかし、健常サルとは異なり、高調波 (呈示刺激の周波数の整数倍の周波数)の混在も見られた。一方で、疾患モデルサルであるMonkey SKでは呈示刺激への脳波の同期が不明瞭であった。Monkey G, Monkey SKの聴性誘発電位を図1に示す。

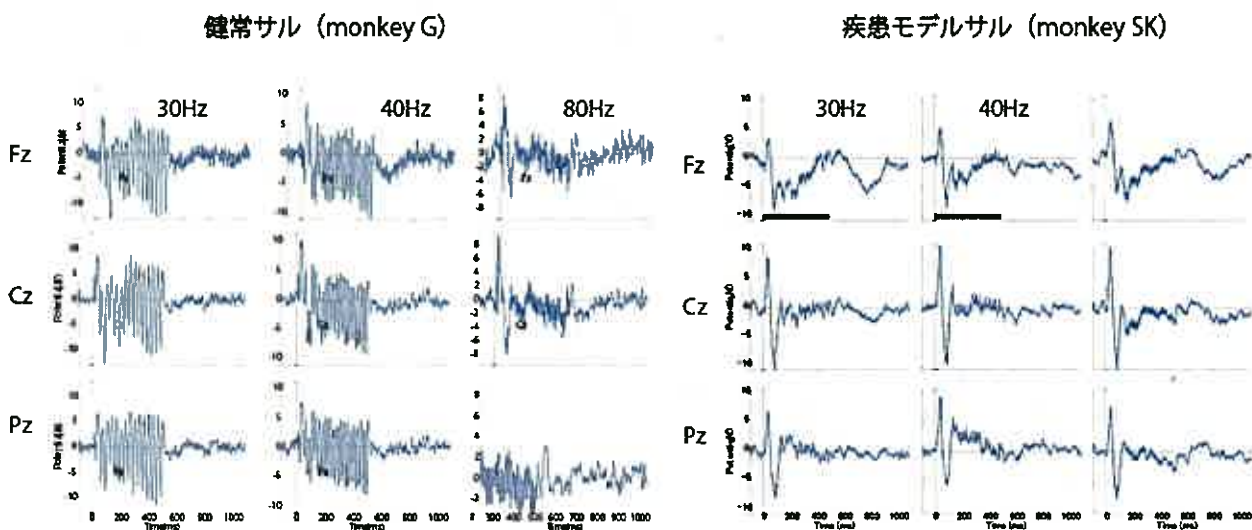


図1. 健常サルおよび疾患モデルサルの聴性誘発電位の例

さらに、周波数ごとのパワーの大きさを見るため、周波数スペクトラム解析を行った。Monkey G, B においてはどの電極においても30, 40, 80Hzにおいてピークが見られた。一方、Monkey SKでは各呈示刺激条件に一致した周波数でのパワー上昇が不明瞭であった。Monkey SOは各周波数帯でのピークが見られたものの、高調波帯でのピークも見られた。時間周波数解析を行った。40Hz条件での結果を図2に示す。健常サルでは聴覚刺激が呈示されている500ミリ秒間、刺激に一致した周波数における脳波活動が見られた。一方で疾患モデルサルの特にMonkey SKでは活動がはっきりしなかった。

