

## 特集 1 神経発達障害による精神疾患の発症・病態に関わる因子

1. 胎生期メチルアゾキシメタノール曝露による  
統合失調症様モデルマウス

中川西 修\*

**抄録**：統合失調症の発症原因解明，予防や治療法の確立の手段の一つはヒトに類似した動物モデルを作製し，解析することである。ヒト疾患のモデル動物確立の際，3つの条件（妥当性）を満たす必要がある。①表面妥当性，②構成概念妥当性，③予測妥当性によって評価される。本研究では発症までの時間軸を取り入れた簡便な統合失調症モデルマウスの作製が急務であると考え，妊娠期のマウスに神経新生抑制薬であるメチルアゾキシメタノール酢酸（MAM）を投与し，出生した雄性マウスの行動解析および神経化学的検討を行った。胎生期 MAM 曝露マウスは，陽性症状様の運動亢進，陰性症状様の社会性低下，短期記憶・感覚情報処理の障害を惹起させた。これらの行動障害は，56日齢以降に顕著であり，統合失調症が思春期以降に発症することと一致していた。前頭前皮質におけるドーパミン神経系の変化，海馬錐体細胞の形態的变化が認められた。胎生期 MAM 曝露マウスの行動障害は定型抗精神病薬では運動過多以外は改善されず，非定型抗精神病薬ではすべての障害が改善された。以上のように，胎生期 MAM 曝露マウスは，ヒト疾患のモデル動物確立の際，3つの条件（妥当性）を満たし，胎生期 MAM 曝露“ラット”よりも優れた統合失調症のモデル動物に成り得る可能性を提唱した。

日本生物学的精神医学会誌 32 (3) : 114-119, 2021

**Key words** : antipsychotic drugs, behavior, hippocampus, methylazoxymethanol, mice, schizophrenia

## はじめに

精神疾患の中で，特に生涯有病率が約1%と高い統合失調症は，遺伝的要因および胎生期，周産期または生後発達期の環境的要因すなわち栄養障害，覚醒剤などの薬物使用，ウイルス感染，放射線障害などとの関連性があることから，統合失調症の病態仮説の一つとして「神経発達障害仮説」が注目されている。

統合失調症の発症の診断，予防や治療法の確立の一つには，ヒトに類似した動物モデルの作製が必要である。統合失調症は思春期以降に発症するため，動物モデルの異常行動も思春期後に相当する生後56日目以降に観察されることが望ましい。さらに動物モデルを使用することで経日的な変化を捉えることが可能である。筆者は神経発達障害仮説と発症までの時間軸を取り入れた簡便な統合失調症モデル

マウスの作製が急務であると考え検討していた。予試験として胎児脳の神経発達期に神経新生抑制薬である methylazoxymethanol acetate (MAM) を妊娠マウスに投与した際その仔が統合失調症様の異常行動を生後56日目以降に発現する可能性が認められたため，このマウスの異常行動，神経細胞レベルの変化や形態学的な変化を詳細に解析することにより統合失調症の病態解明および診断法/予防法/治療法に寄与することができる。ヒト疾患のモデル動物確立の際，以下の①～③に示す3つの条件（妥当性）①表面妥当性 (face validity) とよばれるヒト患者とモデル動物が同じ症状を示すかどうか [例えば認知障害の一種であるプレパルスインビジョン (prepulse inhibition : PPI) 障害]，②構成概念妥当性 (construct validity) とよばれるモデル動物の発想の基礎となる仮説 (例えば神経発達障害仮説)，③予測妥当性 (predictive validity) とよば

Prenatal treatment with methylazoxymethanol as an animal model of schizophrenia in mice

\* 東北医科薬科大学薬学部薬理学教室 (〒981-8558 宮城県仙台市青葉区小松島4-4-1) Osamu Nakagawasai : Division of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku Medical and Pharmaceutical University, 4-4-1 Komatsushima, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 981-8558, Japan

