

「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

H24 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. 研究実施体制

(1)「西川」グループ(東京医科歯科大学)

① 研究代表者:西川 徹 (東京医科歯科大学・大学院・医歯学総合研究科、教授)

② 研究項目

・シナプスグリアー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

(2)「福井」グループ(徳島大学)

① 主たる共同研究者:福井 清 (徳島大学・疾患酵素学研究センター、教授)

② 研究項目

・D-アミノ酸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)「田中」グループ(東京医科歯科大学)

① 主たる共同研究者:田中 光一(東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部、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

(4)「有馬」グループ(国立精神・神経医療研究センター)

① 主たる共同研究者:「有馬」グループ(国立精神・神経医療研究センター)

② 研究項目

・統合失調症のシナプスグリアー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

(5)「大森」グループ(徳島大学)

① 主たる共同研究者:大森哲郎(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、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

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

本課題では、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・修復法を創出する基礎的研究と、Glu シナプスに影響する既認可薬 D-サイクロセリンによる本症の難治症状の治療試験を行う臨床的研究を、連携させながら推進している。今年度は、基礎的研究として、D-セリンの細胞外液中濃度の調節機構、分解酵素の機能、ニューロンとグリアにある Glu トランスポーターの機能的連関、D-セリンがコアゴニストとして作用するNMDA 受容体との関係などを中心とした研究が進展し、Glu シナプスグリアの制御に関する新知見がさらに拡大した。また、種々の遺伝子改変動物を作出し、個体レベルの解析を開始した。臨床面では、D-サイクロセリンの治療試験が進むとともに、これと対比するための、他の疾患群・健常群における生物学的指標の解析が発展した。

【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

D-セリンは、コアゴニストとして NMDA 受容体の活性化に必須なことから、Glu シナプスの細胞外濃度を制御する分子細胞機構とその病態の研究を重点的に継続した。今年度は、ラット前頭葉で、カルシウム透過性AMPA型 Glu 受容体が細胞外 D-セリンの放出を phasic に抑制的に調節することを初めて明らかにし、論文発表を行った(3-1, No.15)。この抑制は、D-セリンを介した NMDA 受容体調節機構の一つと推測され、統合失調症の治療法開発や病態解析の標的になると考えられる。また、同部位で、D-セリンに高い親和性をもつ Asc-1 中性アミノ酸輸送体を阻害する S-methyl-L-cystein が、細胞外 D-セリン濃度を増加させることを見出し論文報告した(3-1, No.17)。アミノ酸の変化の特徴から、この上昇には ASCT2 中性アミノ酸輸送体も関与することが示唆され、これらの分子は D-セリンシグナルを増強する、統合失調症治療薬開発の標的となる可能性を指摘した。一方、本症の発症や再発に重要なストレスに強く応答する遺伝子群がさらに明らかになったが、これまでの D-セリン関連候補遺伝子には該当しなかった(3-1, No.11)。

【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た、統合失調症の難治性症状に対する臨床治療試験への患者エントリーを継続した。本試験参加者と、比較を行うのに必要な、入院・外来におけるそれ以外の統合失調症

患者、気分障害その他の精神疾患患者(疾患対照群)、および健常者(対照群)において、近赤外線分光鏡(NIRS)、探索的眼球運動、MRI拡散テンソル画像、情動知能スケールなどの各生物学的・心理学的指標の検討を進めた(3-1, Nos. 1, 2, 8 & 12)。

認知機能の研究では、認知機能と臨床症状との関連を報告し(3-1, No. 13)、引き続き認知機能と生活技能および病識の関連の検討を進めた。併せて実施している諸検査では、解析総数が、NIRSは300例、MRSは100例、眼球運動は90例、MRI拡散テンソル画像25例を越えた。平成23年度から追加した錯視テストを継続し、現在解析総数が56症例に達した。

分子遺伝学的検討では、末梢血ゲノムDNAを用いて、候補遺伝子と統合失調症との関連研究を続けるとともに(3-1, Nos. 4, 5, 10, 13 & 14)、広範な領域でDNAメチル化修飾が変化していることを明らかにし(3-1, No. 7)、診断マーカーの可能性があり、潜在的な統合失調症感受性候補遺伝子を同定した。

(ii)統合失調症病態解析のための研究リソース整備

上記(i)の研究から得られたデータ、血液サンプル等は順次、整理し保存している。国立精神・神経医療研究センター剖検脳レポジトリおよびリサーチリソースネットワークへの登録脳検体について、今年度は、死後脳RNAの保存方法の検討を開始し、RNA laterの有効性を確認した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Aida T, Ito Y, Takahashi YK, Tanaka K. Overstimulation of NMDA Receptors Impairs Early Brain Development in vivo. PlosOne 7.eE36853, May 11.2012.(DOI: 10.1371/journal.pone.0036853)
2. Ikeda M, Aleksic B, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Matsuo K, Numata S, Watanabe Y, Ohnuma T, Kaneko T, Fukuo Y, Okochi T, Toyota T, Hattori E, Shimodera S, Itakura M, Nunokawa A, Shibata N, Tanaka H, Yoneda H, Arai H, Someya T, Ohmori T, Yoshikawa T, Ozaki N, Iwata N. Genetic evidence for association between NOTCH4 and schizophrenia supported by a GWAS follow-up study in a Japanese population. Mol Psychiatry. May 29. 2012 (DOI: 10.1038/mp.2012.74.) [Epub ahead of print]
3. Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Umeda-Yano S, Okada T, Kamino K, Morihara T, Iwase M, Kazui H, Numata S, Ikeda M, Ohnuma T, Iwata N, Ueno S, Ozaki N, Ohmori T, Arai H, Takeda M. Functional genetic variation at the NRG1 gene and schizophrenia: evidence from a gene-based case-control study and gene expression analysis. Am J Med Genet B

