

防・治療薬開発の標的分子としての意義を明らかにする。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 原著

1) Tsuchida H, Yamamoto N, Kajii Y, Umino A and Nishikawa T: Cloning of a D-serine-regulated transcript *dsr-1* from the rat cerebral cortex. *Biochem Biophysiol Res Com*, 280: 1189-1196, 2001

2) Murata M, Kashiwa A, Oshima A, Umino A, Kurachi M and Nishikawa T: Nomifensine-induced *c-fos* mRNA expression in the discrete brain areas of the developing rat. *Neurosci Lett*, 303: 99-102, 2001.

3) Yamamoto N, Tomita U, Umino A and Nishikawa T: Uptake of D-serine by synaptosomal P2 fraction isolated from rat brain. *Synapse*, 42: 84-86, 2001

(2) 著書

1) Kajii Y, Toda S, Umino A and Nishikawa T: A molecular approach to identify essential factors for establishment of psychostimulant-induced behavioral sensitization. In K. Miyoshi, C.M. Shapiro, M. Gaviria, Y. Morita (Eds.) *Contemporary Neuropsychiatry (Proceedings of the 3rd International Congress of Neuropsychiatry)*, pp. 341-346, Springer-Verlag, Tokyo, 2001.

(3) 総説

1) 車地暁生, 西川 徹: 精神分裂病の神経発達障害仮説から見た新薬開発の可能性. *臨床精神薬理学*, 4: 189-196, 2001.

2) 山本直樹, 西川 徹: 新たな抗精神病薬開発の未来 特集「抗精神病薬50年のあゆみ」. *Schizophrenia Frontier* 2: 99-106, 2001

3) 西川 徹: D体のアミノ酸が脳ではたらく. 科

学 71: 984-988, 2001

4) 西川 徹: 覚醒剤精神病の分子生物学. *Current Insights in Neurological Science* 9: 2-4 2001

5) 柏 淳, 西川 徹: メタアンフェタミン、コカイン 特集1「薬物依存の分子機構」. *脳* 21 4: 30-34 2001

7) 黒田安計, 西川 徹: 覚せい剤による遺伝子発現. *分子精神医学* 2: 31-37 2002

8) 村岡新一郎, 梶井 靖, 平岡 秀一, 藤山 航, 海野麻未, 西川 徹: Methamphetamineに発達依存的応答を示す遺伝子の検索と逆耐性現象への関与. *精神薬療基金年報* 34: 34-38, 2002.

9) 山本直樹, 土田英人, 海野麻未, 梶井 靖, 岩間久行, 村岡新一郎, 桜井新一郎, 嶋津 奈, 西川 徹: 内在性D-セリンの代謝機構の解明と難治性分裂病症状の治療への応用. *精神薬療基金年報* 34: 185-192, 2002.

2. 学会発表

(1) 特別講演, シンポジウム

1) Kajii Y, Muraoka S, Hiraoka S, Fujiyama K, Umino A, Nishikawa T: Possible involvement of neocortical expression of a novel rat gene for a synaptic PDZ molecule, *Mrt1B*, in stimulant-induced behavioral sensitization, Session S15 Stimulant-Induced Psychosis. The 9th International Catecholamine Symposium, Kyoto, 4.3, 2001.

2) Nishikawa T, Kajii Y, Hiraoka S, Umino A, Hashimoto T, Muraoka S, Kuroda Y: Psychotomimetics and the molecular basis of schizophrenia, Session S23 Catecholamine and Neuropsychiatric Disorders. The 9th International Catecholamine Symposium, Kyoto, 4.4, 2001.

3) 西川 徹, 梶井 靖, 村岡新一郎, 藤山 航, 海野麻未, 黒田安計: 精神分裂病への分子薬理的アプローチ病態解明と新しい治療法開発を目指して一. ライフサイエンス技術部会メディカル分科会講演会, 東京, 4.17, 2001

4) 西川 徹: 精神分裂病の分子病態 (2). 第97回日本精神神経学会総会, 大阪, 5.18, 2001

- 5) 西川 徹: ゲノムサイエンスと精神医学: 分裂病で発現する遺伝子の研究. 第97回日本精神神経学会総会, 大阪, 5.19, 2001
- 6) Nishikawa T: Molecular Neurobiology of Schizophrenia. RIKEN BSI Summer Program, Wako, 7.6, 2001
- 7) 西川 徹: 覚せい剤による逆耐性現象と *mrt 1* 遺伝子. 「ここまで進んだ覚醒剤精神病の発症機序—よりよき治療を目指して」 ニコチン・薬物依存研究フォーラム, 東京, 7.14, 2001
- 8) 西川 徹: 精神機能疾患の現在: 分子から画像まで 動物モデル. 新潟神経学夏期セミナー, 新潟, 7.27, 2001
- 9) Nishikawa T: Metabolism and functions of endogenous D-serine. Sanofi-Synthelabo Seminar, Bagneux, 8.7, 2001
- 10) 西川 徹: 「精神分裂病の分子病態を探る」—病因解明と新しい治療薬開発を目指して—. 和風会講演会, 大阪, 8.31, 2001
- 11) 西川 徹: 分裂病の分子メカニズムを探る. 東京精神神経科診療所協会例会, 東京, 9.8, 2001
- 12) 西川 徹, 梶井 靖, 村岡新一郎, 藤山 航, 海野麻未, 黒田安計: 中脳ドーパミンニューロンと精神機能「中脳ドーパミンニューロン: 21世紀における新展開」. 第24回日本神経科学学会・第44回日本神経化学学会合同大会Neuro2001, 京都, 9.27, 2001
- 13) 西川 徹: 精神神経薬理についての最新情報—NMDA受容体と内在性D-セリンからみた分裂病の病態と治療法開発—. 2001年抗精神病薬研究会, 東京, 9.29, 2001
- 14) 西川 徹: 精神分裂病モデルにおける遺伝子発現と治療薬の開発. 第11回ヒューマンサイエンス総合研究セミナー, 東京, 10.30, 2001
- 15) 西川 徹: 分裂病症状の分子機構への発達神経科学的アプローチ. 東京都神経科学総合研究所セミナー, 11.20, 2001
- 16) Nishikawa T: Gene expression in animal models of schizophrenia, Annual Meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, 3.22, 2002