【中川西 修 E-mail : osamun@tohoku-mpu.ac.jp】

れるヒト疾患に効果がある薬物が、モデル動物に対しても同様な効果を示すかどうか（例えば抗精神病薬の効果）を満たす必要がある<sup>17)</sup>。したがって、胎生期 MAM 曝露マウスがこれら 3 つの条件を満たすか行動薬理学、分子生物学および免疫組織学的手法を駆使し検討した結果について紹介する。

## 1. 表面的妥当性

DNA アルキル化薬である MAM (10 mg/kg/day) は、妊娠 15, 16, 17 日目に腹腔内投与し、雄の仔のみ以後の実験に使用した<sup>37)</sup>。

統合失調症の陽性症状は思春期以降に発症する。覚醒剤やコカインのようなドーパミン (dopamine: DA) 作動薬は幻覚や妄想といった統合失調症の陽性症状と区別しがたい状態を引き起こす。さらに、N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体遮断薬に対する感受性が健常者より統合失調症患者のほうが高いため<sup>19)</sup>、動物実験では陽性症状の評価法として DA 作動薬のアンフェタミンやメタンフェタミンまたは NMDA 受容体遮断薬のフェンサイクリジン (phencyclidine: PCP) やジゾシルピン (dizocilpine: MK-801) 投与による自発運動量の亢進が利用される。本研究では、MK-801 を用い自発運動量の変化を胎生期 MAM 曝露マウスの思春期前 (生後 35 日目) および思春期後 (生後 56 日目) に観察した。その結果、思春期前では MK-801 誘発性自発運動量はコントロール群および胎生期 MAM 投与群間の両者間で差は認められなかったが、思春期後においては、胎生期 MAM 投与群はコントロール群と比較して MK-801 誘発性自発運動量を有意に亢進させた。神経発達障害仮説に基づいた統合失調症モデルである幼若期腹側海馬 (neonatal ventral hippocampals: NVH) 障害ラットの思春期後においても、MK-801 あるいは PCP の投与により自発運動量の亢進といった本研究と類似の報告がなされている<sup>2)</sup>。以上の結果により、ヒトと同様に思春期後に陽性症状に関連する異常行動を示すことが確認された。

社会性の低下は統合失調症患者で認められる代表的な陰性症状である。陰性症状は社会性行動試験で評価される<sup>38)</sup>。社会性行動試験の社会的行動時間は、思春期前後とも胎生期 MAM 投与群はコントロール群と比較して有意に減少した。思春期以後に統合失調症を発症したヒトの後ろ向き調査において、社会性の低下は思春期以前から認められることが報告されている<sup>16)</sup>。本研究においても社会的行動時間は

思春期前から有意に減少した。統合失調症のモデルである胎生期に MAM 投与した“ラット”においても、思春期以前から社会的行動時間の減少、すなわち陰性症状に相当する異常行動が発現することが報告されている<sup>9, 21)</sup>。陰性症状も胎生期 MAM 曝露マウスはヒトと類似した時期に発症することが示された。