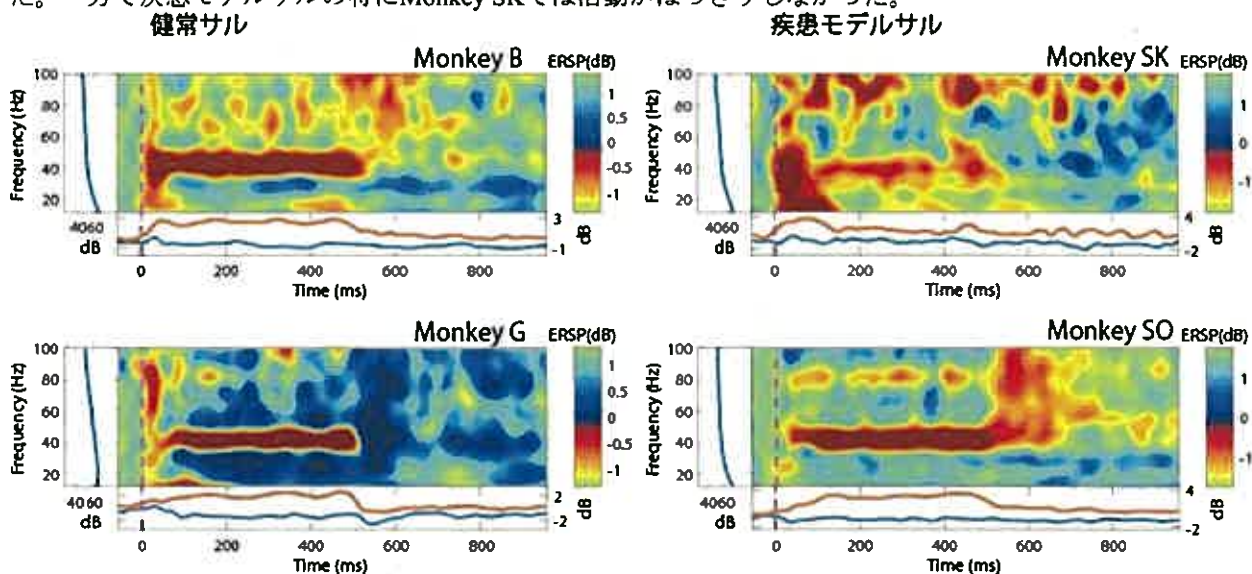


図2. 聴性定常反応の時間周波数解析

考察および今後の展望

本研究では、統合失調症モデルサルの妥当性を評価する方法として、聴性定常反応の検査方法としての可能性を探った。健常アカゲサルで30Hz, 40Hz, 80Hzの聴覚刺激に同期する応答を検出することができた。

この結果から、マカクサルでもヒトと同様の非侵襲的な頭皮上脳波計測によりASSRを計測できることが示唆された。ヒトでは聴覚に限らず、外部刺激に同期して観察される γ 波は統合失調症患者で特に40Hzの刺激に同期する γ 帯域活動が低下するのが特徴とされている (Spencer et al., 2009)。統合失調症以外にも不安障害、注意欠陥・多動性障害やアルツハイマー病においてもASSRの低下が報告され、GABA (gamma-Aminobutyric acid) 伝達の異常を反映していると考えられている。

今回はアカゲザル4頭のみからの計測であったが、引き続き健常サル個体のデータ数を増やし、統計学的比較も含めて更なる検討をしたい。安静時脳波および聴性定常反応が疾患の有無を判断するバイオマーカーとして有用かどうかを検討したい。また、疾患群で脳波異常が見られたアカゲサル個体に関しては抗精神薬投与による脳波の変化をみる実験も実施したい。

非ヒト霊長類における精神疾患モデル動物の非侵襲的な脳機能評価方法を確立することで、将来、ゲノム編集など他の手法による精神疾患モデルの作出に成功した際、モデルの妥当性の検証に利用できることが期待される。また、ヒトでの評価法と同じトランスレータブルな指標であるため、新しい治療薬の薬効評価や病状進行度の判断などに応用でき、精神疾患研究に有用なツールとなると考える。

謝辞

脳波計測の実験及び解析は新潟大学脳研究所の伊藤浩介助教、酒多穂波特任助教、京都大学霊長類研究所の岩沖晴彦大学院生の協力を得て実施しました。また、疾患モデル作成は新潟大学脳研究所の那波宏之教授との共同研究としてご協力を得ました。実験機器および動物の使用、およびスーパーバイザーとして京都大学霊長類研究所の中村克樹教授の多大なるサポートを受けました。関係する皆様に深く感謝いたします。

関連文献

- T. Futamura, A. Kakita, M. Tohmi, H. Sotoyama, H. Takahashi, H. Nawa "Neonatal perturbation of neurotrophic signaling results in abnormal sensorimotor gating and social interaction in adults: implication for epidermal growth factor in cognitive development." *Mol Psychiatry*. 8(1):19-29. 2003
- K. Itoh, M. Nejime, N. Konoike, T. Nakada, K. Nakamura, "Noninvasive scalp recording of cortical auditory evoked potentials in the alert macaque monkey" *Hearing research*, 327:117-125. 2015.