HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | メタンフェタミン反復投与による統合失調症病態モデル動物におけるNMDA受容体の構成パターンに着目した病態研究［論文内容及び審査の要旨］ |
| Author(s) | 岡, 松彦 |
| Description | 配架番号：2510 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(医学) |
| Dissertation Number | 甲第14047号 |
| Issue Date | 2020-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/77963 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Matsuhiko_Oka_review.pdf, 審査の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　岡　松彦

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 主査 | 教授 | 渡邉　雅彦 |
| 審査担当者 | 副査 | 教授 | 神谷　温之 |
| | 副査 | 教授 | 石田　晋 |
| | 副査 | 教授 | 豊嶋　崇徳 |

学 位 論 文 題 名

メタンフェタミン反復投与による統合失調症病態モデル動物における
NMDA 受容体の構成パターンに着目した病態研究
(A pathological study focusing on the subunit composition of NMDA receptors in animal models of schizophrenia by repeated administration of methamphetamine)

統合失調症の病態は依然不明な点が多いが、ドパミン神経系の過活動とグルタミン酸神経系の機能異常の組み合わせが統合失調症の臨床側面を最もよく反映し得るとされる。当教室では統合失調症の病態解明に向け、ドパミン仮説及びグルタミン酸仮説を統合し、進行性の脳容積低下、認知機能障害及びドパミン $D_2$ 受容体遮断薬への抵抗性の獲得を説明する動物モデルとして「dopamine to glutamate 仮説」に基づく「病態包括進行モデル」を提唱してきた。本モデルでは NMDA 受容体機能異常の存在が示唆されていたが、その機序は不明であった。申請者は NMDA 機能異常の本態が NMDA 受容体サブユニットの減少にあると考え、その分子生物学的機序を明らかにする為に、第一章ではメタンフェタミン反復投与によるモデルラットの作成と抗精神病薬による行動感作の形成阻止効果を、第二章ではメタンフェタミン反復投与による NMDA 受容体サブユニットの変化を、第三章では本モデルにおける NMDA 受容体サブユニットへの抗精神病薬の作用をそれぞれ検討した。

審査にあたり、まず副査の神谷教授からメタンフェタミンの反復投与により増加するグルタミン酸の放出と NMDA 受容体サブユニットの減少との因果関係について、モデル動物作成の際にメタンフェタミンを隔日投与とした事と休薬期間の設定の根拠について、GluN1 タンパクを細胞質基質分画とシナプトソーム分画に分けて検出した理由について、シナプトソームの単離にショ糖密度勾配遠心法ではなく Syn-PER(Thermo Fisher Scientific)を用いた理由について、今後望まれる研究として脳の左右差に言及した理由について質問があった。申請者はそれぞれ、NMDA 受容体サブユニットの減少はグルタミン酸放出増加によるダウンレギュレーションと考えられるが本研究ではシナプトソーム分画において GluN1 の減少が明らかではなかった事から異なる作用も考えられる事、行動感作の形成にはメタンフェタミンは連日投与より隔日投与が望ましく、形成された行動感作は 2 週間持続する報告がある事から休薬期間を約 1 週間に設定した事、NMDA 受容体の内在化の有無を検討する為に細胞質基質分画とシナプトソーム分画に分けて検討した事、細胞質基質分画とシナプトソーム分画のみ単離するには Syn-PER(Thermo Fisher Scientific)でも可

能である事、統合失調症患者の死後脳研究で脳容積の左右差が報告されている他ラットでも各脳部位でモノアミン量の左右差が報告されている為検討課題と考えた事を回答した。

副査の石田教授からはメタンフェタミン投与によるドパミン放出増加後のグルタミン酸放出増加はメタンフェタミンとドパミンいずれの作用によるものか、統合失調症の病態仮説においてドパミン仮説とグルタミン酸仮説の統合はどの程度受け入れられているものか、本モデルを用いた創薬研究などは可能か、統合失調症患者の NMDA 受容体サブユニットの機能異常について、覚醒剤乱用者は統合失調症を発症し得るか、ハロペリドールとアセナピンの薬効の差異の機序について質問があった。申請者はそれぞれ、ドパミン仮説とグルタミン酸仮説はいずれも病態仮説の一つとして受け入れられているが両者を統合する仮説はない事、本モデルを用いて今後創薬や抗精神病薬の使い分けの研究も可能と考えられる事、統合失調症患者では GluN2A やセリンラセマーゼの遺伝子異常が報告されている事、統合失調症患者は発症前に大麻などの物質乱用が多く、時に鑑別が困難であるが覚醒剤乱用者が統合失調症を発症し得る事、ハロペリドールとアセナピンの薬効の差異については作用する受容体が大きく異なる為本研究からその機序を言及出来ない事を回答した。

副査の豊嶋教授からは本研究の結果よりグルタミン酸仮説や NMDA 受容体機能異常との関連について他のメタンフェタミン・アンフェタミンモデルに対しても一般化出来るかどうか、同様の行動実験で移所運動量が異なる理由や行動実験を行った際の環境や条件について、GluN1 タンパク発現量の細胞質基質分画とシナプトソーム分画との差異は予想されたものであったか質問があった。申請者はそれぞれ、未だモデル全体に一般化出来るものではなく今後異なるプロトコルでモデルを作成し研究を重ねる必要がある事、行動実験の条件は統一されているが時期が異なっていた為申請者のハンドリングや注射の技術に習熟度の差がありそれが行動量に反映されたと考えられる事、当初細胞質基質分画よりシナプトソーム分画で GluN1 の発現量減少が大きいと考えていたが実験結果を受け細胞内小胞輸送の調節能やそれに対する抗精神病薬の作用に着目した事を回答した。古いモデルだが見直されるべき点がある事を明らかに出来た点が評価出来る旨コメントがあった。

最後に主査の渡邉教授から統合失調症患者の死後脳研究において報告されている NMDA 受容体サブユニットについて、Grin1 ノックアウト・ノックダウンマウスが統合失調症モデルとされる理由について、統合失調症患者におけるリン酸化 GluN1 の異常について、本研究で Grin1 遺伝子が減少し細胞質基質分画で GluN1 が減少したがシナプトソーム分画で GluN1 の減少が認められなかった機序について質問があった。申請者はそれぞれ、統合失調症患者の死後脳研究は前頭前野と海馬が中心で各サブユニットの結果は報告によって異なる点も多くメタ解析は前頭前野の GRIN1 と GluN1 のみである事、統合失調症の鑑別に有用と考えられている事象関連電位のミスマッチ陰性電位が Grin1 ノックアウト・ノックダウンマウスと統合失調症患者において共通して認められている事、統合失調症患者の前頭前野及び海馬では GluN1 の $Ser^{897}$ のリン酸化の低下が報告されており、フェンサイクリジン反復投与による統合失調症モデルマウスにおいて前頭前野の GluN1 の $Ser^{897}$ のリン酸化が低下しており非定型抗精神病薬の一つであるブロナンセリンがその低下を抑制した報告がある事、遺伝子発現量とタンパク発現量についてはメタンフェタミンの投与時期や休薬期間の違いにより異なる変化が得られると考えられる事を回答した。今後はメタンフェタミン投与によるドパミン放出の増加、グルタミン酸放出の増加、及び NMDA 受容体サブユニットの減少のそれぞれの関連について更なる検討が望まれる旨コメントがあった。

この論文は、ドパミン仮説とグルタミン酸仮説の融合とその機序の追究において高く評価され、今後統合失調症の病態解明及び有効な治療法の開発が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。