

- Behavioral sensitization to methamphetamine in the rat; An ontogenic study. *Psychopharmacol* 91: 316-319, 1987
- 10) Kolta MG, Scalzo FM, Ali SF, et al: Ontogeny of the enhanced behavioral response to amphetamine in amphetamine-pretreated rats. *Psychopharmacol* 100: 377-382, 1990
 - 11) Scalzo FM, Burge LJ: The role of NMDA and sigma systems in the behavioral effects of phencyclidine in preweanling rats. *Neurotoxicology* 15: 191-200, 1994
 - 12) Scalzo, FM, Holson RR: The ontogeny of behavioral sensitization to phencyclidine. *Neurotoxicol Teratol* 14: 7-14, 1992
 - 13) Ujike H, Tsuchida K, Akiyama K, et al: Ontogeny of behavioral sensitization to cocaine. *Pharmacol Biochem Behav* 50: 613-617, 1995
 - 14) Robinson TE, Becker JB: Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration; A review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res* 396: 157-198, 1986
 - 15) 佐藤光源, 伊藤千裕, 豊田洋, 他: 覚醒剤による遅発性精神病 - 疾患概念と成因研究の現状 -. *精神医学* 38: 796-805, 1996
 - 16) Vanderschuren LJ, Kalivas PW: Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization; A critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)* 151: 99-120, 2000
 - 17) McDougall SA, Duke MA, Bolanos CA, et al: Ontogeny of behavioral sensitization in the rat; Effects of direct and indirect dopamine agonists. *Psychopharmacology* 116: 483-490, 1994
 - 18) Morgan JI, Curren T: Stimulus-transcription coupling in the nervous system; Involvement of inducible proto-oncogenes fos and jun. *Annu Rev Neurosci* 14: 421-451, 1991
 - 19) 西川徹, 柏淳, 海野麻未, 他: Methamphetamine および cocaine 投与ラットにおける脳内 c-fos 遺伝子発現の生後発達に伴う変化. 厚生科学研究補助金(麻薬対策総合研究事業)「薬物依存による脳性障害とその発生機序に関する研究」. 平成5年度研究報告書. 35-42, 1994
 - 20) Nishikawa T, Umino A, Kashiwa A, et al: Stimulant-induced behavioral sensitization and cerebral neurotransmission. *in* Neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders. Tokyo, Excerpta Medica, Ltd., 53-62, 1993
 - 21) Umino A, Nishikawa T, Takahashi K: Methamphetamine-induced nuclear c-Fos in rat brain regions. *Neurochem Int* 26: 85-90, 1995
 - 22) Kajii Y, Muraoka S, Hiraoka S, et al: A developmentally regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene mrt1 encoding PDZ-PX proteins isolated in the neocortex. *Mol Psychiatry* 8: 434-444, 2003
 - 23) Fujiyama K, Kajii Y, Hiraoka S, Nishikawa T: Differential regulation by stimulants of neocortical expression of mrt1, arc, and homer1a mRNA in the rats treated with repeated methamphetamine. *Synapse* 49: 143-149, 2003
 - 24) Hata Y, Nakanishi H, Takai Y: Synaptic PDZ domain-containing proteins. *Neurosci Res* 32: 1-7, 1998
 - 25) Wishart MJ, Taylor GS, Dixon JE: Phoxy lipids; Revealing PX domains as phosphoinositide binding modules. *Cell* 105: 817-820, 2001
 - 26) Hoover KB, Bryant PJ: The genetics of the protein 4.1 family; Organizers of the membrane and cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol* 12: 229-234, 2000
 - 27) 柏淳, 伊藤卓, 黒田安計, 他: 逆耐性現象に関与する新規遺伝子 mrt1b と相互作用する分子の検索. *精神薬療研究年報* 35: 59-61, 2003
 - 28) 西川徹, 柏淳, 海野麻未, 他: Methamphetamine または phencyclidine 投与によって脳内発現が誘導される遺伝子に関する研究. 厚生科学研究補助金(麻薬対策総合研究事業)「薬物依存による脳性障害とその発生機序に関する研究」. 平成6年度研究報告書. 39-45, 1995
 - 29) Sato D, Umino A, Kaneda K, et al: Developmental changes in distribution patterns of phencyclidine-induced c-Fos in rat forebrain. *Neurosci Lett* 239: 21-24, 1997
 - 30) 平岡秀一, 梶井靖, 海野麻未, 他: ラット脳において phencyclidine による発現誘導が発達段階依存的に増強する遺伝子の同定. *精神薬療研究年報* 32: 17-22, 2000