記憶障害や集中力低下といった認知機能障害も統合失調症で観察される。その認知機能評価法としては受動回避試験、放射状迷路試験、T字型やY字型迷路試験、PPI 試験などが用いられる。本研究では、摂食制限や電気や熱等の負荷を課すことなくY字型の装置内で動物の自発交替行動率で短期記憶を測定できるY字型迷路試験で測定した。その結果、思春期前において胎生期 MAM 投与群の自発交替行動率はコントロール群と比較して有意な差は認められなかったが、思春期後において胎生期 MAM 投与群はコントロール群と比較して有意に減少した。すなわち短期記憶が障害された。統合失調症患者における短期記憶力の低下はすでに報告されている<sup>10, 25)</sup>。さらに NVH 障害マウス<sup>28)</sup> や胎生期 MAM 曝露“ラット”<sup>26)</sup> を用いた研究においても同様に、思春期後において、Y字型迷路や水迷路を用いた実験により短期記憶や空間認知能力が有意に低下することが報告されている。短期記憶力の低下は、海馬・前頭前野のネットワークが障害されたことに起因すると考えられる<sup>20, 36)</sup>。さらに、PPI は感覚運動情報制御機能を評価する指標である。統合失調症などにより感覚運動情報制御機能が障害された場合、雑多な情報の取捨選択がなされないため、集中困難、思考のまとまりのなさが確認される。PPI 試験の利点は、ヒトだけでなく動物でも同様な測定が可能である点である。PPI 試験を行った結果、思春期前において両群間で有意な差は認められなかった。一方、思春期後において、胎生期 MAM 投与群はコントロール群と比較して有意な PPI の減弱 (PPI 障害) を示した。この結果は、過去に NVH 障害“ラット”ならびに胎生期 MAM 曝露“ラット”を用いて行われた研究の結果とおおむね一致していた<sup>21, 24)</sup>。統合失調症患者の PPI の障害は、思春期後に認められる<sup>30)</sup>。本研究の結果から胎生期 MAM 曝露マウスは、統合失調症の陽性症状、陰性症状および認知障害に類似した行動を示すモデルであることが示唆された。

## 2. 構成概念妥当性

統合失調症の死後脳では特に前頭前皮質や海馬の体積が減少していることが報告されている<sup>6)</sup>。胎生期 MAM 曝露マウスでは前頭皮質と海馬の重量が減少していた。同様な結果が胎生期 MAM 曝露“ラット”でも得られている<sup>9)</sup>。海馬の領域内に注目すると、特に統合失調症患者の cornu ammonis (CA) 2 の容積は陰性症状の重症度と負の相関があることが報告されている<sup>32)</sup>。胎生期 MAM 曝露マウスの CA2 における錐体細胞密度はコントロール群と比較し顕著に減少していたことから、この減少が胎生期 MAM 曝露マウスの社会的行動障害に関与していると考えられる。また、この CA2 領域特異的な細胞密度の低下は胎生期 MAM 曝露“ラット”では認められていない。さらに、統合失調症の死後脳を用いた研究により海馬における錐体細胞の不連続と異所性が報告されている<sup>13, 29)</sup>。胎生期 MAM 曝露マウスは、背側海馬の CA1-CA3 にかけて細胞の不連続や CA1 の異所性といった神経解剖学的な変化が認められた。この神経解剖学的変化は、胎生期 MAM 曝露“ラット”でも認められている<sup>7)</sup>。

海馬の神経幹細胞の減少は、統合失調症の病理学的な変化や神経新生の減少に関与していることが証明されている<sup>3, 14)</sup>。胎生期 MAM 曝露マウスの海馬歯状回における細胞増殖および神経新生がコントロール群と比較し減少していた。興味深いことに、齧歯類の海馬における神経新生の減少は、PPI 障害を含む認知障害<sup>31)</sup>や社会的行動障害<sup>15)</sup>に関与する。したがって、胎生期 MAM 曝露マウスで認められた統合失調症様行動（認知障害や社会的行動障害）には海馬の細胞増殖や神経新生の減少も関与している可能性が示唆された。

中枢 DA 神経機能の異常は統合失調症のさまざまな症状に関与することが証明されている<sup>11)</sup>。胎生期 MAM 曝露マウスの前頭皮質において DA レベルおよび代謝回転の増加が認められた。この結果は、胎生期 MAM 曝露“ラット”<sup>12)</sup>や胎生期シタラビン (cytarabin: Ara-C) 投与ラット<sup>5)</sup>でも観察された。臨床研究において内側前頭前皮質の DA 合成率の増加が統合失調症患者で認められている<sup>23)</sup>。一方、神経画像検査で統合失調症患者の背外側前頭前皮質の DA 神経伝達が減少している報告もある<sup>1)</sup>。これらの矛盾は前頭前皮質の領域の違いがあるのかもしれない。本研究では前頭前皮質の DA 神経の過活動状態も胎生期 MAM 曝露マウスの統合失調症様行動に関連する可能性が考えられた。