(2) 国際学会

- 1) Iwama H, Umino A, Hashimoto A, Takahashi K, Yamamoto N, Nishikawa T: Origin and regulation of extracellular D-serine in the rat brain: an in vivo microdialysis study. 7th International Congress on Amino Acid and Proteins, Vienna, 8.10, 2001
- 2) Yamamoto N, Tsuchida H, Umino A, Tomita U, Takahashi K, Hayashi F, Nishikawa T: Uptake and release of D-serine in rat brain synaptosomes. 7th International Congress on Amino Acid and Proteins, Vienna, 8.10, 2001

(3) 一般学会

- 1) 織田健二, 大久保善朗, 石田竜二, 村田雄二, 太田克也, 松田哲也, 松島英介, 一宮哲哉, 須原哲也, 澁谷均, 西川 徹: 血管性うつ病患者の局所脳血流所見. 第23回日本生物学的精神医学会, 長崎, 4.11, 2001
- 2) 中村映里奈, 太田克也, 石井賢二, 伊澤良介, 西川 徹: PETを用いた全生活史健忘例における脳糖代謝の検討. 第23回日本生物学的精神医学会, 長崎, 4.11, 2001
- 3) 土田英人, 山本直樹, 梶井 靖, 海野麻未, 福井頭二, 西川 徹: D-セリンによって大脳皮質において誘導される遺伝子 *dsr-1* の解析. 第23回日本生物学的精神医学会, 長崎, 4.11, 2001
- 4) 梶井 靖, 戸田重誠, 西川 徹: 成熟ラット海馬における *CDCrel-1* septinアイソフォーム (*CDCrel-1F/CDCrel-1A*) の発現. 第44回日本神経化学学会大会, 京都, 9.27, 2001
- 5) 山本直樹, 土田英人, 梶井 靖, 海野麻未, 西川 徹: ラット大脳皮質においてD-セリンによって誘導される遺伝子 *dsr-1* の解析. 第44回日本神経化学学会大会, 京都, 9.27, 2001

H. 知的所有権の取得状況

1. 研究方法
特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

3. その他

特記すべきことなし

厚生科学研究費補助金（障害保健福祉総合研究事業）

自殺予防を目指した新規向精神薬開発に関する研究

分担研究報告書

ストレス反応の年齢依存的変化の分子機構解明と自殺行動との関連の検討

分担研究者 車地 暁生

東京医科歯科大学医学部附属病院 講師

研究協力者 伊藤 卓

研究要旨 本研究は、自殺行動の原因となる精神障害を誘発する強度のストレスに関与する脳内神経回路とその分子生物学的機構を解明し、抗ストレス効果等によって自殺念慮・自殺企図の予防や治療に役立つ新規向精神薬の開発を目的としている。このため、自殺が年齢とともに増加することやストレス反応が発達に伴って変化することなどの現象に注目し、不安惹起物質である GABAA 受容体ベンゾジアゼピン部位逆アゴニスト FG7142 (FG 7142) を投与した実験動物（マウスとラット）で、大脳新皮質において発現が生後発達および加齢に依存して変化する遺伝子を、cDNA microarray 法と定量的 RT-PCR 法を用いて検索した。今年度の研究により、8 日齢、50～56 日齢、または 77 週齢（540 日齢）のマウスで、それぞれの時期に FG7142 に対して選択的応答を示す候補遺伝子が検出された。

A. 研究目的

自殺率は、調査年度に関わりなく、年齢にほぼ比例して増加するという疫学的データは、自殺行動に関係する脳の神経回路あるいはその情報処理を支える分子カスケードが発達や加齢とともに変化することを示唆している。また、自殺行動の原因となる精神障害を誘発する強度のストレスへの反応は、年齢によって異なると推測される。実際に、動物実験ではストレス負荷後の行動や生理活性物質の変化には発達の時期によって著明な差異がある。これらの所見から、脳内の抗ストレスまたはストレス応答システムは、生後発達の過程で成熟し、その後加齢変化を遂げると推測される。このようなストレス関連システムの障害が、精神疾患の発症、再発あるいは自殺行動発現の病態に関与している可能

性がある。したがって、この障害を緩和あるいは回復させる効果をもつ薬物を開発すれば、精神疾患の治療や予防に有効であり、自殺行動の防止にも非常に役立つと考えられる。そこで本研究では、心理的ストレスと同等の影響を及ぼすといわれる不安惹起物質に対して、年齢依存的に応答が変化する遺伝子を検索し、自殺行動の分子カスケードへの関与や新規向精神薬開発の標的としての意義を明らかにすることを目指している。今年度は、強力な不安惹起物質のひとつである GABAA 受容体ベンゾジアゼピン部位逆アゴニストを投与した実験動物の大脳新皮質において、年齢にともなって反応性が変化する遺伝子を DNA アレイ法を使って探索した。

B. 研究方法

実験には、生後 8 日齢、8 週齢、および 77 週齢の雄性マウス (C57/BL 系) を用いた。ストレスラーとして、不安惹起薬の FG-7142 (N-methyl-beta-carboline-3-carboxamide (GABAA 受容体ベンゾジアゼピン部位逆アゴニスト) : 10 ~40mg/kg) を用いた。FG-7142 は、0.1% の Tween 80 に懸濁し皮下注射 (s.c.) により投与した。対照群の動物には注射溶媒を投与した。