Special Review

脳内D-セリンの代謝と生理作用

Metabolism and Functional Roles of Endogenous D-serine In Mammalian Brains

西川 徹

Toru Nishikawa

最近, NMDA型グルタミン酸受容体のコ・アゴニストであるD-セリンが, 哺乳類の組織ではD体のアミノ酸は恒常的に存在することはないという定説に反し, 哺乳類の脳内では一生を通じて間高濃度に維持され, NMDA受容体と類似した分布を示すことが明らかになった. 脳のD-セリンはグリアとニューロンの双方に含まれ, 少なくともNMDA受容体の内在性調節因子として, 様々な精神神経機能とその病態に関与することが示唆されている.

key words

D-セリン, NMDA型グルタミン酸受容体, コ・アゴニスト, 脳, グリア-ニューロン相互作用, 統合失調症

西川 徹 東京医科歯科大学大学院精神行動医学分野 E-mail: tnis.psyc@tmd.ac.jp
1985年東京医科歯科大学大学院医学研究科修了, 医学博士, 東京医科歯科大学医学部附属病院精神科, Synthelabo-L.E.R.S., 国立精神・神経センター神経研究所などを経て, 1999年より現所属, 教授. 統合失調症を中心として精神疾患の分子機構に関する研究を行っている.

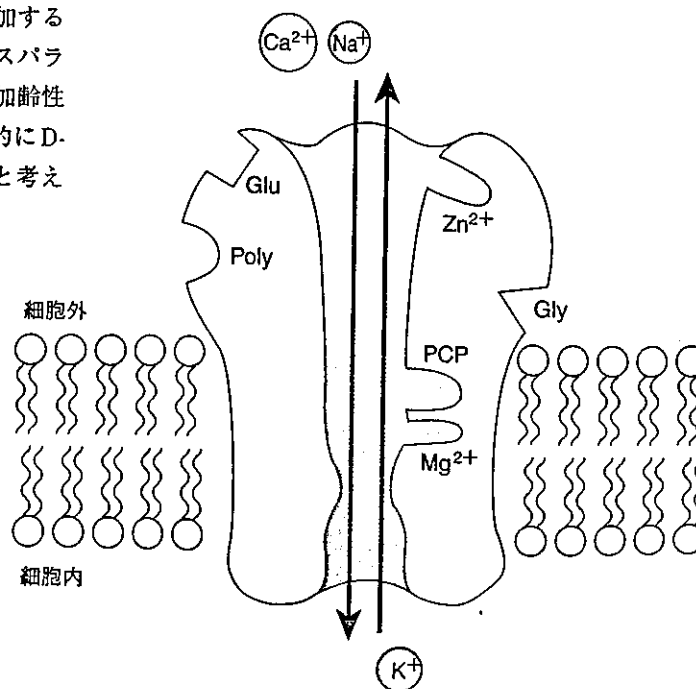
はじめに

自然界の多くのアミノ酸には, D体とL体の鏡像異性体(光学異性体)がある. 細菌や無脊椎動物とは異なり, 哺乳類組織中の生理的アミノ酸は, 遊離型かペプチドやタンパク質中の成分かを問わずL体で占められるというのが長い間の定説であった¹⁾. 分析技術の向上により, 1970年代以降, 歯, 中枢神経系の白質, 眼のレンズなどに含まれるタンパク質では, 老化とともにわずかながらアスパラギン酸, セリンあるいはアラニン残基においてD体の割合が増加することが知られるようになった²⁾. さらに, 遊離型D-アスパラギン酸が発達期の諸組織に検出されたが³⁾, これらは加齢性の病的現象か発達過程の一過性発現であって, 恒常的にD-アミノ酸が存在して生理機能を発揮することはないと考えられていた.