## 3. 予測的妥当性

統合失調症の治療には定型および非定型抗精神病薬が用いられている。胎生期 MAM 曝露マウスの思春期後における社会的行動障害や PPI 障害は定型抗精神病薬であるハロペリドールではなく非定型抗精神病薬であるクロザピン、リスペリドンおよびアリピプラゾール投与により改善した。臨床において統合失調症患者へのクロザピンやジプラシドンのような非定型抗精神病薬の投与は PPI 障害<sup>4, 18)</sup>や陰性症状<sup>34)</sup>をある程度緩和するが、定型抗精神病薬はこれらの症状に対して効果がないことが報告されている。さらに、胎生期 MAM 曝露マウスの MK-801 誘発性自発運動量の亢進は、定型および非定型抗精神病薬によって抑制された。胎生期 MAM 曝露“ラット”で認められる MK-801 誘発性自発運動量亢進に対する抗精神病薬の効果も同様な結果であった<sup>22)</sup>。統合失調症の陽性症状に対する改善作用と中枢 D<sub>2</sub> 受容体拮抗作用との間に相関性があることが示されている<sup>7, 33)</sup>。したがって、本研究で用いた中枢 D<sub>2</sub> 受容体遮断作用を有する定型および非定型抗精神病薬によって MK-801 誘発性自発運動量亢進を抑制したと考えられる。胎生期 MAM 曝露マウスは3つの妥当性を満たすことから統合失調症の病態解明や治療法の開発に有用である可能性を示唆した。これら一連の詳しい結果については最近の報告を参照されたい<sup>37)</sup>。

## おわりに

胎生期 MAM 曝露マウスは、神経発達障害仮説に基づいた簡便に作製できる統合失調症のモデルであることを示した。本研究では、ストレスや PCP への感受性が高い<sup>27)</sup>または他の系統よりも抗精神病薬に反応性が高い<sup>35)</sup> ddY 系のマウスを用いたが、今後、統合失調症の病因や病態の解明の際、ノックインマウス等の遺伝子改変動物を利用することを考えると他の系統のマウスを用いた MAM の影響も検討する必要があると考えている。この課題が解決されれば、胎生期 MAM 曝露マウスと遺伝子改変動物の実験データを併せることにより、胎生期後期から成体に至るまでに精神疾患様症状に影響を与える遺伝的因子や環境因子が明らかになるであろう。謝辞

本研究の遂行に際して、有益な御助言、御協力を頂きました東北医科薬科大学薬学部薬理学教室員および McGill 大学 Lalit K. Srivastava 教授に感謝の意

を表します。本研究の一部は、JSBP 科研費 2646012, 18K06687 および私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 S1511001L の支援に基づき遂行されたものであり、この場を借りて感謝申し上げます。

