

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく  
診断・治療へ向けた新技術の創出」  
平成 21 年度採択研究代表者

平成 21 年度  
実績報告

西川 徹

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授

統合失調症のシナプスグリア系病態の評価・修復法創出

## § 1. 研究実施の概要

本研究では、D-セリンをグリアニューロン相互シグナル分子とする、グルタミン酸 (Glu) シナプスの分子細胞機構と統合失調症における病態を解明し、その評価・修復法を創出する基礎的研究と、本シナプスに影響する既認可薬 D-サイクロセリンを用いた本症の難治症状の治療試験を行う臨床的研究を、有機的に結びつけつつ推進する。今年度は、基礎的研究として、1)D-セリンの合成・放出・取込・分解の分子細胞機構解明および統合失調症の病態との関連性の検討、2)その病態修復のための D-セリンシグナル調整薬とその標的分子の検索、3)シナプスグリア機能連携の分子機構と D-セリン・Glu シグナルの役割の解析、と今後必要な遺伝子改変動物の作製を行った。臨床的研究としては、ヒト研究リソース整備を開始するとともに、治療試験を実施する3施設間で、薬物投与・諸検査の方法の条件設定・標準化・分担等を検討・決定し、倫理的手続きを進めた。

## § 2. 研究実施体制

### (1)「西川」グループ

① 研究分担グループ長: 西川 徹 (東京医科歯科大学、教授)

### ② 研究項目

シナプスグリア-D-セリン系の分子機構解明と統合失調症における病態解析および修復法創出

< §3. 研究実施内容に報告した項目 >

### 【1】基礎的研究

- (i) D-セリンの合成・放出・取込の分子細胞機構解明および統合失調症との関連性の検討
- (iii) 統合失調症の病態修復のための D-セリンシグナル調整薬およびその標的分子検索

**【2】 臨床的研究**

- (i) NMDA受容体—D-セリン系に作用する既認可薬を用いた統合失調症の臨床治療試験
- (ii) 統合失調症病態解析のための研究リソース整備

(2)「福井」グループ

- ① 研究分担グループ長: 福井 清 (徳島大学、教授)

② 研究項目

D-アミノ酸化酵素によるシナプスグリア機能調節と統合失調症における病態の解析

< §3. 研究実施内容に報告した項目 >

**【1】 基礎的研究**

- (ii) D-セリンの分解系の分子細胞機構の解明と統合失調症における病態の解析

(3)「田中」グループ

- ① 研究分担グループ長: 田中 光一 (東京医科歯科大学、教授)

② 研究項目

シナプスグリア機能連携の分子機構と D-セリンシおよびグルタミン酸シグナルの役割の解明

< §3. 研究実施内容に報告した項目 >

**【1】 基礎的研究**

- (i) D-セリンの合成・放出・取込の分子細胞機構解明および統合失調症との関連性の検討  
特定のグリア細胞の機能低下マウス作製 (西川グループとの共同研究)
- (iv) シナプスグリア機能連携の分子機構と D-セリンおよびグルタミン酸シグナルの役割の解析

(4)「有馬」グループ

- ① 研究分担グループ長: 有馬 邦正 (国立精神・神経センター病院、第一病棟部長)

② 研究項目

統合失調症のシナプスグリア—D-セリン系病態の薬物治療試験および死後脳における解析

< §3. 研究実施内容に報告した項目 >

**【2】 臨床的研究**

- (i) NMDA受容体—D-セリン系に作用する既認可薬を用いた統合失調症の臨床治療試験
- (ii) 統合失調症病態解析のための研究リソース整備

(5)「大森」グループ

①研究分担グループ長:大森 哲郎 (徳島大学、教授)

②研究項目

シナプスグリアーD-セリン系作用薬の統合失調症治療効果とその生物学的指標の解析  
< §3. 研究実施内容に報告した項目 >

**【2】 臨床的研究**

(i) NMDA受容体—D-セリン系に作用する既認可薬を用いた統合失調症の臨床治療試験

(ii) 統合失調症病態解析のための研究リソース整備

### § 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

本研究においては、D-セリンをグリアーニューロン相互シグナル分子とする、グルタミン酸(Glu)シナプスの分子細胞機構と統合失調症における病態を解明し、その評価・修復法を創出する目的で、平成21年度は、基礎的研究として、実験動物を用いたD-セリンのシナプス間隙中(細胞外液中)濃度の調節、主要なD-セリン含有細胞およびGluシナプス活動に対するGluトランスポーターの役割等を検討する検討とD-セリン分解能をもつD-アミノ酸酸化酵素のヒト死後脳における発現の検討を行った。また、今後の解析に必要な遺伝子改変動物の作製を開始した。臨床研究では、D-サイクロセリンによる統合失調症の治療試験を行う3施設間で、研究方法の詳細の決定・標準化を行うとともに倫理的手続きを進めた。