ところが筆者らは, NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型グルタミン酸受容体遮断薬が統合失調症様異常を引き起こすことに注目し, NMDA受容体グリシン結合部位(図1)を刺激して本受容体機能を促進する, D-セリン, D-アラニンとそれらの脂肪酸化合物を用いて統合失調症の病態および新しい治療法を研究する過程で, 1991年から翌年にかけて, ラットの脳で遊離型D-セリンが一生を通じて高濃度に維持

図1. NMDA受容体イオンチャネルの模式図

NMDA受容体は, 細胞外から Na^+ や Ca^{2+} を流入させ, 細胞内から K^+ を透過させるイオンチャネルを構成しており, グルタミン酸結合部位 (Glu), グリシン結合部位 (Gly), マグネシウムイオン結合部位 (Mg^{2+}), フェンサイクリジン結合部位 (PCP), ポリアミン結合部位 (Poly) などの, 種々の調節部位を持つ, NR1サブユニット(多様なバリエーションが存在)と4種のNR2サブユニットA~Dの少なくとも1種が組み合わさったヘテロメリック集合体を形成することが示唆されており, GlyはNR1上に, GluはNR2上にあると考えられている. 最近, NR3サブユニットが同定されたが, 本模式図とは異なる調節部位を持つ可能性がある(本文参照).



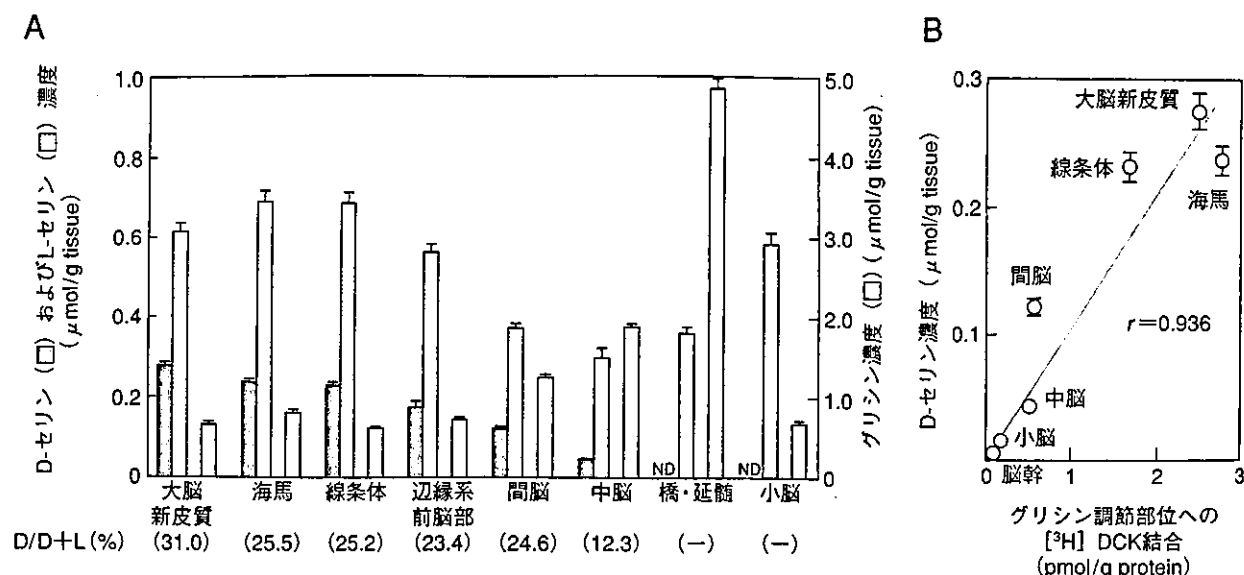


図2. 脳内D-セリンの分布

A: 成熟ラット脳各部位におけるD-セリン, L-セリンおよびグリシンの組織中濃度の比較. NDは検出感度以下を示す.