開示すべき利益相反は存在しない。

本論文に記載した筆者らの研究に関してすべて倫理的配慮を行っている。

## 文 献

- 1) Abi-Dargham A, Xu X, Thompson JL, et al (2012) Increased prefrontal cortical D1 receptors in drug naive patients with schizophrenia : a PET study with [<sup>11</sup>C] NNC112. *J Psychopharmacol*, 26 : 794-805.
- 2) Al-Amin HA, Weinberger DR and Lipska BK (2000) Exaggerated MK-801-induced motor hyperactivity in rats with the neonatal lesion of the ventral hippocampus. *Behav Pharmacol*, 11 : 269-278.
- 3) Allen KM, Fung SJ and Weickert CS (2016) Cell proliferation is reduced in the hippocampus in schizophrenia. *Aust N Z J Psychiatry*, 50 : 473-480.
- 4) Braff DL, Grillon C and Geyer MA (1992) Gating and habituation of the startle reflex in schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry*, 49 : 206-215.
- 5) Brown PL, Shepard PD, Elmer GI, et al (2012) Altered spatial learning, cortical plasticity and hippocampal anatomy in a neurodevelopmental model of schizophrenia-related endophenotypes. *Eur J Neurosci*, 36 : 2773-2781.
- 6) Brugger SP and Howes OD (2017) Heterogeneity and homogeneity of regional brain structure in schizophrenia : A meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, 74 : 1104-1111.
- 7) Chevassus-Au-Louis N, Rafiki A, Jorquera I, et al (1998) Neocortex in the hippocampus : an anatomical and functional study of CA1 heterotopias after prenatal treatment with methylazoxymethanol in rats. *J Comp Neurol*, 394 : 520-536.
- 8) Creese I, Burt DR and Snyder SH (1976) Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192 : 481-483.
- 9) Flagstad P, Mørk A, Glenthøj BY, et al (2004) Disruption of neurogenesis on gestational day 17 in the rat causes behavioral changes relevant to positive and negative schizophrenia symptoms and alters amphetamine-induced dopamine release in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*, 29 : 2052-2064.
- 10) Goghari VM, Macdonald AW 3rd and Sponheim SR (2014) Relationship between prefrontal gray matter volumes and working memory performance in schizophrenia : a family study. *Schizophr Res*, 153 : 113-121.
- 11) Grace AA (2016) Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. *Nat Rev Neurosci*, 17 : 524-532.
- 12) Hallman H and Jonsson G (1984) Monoamine neurotransmitter metabolism in microencephalic rat brain after prenatal methylazoxymethanol treatment. *Brain Res Bull*, 13 : 383-389.
- 13) Heckers S (2004) The hippocampus in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 161 : 2138-2139.
- 14) Iannitelli A, Quartini A, Tirassa P, et al (2017) Schizophrenia and neurogenesis : A stem cell approach. *Neurosci Biobehav Rev*, 80 : 414-442.
- 15) Iwata Y, Suzuki K, Wakuda T, et al (2008) Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. *PLoS One*, 3 : e2283.
- 16) Jones P, Rodgers B, Murray R, et al (1994) Child development risk factors for adult schizophrenia in the British 1946 birth cohort. *Lancet*, 344 : 1398-1402.
- 17) Koch M (2006) Animal models of schizophrenia. In : *Animal models of neuropsychiatric diseases* (ed Koch M). Imperial College Pr, pp 337-402.
- 18) Kumari V, Soni W and Sharma T (1999) Normalization of information processing deficits in schizophrenia with clozapine. *Am J Psychiatry*, 156 : 1046-1051.
- 19) Lahti AC, Koffel B, LaPorte D, et al (1995) Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 13 : 9-19.
- 20) Lalonde R (2002) The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neurosci Biobehav Rev*, 26 : 91-104.
- 21) Le Pen G, Gourevitch R, Hazane F, et al (2006) Peri-pubertal maturation after developmental disturbance : a model for psychosis onset in the rat. *Neuroscience*, 143 : 395-405.
- 22) Le Pen G, Jay TM and Krebs MO (2011) Effect of antipsychotics on spontaneous hyperactivity and hypersensitivity to MK-801-induced hyperactivity in rats prenatally exposed to methylazoxymethanol. *J Psychopharmacol*, 25 : 822-835.