**【1】基礎的研究**

(i) D-セリンの合成・放出・取込の分子細胞機構解明および統合失調症との関連性の検討

NMDA型Glu受容体を有するシナプスが生理的に機能するのに不可欠な細胞外D-セリンシグナルの調節機構の手がかりを得るため、D-セリン取り込み能をもつAsc-1中性アミノ酸トランスポーターを阻害する薬物を内側前頭葉皮質に局所注入したところ、同部位の細胞外D-セリン濃度が上昇することが確認され、D-セリン取り込み機構がD-セリンシグナル調節に関与することが明らかになった。統合失調症様症状を引き起こすメタンフェタミンを末梢投与(皮下)したラットでは、内側前頭葉皮質のD-セリンが上昇した。メタンフェタミンによる異常行動がD-セリンで抑制されることを考え合わせると、統合失調症の病態にD-セリンシグナルの調節障害が関係することが示唆された。

一方、NMDA受容体遮断薬による統合失調症陰性症状様の異常の発現に、NMDA受容体だけでなく、D-セリンの放出に影響することが報告されているAMPA型・カイニン酸型Glu受容体とも相互作用をもつSAP97が関与することを見出した。また、生理的なD-セリン合成酵素の候補であるセリンラセマーゼの遺伝子ノックアウトマウスにおける細胞外および組織中D-セリン濃度の変化を調べる目的で、in vivoタイアリススを行い、終了後に脳各部位を凍結保存する実験や、

D-セリンの細胞からの放出に関係するdsm-1遺伝子のノックアウトマウスの作製、および特定のグリア細胞の機能を低下させることができるマウスの作製<sup>2)</sup>を進めた。

さらに、ラット大脳新皮質から調整した初代培養系のアストログリアおよびニューロンにおいて、細胞内および培養液中のD-セリン濃度を測定し、いずれもニューロンの方が高い傾向を示した。他の脳内細胞種の初代培養系でも、同様の検討を開始した。

#### (ii) D-セリンの分解系の分子細胞機構の解明と統合失調症における病態の解析

D-セリンの分解活性をもつ D-アミノ酸化酵素(DAO)を D-セリンシステムの制御因子として位置づけ、グルタミン酸シナプスグリア系の生理機能や統合失調症における病態について、タンパク酵素化学、分子細胞生物学、免疫組織化学を用いた解析を進めた。

ラット脳におけるDAOの遺伝子発現解析の結果、これまでに報告のある小脳、橋、延髄に加え、新たに大脳皮質および脈絡叢で発現が確認された。また、免疫染色によりヒトの小脳、橋、延髄、頸髄および脈絡叢においてDAOの発現が確認された。さらに、ヒト脈絡叢において検出されたDAO発現を対照群と統合失調症患者群で比較したところ、統合失調症患者群の脈絡叢におけるDAO発現が有意に上昇していた。これらの結果から、統合失調症患者の脳脊髄液におけるD-セリン濃度低下は、脈絡叢におけるDAO発現の上昇によって引き起こされた可能性が示唆された<sup>1)</sup>。このD-セリンの減少とNMDA受容体の機能変化との関連についてはさらに検討が必要である。

#### (iii) 統合失調症の病態修復のためのD-セリンシグナル調整薬およびその標的分子検索

内側前頭葉皮質では、上記(1)で述べたように、D-セリン取り込み能をもつAsc-1中性アミノ酸トランスポートの阻害剤が細胞外D-セリンを上昇させることや、抗精神病薬のクロザピンの末梢投与(腹腔内)が細胞外D-セリン濃度に影響しなかったことより、D-セリンの取り込み機構が、統合失調症状改善作用をもつD-セリンを増加させるという従来の抗精神病薬とは異なる機序をもつ新たな本症治療薬を開発する標的となる可能性が示唆された。