FG 7142 (20 mg/kg) または vehicle を投与した 1 時間後に大脳新皮質を取り出し、RNeasy Midi (Qiagen) を用いて total mRNA を抽出した。それぞれの実験群において、8-10 匹の等量をプールし、生後 8 日齢の FG 7142 投与群と対照群、生後 8 週齢の FG7142 投与群と対照群、ならびに生後 77 週齢の FG7142 投与群と対照群の合計 6 群の total mRNA サンプルを作製した。これらのサンプルを用いて、8,374 クローンに対する DNA チップスクリーニング (Incyte Genomics, Inc (Genome Systems Inc.)) を行い、さらに、半定量的 RT-PCR により測定した。一部の実験では、DNA アレイで検出された候補遺伝子の FG 7142 投与後の発現変化を、8 日齢または 8 週齢のラットの大脳新皮質でも検討した。

動物実験については、その倫理的側面においても、十分考慮し、「東京医科歯科大学動物実験の基本指針」に従った。

C. 研究結果

Platelet-derived growth factor B-polypeptide (PDGF-B) の遺伝子発現量は、マウスの大脳新皮質において、FG 7142 投与によって、8 週齢では有意に減少していたが、幼若期と 77 週齢では変化がみられなかった。幼若期と 8 週齢の結果は、ラットの大脳新皮質においても、ほぼ同様であ

ることを、半定量的な RT-PCR 法によって確認した。

また、transthyretin は幼若期に増加したが、生後 8 週齢および 77 週齢では変化しなかった。さらに、cytochrome P450, 2j5, 1 種の EST、epithelial membrane protein1 等の転写産物は、検討した 3 時期の中で、生後 77 週齢時にのみ発現が増加した。

D. 考察

主任研究者らの実験で、ラットに FG 7142 を投与すると、前初期遺伝子のひとつである c-Fos の免疫活性が、大脳新皮質において、成熟期では著明な増加がみとめられたが、幼若期ではこの免疫活性の増加がほとんど認められないことが明らかになっている (主任研究者の分担研究報告書を参照)。c-Fos は他の前初期遺伝子である c-Jun などと AP1 とよばれる転写調節因子を形成し、いろいろな遺伝子のプロモーターに結合して、その遺伝子の転写活性を亢進させることから、これらの結果は、大脳新皮質では、生後発達にともなって、不安惹起物質投与による遺伝子発現調節が大きく変化することを示唆している。従って、生後発達に伴って形成される抗ストレス応答システムにおいては、大脳新皮質が重要な部位のひとつであると考えられる。

今年度の研究において、大脳新皮質では、PDGFB 遺伝子が、成熟期においてのみ、その発現量が減少している可能性が示唆された。この PDGFB は、脳内では神経細胞やグリアに対する栄養因子として作用していることが知られているが、精神機能との関連は検討されていない。また、他に発達依存的な不安惹起薬応答性が見られた、transthyretin、cytochrome P450, 2j5, 1 種の EST、epithelial membrane protein1 等についても、これまで脳における解析が進ん

でない。今後、これらの遺伝子とその産生蛋白等に関して、種々のストレスや薬物負荷後の変化の脳部位による特徴、時間経過等を、詳細に調べることによりストレス応答システム、不安状態、うつ状態等における役割を明らかにし、自殺行動の治療・予防薬開発の標的分子としての意義を検討してゆく必要がある。

E. 結論

今年度の研究によって、1)不安惹起薬により、大脳新皮質における PDGFB、transthyretin、cytochrome P450, 2j5、1種のEST、epithelial membrane protein 1等の発現が変化すること、および 2)これらの発現変化は幼若期、早期成熟期、老年期によって異なることが初めて明らかになった。自殺率が年齢にしたがって上昇することや、ストレス反応性は年齢によって変化することを考え合わせると、このように不安惹起薬に対して年齢依存的応答を示す遺伝子は、自殺行動と関連するストレス応答システムの分子カスケードを構築している可能性がある。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Akeo Kurumaji et al., An association study between polymorphism of L1CAM gene and schizophrenia in a Japanese sample. *Am J of Med Genet (Neuropsychiatry Genetics)*, 105: 99-104, 2001.
2. Takeo Yoshikawa, et al. Evidence for association of the myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2) gene with schizophrenia in Japanese samples. *Molecular Psychiatry*, 62: 202-210, 2001.
3. A. Kurumaji, et al. An association of the

polymorphic repeat of tetranucleotide (TCAT) in the first intron of human tyrosine hydroxylase gene with schizophrenia in a Japanese sample. *Journal of Neural Transmission*, 108: 489 - 495, 2001.

4. Akeo Kurumaji et al. No association of two missense variations of the benzodiazepine receptor (peripheral) gene and mood disorders in a Japanese sample. *Am J of Med Genet (Neuropsychiatry Genetics)*, 105:172-175, 2001.
5. H. Ishiguro et al. Association analysis of the pituitary adenylyl cyclase activating peptide gene (PACAP) on chromosome 18p11 with schizophrenia and bipolar disorders. *Journal of Neural Transmission*, 108: 849-854, 2001.
6. T Domyo et al. An increase in [3H] SCH 23390 binding in the cerebral cortex of postmortem brains of chronic schizophrenics. *Journal of Neural Transmission*, 108: 1475-1484, 2001.
7. 車地 暁生、西川 徹 ストレス応答関連遺伝子と神経回路—ストレスによる c-fos と CRH の遺伝子発現の変化、*医学のあゆみ*、197: 263-266, 2001.