B: 脳各部位のD-セリン濃度と, NMDA受容体グリシン調節部位密度〔グリシン調節部位の選択的遮断薬5,7-dihydroxykynurenic acid (DCK)により標識〕との関係. 相関係数(r)は1に近く, 両者が酷似した分布をしていることがわかる.

されることを見いだした²⁾. さらに, 分布, 代謝および機能に関する研究を進め, 内在性D-セリンは, 哺乳類の脳においてNMDA受容体の内在性調節因子として精神神経機能の調節に関与する新しいタイプの生理活性物質であることを提唱した²⁾. その後, 内在性D-セリンの研究が次第に波及しているが, 本稿では現状と今後の課題について概説する.

I. 哺乳類脳の内在性D-セリンの分布と代謝

1. 分布

成熟ラット体内のD-セリンは脳選択的に集積し, 脊髄, 末梢各組織および血液中ではきわめて低濃度である(ただし尿中濃度は高い)²⁾. 脳内D-セリンの分布も不均一で, 前脳各部位では高濃度, 間脳, 中脳では中等度から低濃度, 後脳の組織は痕跡程度である²⁾(図2). この脳内分布は, NMDA受容体のグルタミン酸, phencyclidine (PCP) およびグリシン(図2)各結合部位の密度分布と強い正の相関を示し, 特にNMDA受容体R2BサブユニットmRNAの分布と酷似している²⁾. 内在性D-セリンの分布のこうした特徴は, 抗D-セリン抗体を用いた免疫組織化学的研究でも確認され, ヒト⁵⁾を含む哺乳類の間で共通である²⁾.

脳内D-セリンの分布は発達に伴って著しく変化し, ラットでは出生直後はほぼ均一に分布しているが, 生後3週ころまでに成熟期のパターンに近づく²⁾(図3). この変化も,

R2BサブユニットmRNAの脳内分布の発達とよく一致している²⁾.

細胞レベルでは, D-セリン様免疫反応はアストロサイトに強いが, ニューロンの細胞体, 樹状突起, 軸索にも観察される³⁾. 海馬の免疫電子顕微鏡的研究では, アストロサイトのD-セリン様免疫反応が, 血管壁やニューロンの樹状突起・スパインに隣接する突起部分に豊富なことが報告されている⁴⁾.

2. 細胞外遊離

in vivo ダイアリスिसにより, ラット脳の細胞外液中にD-セリンが検出される. その濃度は, 脳部位によって異なり組織中濃度と高い相関を示す(前頭葉皮質では約 5×10^{-6} M)²⁾. 神経の脱分極刺激後には, グリシンやグルタミン酸のように神経伝達物質として機能するアミノ酸が急速に増加するのに対して, D-セリンはかえって低下する²⁾. また, インパルスフロー遮断時やカルシウムイオンを除去した条件では細胞外液中D-セリンは有意に増加し, 神経伝達物質とは異なる機序によって細胞外へ遊離されると考えられる²⁾.

3. 取り込み

ラット脳のホモジネート^{5)~7)}または大脳皮質から得られたアストロサイト主体の培養標本²⁾, ラットグリオーマ由来のC6細胞²⁾などでは, 放射性D-セリンが取り込まれる. 脳