#### (iv) シナプスグリア機能連携の分子機構とD-セリンおよびグルタミン酸シグナルの役割の解析

Gluトランスporterは、シナプスにおける細胞外Glu濃度を調整することにより、脳の情報処理を制御している。従って、Gluトランスporterの機能異常は、脳の情報処理に影響を及ぼし、統合失調症の発症に関与すると考えられる。また、海馬におけるシナプス伝達の可塑性は、記憶の素過程と考えられており、その異常は統合失調症の認知障害の基盤となる可能性がある。本研究においては、グリア型GluトランスporterGLT1の機能を促進させたマウスの海馬シナプスの活動を検討し、GLT1の機能促進が、細胞外Glu濃度の低下をもたらすことにより、シナプス前神経細胞の代謝型Glu受容体の活動を抑制し、海馬苔状線維-CA3間シナプスの可塑的变化である長期抑圧現象を障害することを見いだした。この結果は、グリア型Gluトランスporterの新しいシナプス伝達の制御機構を示唆しており、統合失調症との関連が注目される。

## 【2】臨床的研究

(i) NMDA受容体—D-セリン系に作用する既認可薬を用いた統合失調症の臨床治療試験

Gluシナプス—グリア系調節候補薬として、NMDA受容体—D-セリン系に作用する既認可薬 D-サイクロセリンを用い、統合失調症の陰性症状、認知機能障害等の難治性症状に対する臨床治療試験を行う準備を行った。本試験を実施する、西川・有馬・大森の3グループ間で、臨床症状評価、心理学的検査、MRIによる脳形態・拡散強調画像計測<sup>8</sup>、近赤外線分光鏡（NIRS）装置による脳血流計測（画像）、MRSを用いたin vivoにおける脳内グルタミン酸・GABA濃度の非侵襲的測定<sup>1)</sup>、血液サンプルを用いたシナプス—グリア—D-セリン系関連遺伝子の多型解析<sup>4)</sup>または発現解析、D-サイクロセリン血液中濃度測定等に関する、詳細な条件設定・標準化・分担等を検討・決定し、各所属施設における倫理的手続きを申請または更新した。NIRSについては、現在我が国で標準化されている検査方法を3施設で共通に実行するため、NIRS装置のなかった西川グループに新規に導入し、稼働準備を完了した。

(ii) 統合失調症病態解析のための研究リソース整備

統合失調症におけるシナプス—グリア系の病態および治療試験の指標として、遺伝子の多型と発現、MRI 画像、NIRS 画像、MRS 解析、心理学的検査成績、血液中 D-サイクロセリン濃度等を明らかにするため、上記臨床試験参加者とそれ以外の入院・外来における統合失調症および双極性障害（対照群）の患者、または健常者（対照群）に対する、倫理的手続きと説明書・同意書等の整備を行った。また、死後脳の解析を進めるため、国立精神・神経医療・研究センターおよび剖検脳のネットワークを構築する他施設から、医学研究使用の同意を得ている統合失調症脳と、対照となる脳の選定を行った。

## § 4. 成果発表等

### (4-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Tayoshi, S., Nakataki, M., Sumitani, S., Taniguchi, K., Shibuya-Tayoshi, S., Numata, S., Iga, J., Ueno, S., Harada, M., Ohmori, T. GABA concentration in schizophrenia patients and the effects of antipsychotic medication: a proton magnetic resonance spectroscopy study *Schizophr Res.* 117:83-91, (2010). DOI:10.1016/j.schres.2009.11.011
2. Swartling, F.J., Grimmer, M., Hackett, C.S., Northcott, P.A., Fan, Q-W., Goldenberg, D.D., Lau, J., Masic, S., Nguyen, K., Yakovenko, S., Zhe, X-N., Glimer, H.C.F., Collins, R., Nagaoka, M., Phillips, J.J., Jenkins, R.B., Tihan, T., Vandenberg, S.R., James, C.D., Tanaka, K., Taylor, M.D., Weiss, W.A., Chesler, L. Pleiotropic Role for MYCN in medulloblastoma. *Genes Dev* (in press)
3. Woltjer, RL., Duerson K., Fullmer, JM., Mookherjee, P., Ryan, AM., Montine, TJ., Kaye, JA.,

Quinn, JF., Silbert, L., Erten-Lyons, D., Leverenz, JB., Bird, TD., Pow, DV., Tanaka, K., Watson, S., Cook, DG. Aberrant detergent-insoluble EAAT2 accumulates in Alzheimer's disease. *J Neuropath Exp Neur* (in press)

4. Numata, S., Nakataki, M., Iga, J.I., Tanahashi, T., Nakadoi, Y., Ohi, K., Hashimoto, R., Takeda, M., Itakura, M., Ueno, S.I., Ohmori, T.. Association Study Between the Pericentrin (PCNT) Gene and Schizophrenia. *Neuromolecular Med.* (in press). DOI:10.1007/s12017-009-8106-x