H. 知的財産権の出願登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記すべきことなし

厚生科学研究費補助金（障害保健福祉総合研究事業）
自殺予防を目指した新規向精神薬開発に関する研究
分担研究報告書

D-セリンシグナル調節による精神分裂病の自殺行動に対する新規治療法開発に関する研究

分担研究者 山本 直樹

国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第三部・室長

研究協力者 櫻井新一郎、嶋津 奈

研究要旨 精神分裂病（統合失調症）では、抗精神病薬に抵抗する陰性症状を中心とした難治性障害により、慢性化する例が多く、しばしば予測の難しい自殺行動が認められる。経過中に4-13%が自殺を完遂すると言われており、自殺行動を予防するためにも、より効果的な治療法を開発することが社会的要請のきわめて高い検討課題であると考えられる。本研究は、NMDA型グルタミン酸受容体アロステリック・アゴニストであり、精神分裂病の抗精神病薬抵抗性症状に対する効果が報告されている内在性物質の D-セリンに着目し、内在性 D-セリンの脳内代謝や作用にかかわる分子機構を明らかにすることにより、これらを標的とした新規治療薬を開発することを到達目標としている。初年度は、ラット大脳皮質シナプトソーム分画において D-セリンが中性アミノ酸トランスポーターに類似した新規システムを介してナトリウム依存性に取り込まれることを初めて明らかにした。このような D-セリンの取り込みに関与する分子の機能を阻害する薬物は、D-セリンのシグナルを増強し、自殺行動を含めた精神分裂病の難治性障害を改善することが期待される。

A. 研究目的

精神分裂病（統合失調症）では、抗精神病薬に抵抗する陰性症状を中心とした難治性障害により、慢性化する例が多く、しばしば予測の難しい自殺行動が認められる。患者の年間自殺率は0.4-0.8%であり、経過中に4-13%が自殺完遂にいたると報告されている。したがって精神分裂病の高い発症率を考慮すれば、新たな治療法の開発が社会的にも重要な課題であると考えられる。近年、精神分裂病患者を対象として NMDA 型グルタミン酸受容体のアロステリック調節部位（グリシン結合部位）に直接作用する薬物の臨床試験が行われはじめており、1998 年には D-セリンの6週間経口投与によって陰性症状および認知機能等の難治性症状の改善が得られたと報告され

た。したがって、脳の内在性の D-セリン濃度を調節する薬物をみいだすことができればさらに合理的な治療が可能になると期待される。そこで、D-セリンの作用や脳内代謝を調節する分子を明らかにすることによって、それらを標的分子とする精神分裂病新規治療薬の開発を近い将来に可能とすることを本研究の目的としている。

B. 研究方法

動物実験には、8 日齢および7 週齢の Wistar 系雄性ラットをもちいた。

ラット大脳皮質の D-セリン取り込み活性を検討するため、成熟ラットから単離した大脳新皮質組織に対し 10 倍量の氷冷等張

sucrose buffer を加えてホモジナイズした後、遠心によりシナプトソーム P2 分画を調製した。100 μM 5,7-dichlorokynurenic acid (DCK)を添加して NMDA 受容体への結合を阻害する条件にて、10 μM [^3H]D-セリン存在下で 32°Cで各時間 incubation した後、取り込まれた放射活性を測定した。同時に 0°C で incubation した値を差分して得られた値を温度に依存性の特異的 D-セリン取り込み活性とした。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験は国立精神・神経センター神経研究所動物実験倫理問題検討委員会の承認後、その指針にしたがっておこなわれた。

C. 研究結果

ラット大脳皮質シナプトソーム P2 分画における D-セリン(10 μM)の取り込みは、時間経過とともに linear に上昇し、約 4 分後に plateau level に達した。3 分間の incubation における取り込み活性は、16.8 \pm 3.2 pmol/mg protein であった。D-セリン取り込み活性は、大脳皮質および小脳で高く、肝臓および腎臓ではほとんど認められなかった。この D-セリン取り込みの体内分布は遊離 D-セリンと分布と類似していた。

大脳皮質における取り込みの kinetics の検討から、低親和型トランスポーターの関与を示唆する結果が得られた。ナトリウムイオン非存在下では、存在下に比べ取り込み活性は 23%程度に低下した。また、この取り込み活性は、L-セリン、L-アラニン等でも阻害されるが GABA やグルタミン酸では阻害されなかった。グリシンは D-セリンの取り込み活性を阻害したが、グリシンの取り込みの pH による変化が D-セリンの取り込みと

は異なることや、グリシンの取り込み活性を D-セリンが全く阻害しないことから、グリシントランスポーターによって D-セリンが取り込まれている可能性は低い。

以上に述べた D-セリン取り込み活性の性質は、全体としてこれまでに報告されている中性アミノ酸トランスポーターのいずれとも異なっていた

D. 考察

D-セリンは興奮性アミノ酸受容体のひとつである NMDA 受容体の内在性アロステリックアゴニストであり、脳内分布が高次脳機能にかかわる NMDA 受容体 NR2B アイソフォームと一致する。また、NMDA 受容体のチャンネル阻害作用を持つ PCP (phencyclidine)が、ヒトにおいて精神分裂病様の陽性症状ならびに陰性症状を引き起こし、動物においても行動異常を引き起こすことが知られている。PCP によるこれらの異常は、抗精神病薬によって部分的にしか改善しないことから、PCP 精神病や PCP 投与動物は、陰性症状を中心とした難治性の精神分裂病症状の病態や治療法を研究するのに適切なモデルと考えられている。

D-セリンは、PCP で誘発される動物の行動異常に対して改善効果をもたらし、難治性精神分裂病に対して陽性および陰性症状、ならびに認知機能等の改善がえられたと報告されている。一方で、精神分裂病に限らず、自殺行動と前頭葉皮質の NMDA 受容体機能低下の関係が示唆されている。これらの知見に基づいて、自殺予防のための新規治療薬の標的候補としての、D-セリン脳内代謝機構をあきらかにすることが本研究の課題である。

今回の研究結果から、D-セリンがラット

大脳皮質シナプトソーム分画において飽和性、温度依存性に細胞内に取り込まれることがあきらかとなった。Na⁺依存性やアミノ酸選択性は、既知の中性アミノ酸トランスポーターと類似しているところもあるが、全体として一致しておらず、内在性 D-セリンの取り込みには新規トランスポーターが関与している可能性がある。このようなトランスポーターの阻害剤は、内在性 D-セリンのシグナルを高めることにより、難治性精神分裂病症状を改善することが期待される。新規抗精神病薬を開発する上で、内在性 D-セリン取り込みを選択的に調節するトランスポーター分子の同定がこれからの課題となると考えられる。