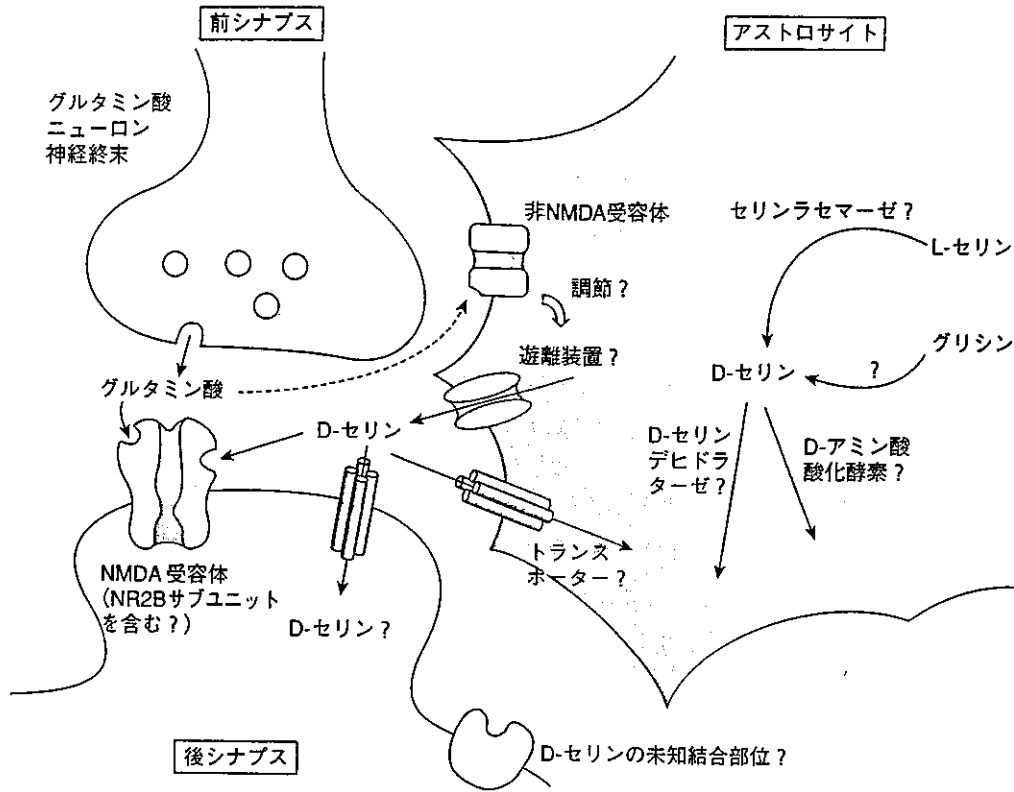


図4. 脳内D-セリン動態の模式図 (仮説)

脳内D-セリンは、ニューロンとグリア細胞の双方に含まれ、いずれかに生合成系、細胞外への放出機構、取り込み機構、分解系などが存在すると推測される。細胞外液中のD-セリンは、少なくともグルタミン酸シナプスにおいてNMDA受容体グリシン結合部位に作用し、グルタミン酸伝達を制御する。これ以外にも生理的作用部位と推測される高親和性結合部位が検出されるが、分子の実体と局在は不明である。グルタミン酸は、グリア細胞の非NMDA型受容体を介してD-セリンの放出を促進するという説がある。D-セリンの生合成および分解の経路はアストロサイト以外にも存在する可能性がある。

グリシン結合部位の作用物質は、統合失調症状、小脳失調、アルコールの作用、痴呆モデル動物の学習能、不安行動、けいれん閾値、虚血性神経細胞死、依存性薬物による長期的行動異常などに影響を及ぼす。最近には特に、内在性D-セリン発見の契機ともなった統合失調症の病態との関連が注目されている。

PCPに代表されるNMDA受容体遮断薬は遮断作用の強さに比例して、統合失調症様の精神異常を引き起こし、グリシン、D-サイクロセリン、D-セリンなどのNMDA受容体グリシン結合部位のアゴニストを服用した統合失調症患者の症状の改善が報告されていることから、統合失調症ではNMDA受容体を介するグルタミン酸神経伝達の低下が推測されている²⁾。その原因の1つとして、脳内D-セリンの代謝や機能に関与する分子の異常などによって、グリシン結合部位へのD-セリンシグナルの減少が生じ、本受容体機能が低下する可能性がある。筆者らは統合失調症患者と非精神神経疾患患者の死後脳で前頭葉皮質および側頭葉皮質の組織中D-セリン濃度を測定したが、両群間に有意な差は認め

なかった²⁾。しかし、統合失調症患者の死後脳では縁上回、角回、体性感覚野、運動前野などの大脳皮質領域でNMDAグリシン結合部位の増加が観察され、特定の神経回路におけるD-セリンの細胞外放出が減少したための代償的応と考えることもできる。さらに分子遺伝学的解析において、DAOおよびその活性に影響するG72の遺伝子多型と統合失調症が有意に相関することが見いだされ¹⁸⁾、D-セリン代謝の変化との関連が推定されている。最近、統合失調症患者の血液中D-セリンの低下が報告されたが¹⁹⁾、アルツハイマー病患者でも同様の減少が認められ²⁰⁾、疾患特異性、薬物の影響、血液中と脳内のD-セリン濃度の関係などについて今後の検討が待たれる。