- Neuropsychiatr Genet. Jun;159B(4):405-13.2012.(DOI:10.1002/ajmg.b.32043.)
4. Karlsson R-M, Adwmark L, Molander A, Perreau-Lenz S, Singley E, Solomon M, Holmes A, Tanaka K, Lovinger DM, Spanagel R, Heiling M. Reduced alcohol intake and reward associated with impaired endocannabinoid signaling in mice with a deletion of the glutamate transporter GLAST. *Neuropsychopharmacology* 63. 181-189, Aug 2012. (DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.01.027)
 5. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Shimodera S, Ono S, Imamura A, Iga JI, Watanabe S, Kikuchi K, Kubo H, Nakataki M, Sumitani S, Imoto I, Okazaki Y, Ohmori T. DNA Methylation Signatures of Peripheral Leukocytes in Schizophrenia. *Neuromolecular Med.* 2012 Sep 9. [Epub ahead of print]
 6. Tanaka T, Tomotake M, Ueoka Y, Kaneda Y, Taniguchi K, Nakataki M, Numata S, Tayoshi S, Yamauchi K, Sumitani S, Ohmori T, Ueno S, Ohmori T. Clinical correlates associated with cognitive dysfunction in people with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences.* Oct;66(6):491-8. 2012. (DOI: 10.1111/j.1440-1819.2012.02390.x.)
 7. Salah Mohamed El-Sayed, Rabab El Magd Mohamed Abou, Shishido Y, Yorita K, Seongpil Chung, Hong Diem Tran, Sakai T, Watanabe H, Kagami S, Fukui K. D-Amino acid oxidase-induced oxidative stress, 3-bromopyruvate and citrate inhibit angiogenesis, exhibiting potent anticancer effects, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, Vol.44, No.5, pp.513-523, Oct 2012. (DOI: 10.1007/s10863-012-9455-y)
 8. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Ohi K, Hashimoto R, Shimodera S, Imoto I, Itakura M, Takeda M, Ohmori T. Meta-analysis of association studies between DISC1 missense variants and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res.* Nov;141(2-3):271-3. 2012. (DOI: 10.1016/j.schres.2012.07.020.)
 9. Kurumaji A, Nishikawa T. An anxiogenic drug, FG 7142, induced an increase in mRNA of Btg2 and Adamts1 in the hippocampus of adult mice. *Behav Brain Funct.* Vol.8: 43, 2012 Aug 22. (doi:10.1186/1744-9081-8-43)
 10. Ozaki A, Nishida M, Koyama K, Ishikawa K, Nishikawa T. Donepezil-induced sleep spindle in a patient with dementia with Lewy bodies. *Psychogeriatrics.*, 2, 255-228.2012. (doi: 10.1111/j.1479-8301.2012.00411.x.)
 11. Numata S. A commentary on the gender-specific association of TSNAX/DISC1 locus for schizophrenia and bipolar affective disorder in South Indian population. *J Hum Genet.* Aug;57(8):475-6. 2012 (doi: 10.1038/jhg.2012.82.)
 12. Watanabe SY, Iga JI, Numata S, Nakataki M, Tanahashi T, Itakura M, Ohmori T. Association study of Fat-mass and obesity-associated (FTO) gene and body mass

- index in Japanese patients with schizophrenia and healthy subjects. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*. Dec;10(3):185-9. 2012 (doi: 10.9758/cpn.2012.10.3.185.)
13. Ishiwata S, Umino A, Umino M, Yorita K, Fukui K, Nishikawa T. Modulation of extracellular d-serine content by calcium permeable AMPA receptors in rat medial prefrontal cortex as revealed by in vivo microdialysis. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2013 (DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S1461145712001484>) (in press).
 14. Shibuya N, Koike S, Tanaka M, Ishigami-Yuasa M, Kimura Y, Ogasawara Y, Fukui K, Nagahara N, Kimura H. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nature Communications*. 22 January 2013. (DOI: 10.1038/ncomms2371) (in press)
 15. Ishiwata S, Ogata S, Umino A, Shiraku H, Ohashi Y, Kaji Y, Nishikawa T. Increasing effects of S-methyl-L-cysteine on the extracellular D-serine concentrations in the rat medial frontal cortex. *Amino Acids*. 2013.(DOI: 10.1007/s00726-013-1464-6) (in press.)
 16. Bai N, Hayashi H, Aida T, Namekata K, Harada T, Mishina M, Tanaka K. Dock3 interaction with a glutamate-receptor NR2D subunit preprotects neurons from excitotoxicity. *Mol Brain* (in press).