また、分担研究者らの最近の研究では D-セリンの取り込みや放出を調節する可能性がある新規遺伝子がクローニングされた。したがって、来年度以降これらの分子についても新規向精神薬開発の標的としての可能性を検討して行きたい。

E. 結論

精神分裂病における自殺行動を予防するためのより効果的な治療法を開発する目的で、グルタミン酸伝達のシグナル修飾活性をもつ脳内在性 D-セリンの作用および代謝の調節機構を検討した。シナプトソーム分画をもちいた動物実験の結果から D-セリンが大脳皮質においてナトリウム依存性に取り込まれることがわかった。この取り込み活性は、L-セリン、L-アラニン等でも阻害されるが GABA やグルタミン酸では阻害されず、脳に高く抹消組織ではきわめて低い分布を示した。これらの所見から、内在性 D-セリンが、新規トランスポーター分子を介して細胞内に取り込まれる可能性が示唆された。このようなトラ

ンスポーター分子は、精神分裂病の新規治療薬の開発に有用と考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 原著

1. Yamamoto, N., Tomita, U., Umino, A. and Nishikawa, T.: Uptake of D-serine by synaptosomal P2 fraction isolated from rat brain. *Synapse* 42, 84-86, 2001
2. Yamamoto, N., Li, Qiu-lin, Mita, S., Morisawa, S. and Inoue, A.: Inhibition of thyroid hormone binding to the nuclear receptor by mobilization of free fatty acids. *Horm. Metab. Res.* 33, 131-137, 2001

(2) 総説

1. 山本直樹、西川徹: 新たな抗精神病薬開発の未来. 特集抗精神病薬 50年のあゆみ. *Schizophrenia Frontier* 2, 99-106, 2001

2. 学会発表

(1) 国際学会

1. Yamamoto, N., Tsuchida, H., Umino, A., Tomita, U., Takahashi, K., Hayashi, F., Nishikawa, T.: Uptake and release of D-serine in rat brain synaptosomes. 7th International Congress on Amino Acids and Proteins. Vienna, Austria 8.10.2001
2. Iwama, H., Umino, A., Hashimoto, A.,

Takahashi, K., Yamamoto, N., Nishikawa T.: Origin and regulation of extracellular D-serine in the rat brain: an in vivo microdialysis study. 7th International Congress on Amino Acids and Proteins. Vienna, Austria 8.10.2001

(2) 国内学会

1. 土田英人、山本直樹、梶井靖、海野麻未、福居顕二、西川徹: D-セリンによって大脳皮質において誘導される遺伝子 *dsr-1* の解析. 第23回日本生物学的精神医学会年会, 長崎, 4.12.2001
2. 山本直樹、土田英人、梶井靖、海野麻未、西川徹: ラット大脳皮質において D-セリンによって誘導される遺伝子 *dsr-1* の解析. 第24回日本神経科学会・第44回日本神経化学会合同大会, 京都, 9.27.2001
3. 山本直樹、土田英人、海野麻未、梶井靖、岩間久行、村岡新一郎、桜井新一郎、嶋津奈、西川徹: 内在性 D-セリンの代謝機構の解明と難治性分裂病症状の治療への応用. 第34回精神神経系薬物治療研究報告会, 吹田, 12.7.2001

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記すべきことなし

遺伝子調節因子をターゲットとした新規向精神薬の開発研究

分担研究者 神庭 重信

山梨医科大学精神神経医学講座

研究要旨

ストレス時に HPA 過亢進する母子分離、逆に亢進が抑制されている短時間ハンドリングモデルを用いて、拘束ストレス後の神経新生を観察した。ハンドリング群において 4 時間、6 時間拘束ストレスにより BrdU 陽性細胞が増加した。

A. 研究目的

ストレス脆弱性モデルおよびストレス耐性モデルを作成し、ストレス時における神経細胞可塑性の変化を観察し、薬剤の抗ストレス作用のスクリーニング方法を検討する。

B. 研究方法

母子分離

8 週齢のラットを交配させ、出生日に 8 頭（雄 4 頭、雌 4 頭）選択した。3 日目から 11 日目までの明期開始の 4 時間後に母親から 3 時間分離した母子分離群、15 分間のハンドリングのみ行ったハンドリング群、コントロール群の 3 群のラットを飼育した。出生 21 日後に離乳を行い、10～11 週齢まで飼育した。

拘束ストレス

ストレスは 2、4、6 時間の拘束ストレスを与えた。拘束ストレスの 24 時間前に BrdU50mg/kg を 4 回に分けて腹腔内に投与した。拘束ストレス後に 4%PFA を大動脈より灌流固定した。

免疫染色

3% H₂O₂ を用い内因性ペルオキシダーゼをブロックした後、4N HCl で denature を行う。ウマ血清で 30 分間のブロッキング後、抗 BrdU 抗体にて 24 時間のインキュベーションを行った。二次抗体を用いた後に ABC 法にて増幅し DAB-Nickel にて発色させた。

定量化

400 倍の光学顕微鏡を用い、海馬歯状回内側から 2 細胞の間の層に存在する BrdU 陽性細胞数を数え、歯状回の面積で除して、平方ミリあたりの陽性細胞数を各群で比較した。

（倫理面への配慮）

山梨医科大学動物実験倫理委員会の承認を得て、動物に対して出来る限り苦痛を与えないように配慮した。

C. 研究結果

母子分離群、コントロール群では拘束ストレスによって BrdU 陽性細胞数に変化を見せなかった。ハンドリング群では 4 時間、6 時間の拘束ストレスにより BrdU 陽性細胞数が増加した。

D. 考察

すでに、ECT、TCA、SSRI により神経新生が増加することが知られていることから、ストレス下での神経新生の増加がストレス耐性を生み出すメカニズムの可能性はある。

E. 結論

ストレス耐性モデルでは、ストレス時に神経新生が促進される可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

なし

3. その他
特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 原著

2. Suzuki, E., Yagi, G., Nakaki, T., Kanba, S., Asai, M.: Elevated plasmanitrate levels in depressive states. *Journal Affective Disorder* 63: 221-224, 2001.
3. Soma, M., Tamaoki, T., Kawano, H., Ito, S., Sakamoto, M., Okada, Y., Ozaki, Y., Kanba, S., Hamada, Y., Ishihara, T., and Maeda, S.: Mice lacking serum amyloid P component do not necessarily develop severe autoimmune disease. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 286, 200-205, 2001.