このほか、小脳失調にもD-セリンの異常が関与する可能性がある²¹⁾。すなわち、①NMDA受容体の遮断薬やNR2AおよびNR2C双方のサブユニット遺伝子のノックアウトによって小脳失調症状が生じ、②小脳ではD-セリン濃度はきわめて低い、取り込み活性は高くDAO活性欠損によりD-セリン濃度が上昇するため、D-セリンの生合成が行われ生

理的役割を果たしていると推察される。また筆者らは、薬物性あるいは遺伝性の小脳変性モデルマウスや脊髄小脳変性症患者の少なくとも一部では、D-セリンまたはD-サイクロセリンが運動失調が改善することを見だし、現在研究対象を拡大して検討中である^{2), 21)}。

非ケトーシス型高グリシン血症では、脳に病変が認められずかつ代謝性でない疾患に比べて死後脳大脳皮質中のD-セリン濃度が3分の1程度に激減していることと、精神発達遅滞、けいれん発作、無呼吸発作、嗜眠などの多彩な中枢神経症状との関連が疑われる²⁾。一方、一過性虚血時のラビット梨状葉皮質では細胞外D-セリン濃度が上昇し²²⁾、DAO処置により内在性D-セリンが選択的に低下したラットの海馬スライスでは虚血性神経損傷が抑制される事実は²³⁾、脳血管性障害の病態にもD-セリンの異常が関与していることを示唆している。

おわりに

脳の内在性D-セリンは、D体のアミノ酸であることのほかに、古典的な神経伝達物質とは異なり、コ・アゴニストとしてシナプス間隙に一定以上の濃度が維持される必要があ

り、グリアとニューロンの相互作用を担うなどの特殊性を持つ。したがって、脳内D-セリンの代謝および生理機能の分子機構が解明により、新たな生化学的知見ばかりでなく、脳機能を制御する未知の情報処理システムの手掛かりをもたらされ、精神神経疾患の原因・病態の理解と新たな治療法開発が大きく前進することが予想される。本稿で触れたように、統合失調症や小脳失調においては、すでに、D-セリンがグリシン結合部位の刺激を介してNMDA受容体遮断薬に拮抗する作用を治療に応用する研究が続けられ、既存の抗精神病薬が奏功しない統合失調症状や、治療薬の乏しい小脳失調症状が改善することが示唆されている。現在NMDA受容体機能調節物質として臨床応用可能なのは、グリシン、D-サイクロセリン、D-セリンなどに限られ、しかも有効投与量、副作用などの点で問題がある。脳内D-セリンの研究が進展すれば、例えばD-セリン特異的トランスポーターの阻害薬のように、D-セリン関連分子を標的としたD-セリンシグナル調節薬の探索を可能となり、こうした問題が克服されて、少なくとも、NMDA受容体機能異常を示す難治性の精神神経疾患に対する創薬に結び付くことを期待できよう。