- 23) Lindström LH, Gefvert O, Hagberg G, et al (1999) Increased dopamine synthesis rate in medial prefrontal cortex and striatum in schizophrenia indicated by L- (beta-11C) DOPA and PET. *Biol Psychiatry*, 46 : 681-688.
- 24) Lipska BK, Swerdlow NR, Geyer MA, et al (1995) Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacology*, 122 : 35-43.
- 25) Mogami T, Ikezawa S, Kaneko K, et al (2011) Outcome studies of cognitive remediation for schizophrenia. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 31 : 245-249.
- 26) Moore H, Jentsch JD, Ghajarnia M, et al (2006) A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17 : implications for the neuropathology of schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 60 : 253-264.
- 27) Mouri A, Koseki T, Narusawa S, et al (2012) Mouse strain differences in phencyclidine-induced behavioural changes. *Int J Neuropsychopharmacol*, 15 : 767-779.
- 28) Naert A, Gantois I, Laeremans A, et al (2013) Behavioural alterations relevant to developmental brain disorders in mice with neonatally induced ventral hippocampal lesions. *Brain Res Bull*, 94 : 71-81.
- 29) Nelson MD, Saykin AJ, Flashman LA, et al (1998) Hippocampal volume reduction in schizophrenia as assessed by magnetic resonance imaging : a meta-analytic study. *Arch Gen Psychiatry*, 55 : 433-440.
- 30) Neumann CS, Grimes K, Walker EF, et al (1995) Developmental pathways to schizophrenia : behavioral subtypes. *J Abnorm Psychol*, 104 : 558-566.
- 31) Osumi N, Guo N, Matsumata M, et al (2015) Neurogenesis and sensorimotor gating : bridging a microphenotype and an endophenotype. *Curr Mol Med*, 15 : 129-137.
- 32) Ota M, Sato N, Hidese S, et al (2017) Structural differences in hippocampal subfields among schizophrenia patients, major depressive disorder patients, and healthy subjects. *Psychiatry Res Neuroimaging*, 259 : 54-59.
- 33) Seeman P and Lee T (1975) Antipsychotic drugs : direct correlation between clinical potency and pre-synaptic action on dopamine neurons. *Science*, 188 : 1217-1219.
- 34) Stahl SM, Malla A, Newcomer JW, et al (2010) A post hoc analysis of negative symptoms and psychosocial function in patients with schizophrenia : a 40-week randomized, double-blind study of ziprasidone versus haloperidol followed by a 3-year double-blind extension trial. *J Clin Psychopharmacol*, 30 : 425-430.
- 35) Sugimoto Y, Kajiwara Y, Hirano K, et al (2008) Mouse strain differences in immobility and sensitivity to fluvoxamine and desipramine in the forced swimming test : analysis of serotonin and noradrenaline transporter binding. *Eur J Pharmacol*, 592 : 116-122.
- 36) Suh J, Foster DJ, Davoudi H, et al (2013) Impaired hippocampal ripple-associated replay in a mouse model of schizophrenia. *Neuron*, 80 : 484-493.
- 37) Takahashi K, Nakagawasai O, Sakuma W, et al (2019) Prenatal treatment with methylazoxymethanol acetate as a neurodevelopmental disruption model of schizophrenia in mice. *Neuropharmacology*, 150 : 1-14.
- 38) Tanda K, Nishi A, Matsuo N, et al (2009) Abnormal social behavior, hyperactivity, impaired remote spatial memory, and increased D1-mediated dopaminergic signaling in neuronal nitric oxide synthase knockout mice. *Mol Brain*, 2 : 19.

**■ ABSTRACT**

---

**Prenatal treatment with methylazoxymethanol as an animal model of schizophrenia in mice**

Osamu Nakagawasai

*Division of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku Medical and Pharmaceutical University*

Methylazoxymethanol (MAM) treated pregnant rats at gestation day (GD) 17 has revealed itself as a valuable experimental animal model for schizophrenia. Yet, this model remains to be established in mice. In the present study, we examined behavioral, cytoarchitectural, and neurochemical changes in the offspring of MAM treated mice and validated the model's face, construct and predictive values. We found that in contrast to a single injection of MAM to dams at GD 15, 16 or 17, its repeated administration between GD 15 and 17 led to increase in locomotor activity induced by the NMDA antagonist MK-801, social withdrawal, short-term memory impairment and deficit in prepulse inhibition (PPI) in the post-pubertal offspring. Moreover, we observed a reduction in the volume of both the prefrontal cortex (PFC) and hippocampus, neuroanatomical changes in the hippocampus, and a disturbance in the dopaminergic system in the PFC. In contrast to haloperidol, clozapine, risperidone, and aripiprazole all reversed the PPI deficit in the offspring of MAM treated dams. Therefore, the treatment of pregnant mice with MAM during GD 15-17 offers a new method to study neurobiological mechanisms involved in the pathogenesis of schizophrenia.

---

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 32 (3) : 114-119, 2021)

---