(2) 総説

1. 工藤耕太郎、神庭重信、ストレスと神経細胞死、*医学のあゆみ*、197：271-274、2001.
2. 工藤耕太郎、情動・ストレスと海馬、*臨床精神医学*、30：1493-1498、2001

2. 学会発表

(1) 国内学会

1. 工藤耕太郎、喬春香、神庭重信、情動記憶と海馬、第23回生物学的精神医学会
2. 工藤耕太郎、喬春香、有田順、神庭重信、情動ストレスと海馬神経細胞の分子カスケード 第28回日本脳科学学会シンポジウム
3. 工藤耕太郎、喬春香、神庭重信、情動ストレスと海馬神経細胞可塑性の変化 第3回感情・行動・認知(ABC)研究会
4. 玉置寿男、久保田正春、杉山仁視、前田秀一郎、保坂恭子、神庭重信 遺伝子改変マウスを用いたアルツハイマー病発症機構の解析 第3回感情・行動・認知(ABC)研究会

H. 知的財産権の出願・特許状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

患者由来培養細胞を用いた新規気分安定薬の開発に関する研究

分担研究者 加藤忠史 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム

研究要旨 気分障害患者の末梢血より株化した培養リンパ芽球を用いて、細胞内カルシウム動態を調べた。双極性障害患者では Thapsigargin 刺激性カルシウム反応が高い傾向があった。CCCP(carbonyl cyanide chlorophenyl-hydrazone)に対する反応は、ミトコンドリア遺伝子多型と関連していた。一卵性双生児不一致例を用いた検討でも罹患双生児では健常双生児に比して PAF(platelet activating factor)刺激および Thapsigargin 刺激性のカルシウム反応が亢進しており、双極性障害で Ca^{2+} 動態が変化していることが示された。今後、これらの細胞をドラッグスクリーニングに用いる予定である。

A. 研究目的

本研究では、自殺の原因の半分を占める、感情障害の予防薬開発を目指す。病態に直接作用し、既存の治療薬に基づく仮説にとらわれない、新たな観点からの新薬開発を行うため、気分障害患者の末梢血より株化した培養細胞を用いて、その機能異常を特徴づけた後、これを是正する薬剤を、直接ハイスループットファンクショナルドラッグスクリーニングにより探索する。

B. 研究方法

対象は、双極性障害患者 11 名、健康被験者 10 名、および 3 組の一卵性双生児（双極性障害不一致ペア 2 組および健康ペア 1 組）である。末梢血よりリンパ球を株化した。蛍光 Ca^{2+} 感受性色素 Fura-2、Rhod-2 を用い、蛍光分光光度計により細胞質またはミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度を測定した。静止時の細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定後、 $10\mu M$ の CCCP、 $1\mu M$ の PAF、または $10\mu M$ の thapsigargin を投与した。

（倫理面への配慮）

被験者には研究内容につき説明の上書面にて同意を得た。本研究の実施に際しては、理化学研究所および協力施設において、倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

双極性障害患者では、健常対照群に比して、thapsigargin 刺激による Ca^{2+} 反応が高い傾向が見られた。一方、基礎値、PAF 刺激、CCCP 刺激には差はなかった。CCCP 刺激による変動は、ミトコンドリア遺伝子 5178 多型と関連しており、双極性障害になりにくい遺伝子型である 5178A 型では、ミトコンドリアの Ca^{2+} 保持能が高い可能性が考えられた。

双極性障害不一致ペアでは、患者側で PAF および Thapsigargin による細胞質 Ca^{2+} 反応が亢進していた。基礎値および CCCP 反応には差がなかった。

D. 考察

双極性障害患者では Thapsigargin 刺激性 Ca^{2+} 反応が高い傾向が見られたこと、2 組の双極性障害不一致ペアでもほぼ同様の傾向を示したことから、Thapsigargin に対する Ca^{2+} 反応の増加が双極性障害の病態と関連する可能性が考えられた。双極性障害における、Thapsigargin に対するリンパ球 Ca^{2+} 反応の亢進は、Hough ら(1999)も報告している。

一方、CCCP に対する反応がミトコンドリア遺伝子多型と関連していた。CCCP によるカルシウム上昇は、ミトコンドリアからのカルシウムの漏出を反映していると考えられるが、双極性障害のリスクを高めることを我々が以前報告した 5178C 型では CCCP 刺激性 Ca^{2+} 反応が低いことから、ミトコンドリアの Ca^{2+} 保持力が低いことが双極性障害のリスクと関係している可能性が考えられた。

今後は、こうしたリンパ芽球の表現型差異の原因についてより詳細な検討を加えると共に、これらの細胞を用いて、製薬会社との共同研究により、新規薬剤の開発研究に着手する予定である。

E. 結論

双極性障害では特徴的な Ca^{2+} 動態の変化が見られた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kato T, Ishiwata M, Nagai T (in press) Mitochondrial calcium response in human transformed lymphoblastoid cells. Life Sciences

2. 学会発表

加藤忠史、石渡みずほ、垣内千尋、辻田高宏、岡崎祐士、久住一郎：極性障害患者の培養リンパ芽球細胞内 Ca^{2+} 反応——卵性双生児不一致例における検討。第24回生物学的精神医学会

H 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）
分担研究報告書

自殺企図、試行の頻度およびその特徴についての研究

分担研究者 川村則行 国立精神・神経センター 精神保健研究所
心身医学研究部 心身症研究室長
研究協力者 宮崎隆穂 長寿科学振興財団 リサーチレジデント

研究要旨 動物実験では、脳内の報酬系の刺激と末梢血のサイトカイン産生実験において、報酬系の刺激がTh1優位を作り出すことを確認している。さらに経時的変化の実験を追加して実験は終了する。

改変したMINIによって自殺傾向を職域で調べ、有効回答 3254 名中、過去に自殺傾向がなかったものが 86.9%、自殺傾向はあるが低度群は 10.2%、自殺を計画したり試行した者は 1.1%であった。

A. 研究目的

当初の予定では、動物実験にて自殺やストレスへの脆弱性に関わる遺伝子の動き等を観察して、新規薬物を発見する糸口を見出すことを目的としていたが、その方向性を変えて、ヒトにおける研究を行った。

ヒトの研究の目的は、自殺傾向の生物学的特徴を末梢血から捉えることである。

これまでの研究に基づく文献調査から自殺のハイリスク群は、以下のよう
に要約できる。

- ① 大うつ病に代表される感情障害
- ② 精神分裂病／不安障害／恐慌性

障害などの精神障害一般

- ③ アルコール／薬物乱用（物質依

存）

- ④ 精神障害者の家族歴のあること
- ⑤ 過去の自殺企図の有無
- ⑥ うつ病による退院後1ヶ月以内
- ⑦ 女性に比べ、男性が3倍ぐらい多い
- ⑧ アメリカでは、白人より黒人やマイノリティーの方が自殺率が高い
- ⑨ 対象喪失／経済的破綻などのメジャーライフイベントの存在

このような知見に基づき、今年は、自殺企図経験者等の頻度を調査した。

B. 研究方法

勤労者3500人に対し、MINIを改変して、自殺企図の既往や現症を調べ、自殺傾向の高い人を集めた。

自己記入式アンケートを以下の内容で構成した。

1. Karasekの職業性ストレス尺度 (JCQ)

2. Sheehanの不安尺度

3. Zungの抑うつ尺度 (SDS)

4. トラウマチェックリスト

5. IESR-J

6. 改変版MINI

MINIの改変は、ここ一ヶ月と言う限定をとり、過去(生涯)全般に焦点を広げ、6問目を省いた。

自己記入式アンケートの統計処理後、MINIの面接を、改変版MINIの高得点者から試行する。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントを取り、疫学研究の指針に則った。

C. 研究結果

3254人から有効回答が得られ、改変版MINIの得点が0点(自殺傾向なし)が2881人であった。373名は、過去に自殺傾向が存在した。303人は自殺について考えたことがあり、自殺を計画したり試行した者は35名であった。

ANOVAおよびT検定によると、自殺について考えたことのあるものは、不安抑うつの傾向強く、トラウマを経験し、そのPTSD的症狀(侵入、回避、麻痺)も強かった。

自殺を計画したり試行した者は、仕事量が少なく、抑うつ傾向高く、トラウマの侵入、回避、麻痺症狀が強く、運動量はやや多かった。

面接は現在も進行中。

D. E. 考察 および結論

Comprehensive Textbook of Suicidology] Ronald W. Maris, Alan L. Berman, Morton M. Silverman著, THE GILFORD PRESS, 2000 によれば、自殺の原因は、衝動性など人間の生物学的基盤(遺伝も含む)と、フロイトのタナトスなどが上げられている。実際、自殺の急性期には、15分ごとの監視等の手厚い看護が必要と言われる。自殺はかなり発作的な衝動によって起こりうる。

しかし、自殺を企図するものには一定の傾向がある可能性がある。そのために、自殺のハイリスク群というものを、末梢血によって予測することが可能かどうか確かめる。上記の結果から、彼らの末梢血中のmRNAの動きをDNAアレイによって調べ、何らかの傾向があるかどうか統計的に明らかにする上で、重要な情報を得た。末梢血からの自殺の予測という試みは全く無い点で独創的である。今後、さらに病歴調査、面接等を行う。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

原著

1) Tsuboi H, Miyazawa H, Wenner M, Iimori H, Kawamura N: Lesions in lateral hypothalamic areas increase splenocyte apoptosis. Neuroimmunomodulation 9(1): 1-5, 2001.

2) Drube J, Kawamura N, Nakamura A, Ando T, Komaki G, Inaba T: No leucine(7)-to-proline(7) polymorphism in the signal peptide of neuropeptide Y in Japanese population or Japanese with alcoholism: Psychiatric Genetics 11: 53-55, 2001.

3) Tetsuya Ando; Gen Komaki; Masami Karibe; Noriyuki Kawamura; Shinichiro Hara; Masato Takii; Tetsuo Naruo; Nobuo Kurokawa; Michiko Takei; Naoko Tatsuta; Mariko Ohba; Shinichi Nozoe; Chiharu Kubo; Toshio Ishikawa. 5-HT2A promoter polymorphism is not associated with anorexia nervosa in Japanese patients. Psychiatric Genetics 11:157-160, 2001.

4) Tetsuya Ando; Toshio Ishikawa; Noriyuki Kawamura; Masami Karibe; Mariko Oba; Naoko Tatsuta; Shinichiro Hara; Masato Takii; Tetsuo Naruo; Michiko Takei; Nobuo Kurokawa; Shinichi Nozoe; Chiharu Kubo; Gen Komaki. Analysis of tumor necrosis factor- gene promoter polymorphisms in anorexia nervosa. Psychiatric Genetics 11:161-164, 2001.

総説

1) 川村則行:サイコオンコロジーか

ら学ぶ 2. ストレス・心理社会的要因と免疫機能. 第 11 回日本サイコネフロロジー研究会特別講演, ニホンメディカルセンター, 臨床透析 17, 623-626, 2001.

著書

1) 川村則行: PTSD の薬物治療. 心的トラウマの理解とケア, じほう, 東京, 221-226, 2001.

2) 川村則行: 本当に強い人, 強そう
で弱い人. 飛鳥新社, 東京, 2001.

2. 学会発表

シンポジウム・ワークショップなど

1) 川村則行: ソーシャルサポートが免疫系 (Th1/Th2 バランス) に与える影響. 第 74 回日本産業衛生学会, 研究会合同シンポジウムⅢ「職場ストレスと免疫毒性アレルギー予防の接点」高知, 2001. 4. 6.

2) 川村則行: 特別講演: サイコオンコロジーから学ぶ. 第 11 回日本サイコネフロロジー研究会

3) 川村則行 日本ストレス学会 シンポジウム PTSD と免疫機能 久留米

一般口演

1) Kawamura N, Kim Y, Asukai N, Ishikawa T, Komaki G: Suppression of Cellular Immunity Subjects with a History

- of PTSD American Psychiatric Association. 2001 Annual Meeting, New Orleans, 2001. 5. 5-10.
- 2) 朴商会, 川村則行, 小牧元, 富岡光直, 鄭晋郁, 宮崎隆穂. : 韓国勤労者における日常の苛立ち事尺度開発. 第 42 回日本心身医学会総会, 鹿児島, 2001. 5. 24-25.
- 3) 飯森洋史, 原谷隆司, 石川俊男, 村上正人, 三木明子, 中田光紀, 川上憲人, 小牧元, 川村則行: 喫煙と免疫に関する研究. 第 42 回日本心身医学会総会, 鹿児島, 2001. 5. 24-25
- 4) 安藤哲也, 石川俊男, 原信一郎, 瀧井正人, 成尾鉄朗, 武井美智子, 黒川順夫, 苅部正巳, 龍田直子, 大場真理子, 川村則行, 野添新一, 久保千春, 小牧元: Anorexia Nervosa 患者における腫瘍壊死因子アルファ (tumor necrosis factor α) 遺伝子プロモーター領域の多型解析. 第 42 回日本心身医学会総会, 鹿児島, 2001. 5. 24-25
- 5) 宮崎隆穂, 川村則行, 小牧元, 石川俊男, 山崎靖夫, 立道昌幸, 飯森洋史, 三木明子, Marcus Wenner, 福西勇夫: 知覚されたソーシャルサポートと免疫系の関連. 第 42 回日本心身医学会総会, 鹿児島, 2001. 5. 24-25
- 6) 飯森洋史, 白川修一郎, 原谷隆司, 石川俊男, 村上正人, 三木明子, 中田光紀, 川上憲人, 酒見正太郎, 小牧元, 川村則行: 生涯診断 PTSD 患者の職場適応に関する研究. 第 42 回日本心身医学会総会, 鹿児島, 2001. 5. 24-25
- 7) H Iimori, N Kawamura: The Effect of cigarette smoking on immunology The 16th WORLD CONGRESS On PSYCHOSOMATIC MEDICINE In Goeteborg, Sweden, 25th August 2001 oral presentation
- 8) N Kawamura: Suppression of cellular immunity and ongoing sequels in male workers with a past history of posttraumatic stress disorder. The 16th WORLD CONGRESS On PSYCHOSOMATIC MEDICINE In Goeteborg, Sweden, 28th August 2001 oral presentation
- 9) .Miyazaki,, N. Kawamura, G. Komaki, T. Ishikawa: :The Hypothetical Pathway from Optimistic Belief and Perceived Social Support to the NK cell Populations.. The 16th WORLD CONGRESS On PSYCHOSOMATIC MEDICINE In Goeteborg, Sweden, 28th August 2001 poster presentation

3. その他

研究報告会

1) 摂食障害患者における uncoupling protein 2 遺伝子の多型解析.

安藤哲也, 石川俊男, 苅部正巳, 川村則行, 龍田直子, 瀧井正人, 久保千春, 成尾鉄朗, 野添新一, 原信一郎, 大場真理子, 武井美智子, 黒川順男, 小牧元. 第28回日本神経内分泌学会, 東京, 2001. 10. 26-27.

2) 安藤哲也, 小牧元, 成尾鉄朗, 瀧井正人, 原信一郎, 武井美智子, 黒川順夫, 苅部正

巳, 児玉直樹, 棚橋徳成, 川村則行, 立川直子, 野添新一, 久保千春, 石川俊男: 神

経性食欲不振症患者における uncoupling protein 遺伝子の多型解析. 第5回日本摂食

障害研究会. 2002. 1. 25. 札幌.

3) 川村則行 宮崎隆穂 飛鳥井望 金吉晴 前田正治: トラウマと免疫機能 1 平成13年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費13公一4 「PTSD研究(主任研究者: 金吉晴)」合同研究報告会, 東京, 2001. 12. 12.

4) 川村則行 宮崎隆穂 飛鳥井望 金吉晴 前田正治: Immunological Reactions in male subjects with current PTSD or, a past history of PTSD 平成13年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費13公一4

「PTSD研究(主任研究者: 金吉晴)」合同研究報告会, 東京, 2001. 12. 12.

3 その他 講演

1) 川村則行 小平地区道徳週間講演会 小学生と心身の健康 小平第14小学校 小平平成14年2月13日

2) 川村則行 ストレスと免疫 東京都立大学都市科学講座 八王子 平成14年1月21日

3) 川村則行 心で始まる病気 社会生産性本部メンタルヘルス研究所 渋谷 平成13年11月22日

4) 川村則行 ミレニアムプロジェクトを中心に メンタルヘルス懇話会 社会生産性本部メンタルヘルス研究所 渋谷 平成14年3月22日

海外研究員受入

1) 川村則行 受入研究者 文部科学省 STA fellowship 中高年のストレスと免疫に関する研究(フェロー: 朴商会)

委員等

心療内科学会 編集委員会 編集委員

武蔵野女子大学 非常勤講師

大阪大学医学部大学院環境医学講座 非常勤講師

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