文献

- 1) Fujii N: *Orig Life Evol Biosph* (2002) 32: 103-127
- 2) 西川 徹ら: *日本神経精神薬理学雑誌* (2000) 20: 33-39
- 3) Yasuda E, et al: *Neurosci Lett* (2001) 299: 162-164
- 4) Schell MJ, et al: *J Neurosci* (1997) 17: 1604-1615
- 5) Yamamoto N, et al: *Synapse* (2001) 42: 84-86
- 6) Javitt DC, et al: *Brain Res* (2002) 941: 146-149
- 7) Ribeiro CS, et al: *Brain Res* (2002) 929: 202-209
- 8) Matsuo H, et al: *Neurosci Lett* (2004) 358: 123-126
- 9) Wolosker H, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (1999) 96: 13409-13414
- 10) 吉村 徹: *生化学* (2004) 76: 378-381
- 11) Urai Y, et al: *Neurosci Lett* (2002) 324: 101-104
- 12) Tsuchida H, et al: *Biochem Biophys Res Commun* (2001) 280: 1189-1196
- 13) Danysz W, et al: *Pharmacol Rev* (1998) 50: 597-664
- 14) Mothet JP, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2000) 97: 4926-4931
- 15) Yang Y, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2003) 100: 15194-15199
- 16) Chen L, et al: *J Neurophysiol* (2003) 89: 691-703
- 17) Chatterton JE, et al: *Nature* (2002) 415: 793-798
- 18) Chumakov I, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* (2002) 99: 13675-13680
- 19) Hashimoto K, et al: *Arch Gen Psychiatry* (2003) 60: 572-576
- 20) Hashimoto K, et al: *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* (2004) 28: 385-388
- 21) Ogawa M, et al: *J Neurol Sci* (2003) 210: 53-56
- 22) Lo EH, et al: *Neurosci* (1998) 83: 449-558
- 23) Katsuki H, et al: *J Pharmacol Exp Ther* (2004), 印刷中

Schizophrenia の分子病態

—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—

西川 徹*

はじめに

今日は統合失調症の分子病態へのアプローチについて、2つの観点に絞ってお話します。副題にありますように、1つは内在性の D-セリン、それからもう1つは発達依存的に脳の中で統合失調症とよく似た症状を起こす薬物への反応性を獲得してくる分子群で、いずれも私たちの研究グループが最近見出したものですが、統合失調症にどういう意義をもつのかを考えて行きたいと思えます。

統合失調症の分子病態に関しては、(1) ヒトゲノムを対象とした分子遺伝学的研究、(2) 死後脳、脳脊髄液、血液などの生化学的・分子生物学的研究、(3) 向精神薬の作用をもとにした動物モデルにおける薬理学的研究、(4) 遺伝子操作動物を用いた研究などが進められていますが、私たちの研究は、臨床薬理学的知見にもとづいた(3)を出発点として、他の領域の研究を組み合わせた総合的アプローチを試みています。最終的には、(a) 抗精神病薬が効かない難治性の統合失調症状の治療薬を開発することと、(b) 発症や再発を未然に予防する手段を手にいれることを目指しています。そこで、初めに統合失調症状の発

現機序の臨床薬理学的理解についてまとめておきたいと思えます。その後、本日お話しする2種類の分子それぞれについて、重要であると考えた根拠とこれまでに得られた研究結果をご紹介しますと考えております。

I. 薬理学的に見た統合失調症状の特徴

統合失調症とよく似た症状を起こす薬物は主に2種類のグループが知られています。ひとつは N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 型グルタミン酸受容体を遮断する薬物群で、最も有名なものは phencyclidine (PCP) です。もう一群は、臺先生、佐藤先生が永年研究されて来られたドーパミンのアゴニスト (作動薬) です。

Amphetamine 類 (amphetamine, methamphetamine (MAP) などのいわゆる覚醒剤)、cocaine などのドーパミン作動薬は、統合失調症と区別が難しい幻覚・妄想状態を発現させ、陰性症状が目立つ異常を引き起こすことは少ないと言われていいます。この陽性症状は、D2 ドーパミン受容体遮断作用を主体とする定型抗精神病薬によって改善します (図1)。こうした所見が、統合失調症患者において抗精神病薬の幻覚・妄想状態を改善する作用が D2 受容体遮断力価と正の相関をもつことや、一群の統合失調症患者では健常者に比べてドーパミン作動薬が精神症状を引き起こしやすいこと等とともに、「統合失調症のドーパミン伝達過剰仮説」の根拠になっているのはご承知の通りです。これに対して NMDA 受容体を遮断する薬物を使用したヒトでは、陽性・陰性双方の統合失

平成14年4月12日、埼玉にて開催。

Molecular mechanisms of schizophrenia: Possible involvement of brain D-serine related and developmentally-regulated molecules.

*東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野

(〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45)

Toru Nishikawa: Section of Psychiatry & Behavioral Sciences, Tokyo Medical & Dental University Graduate School, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8519 Japan.

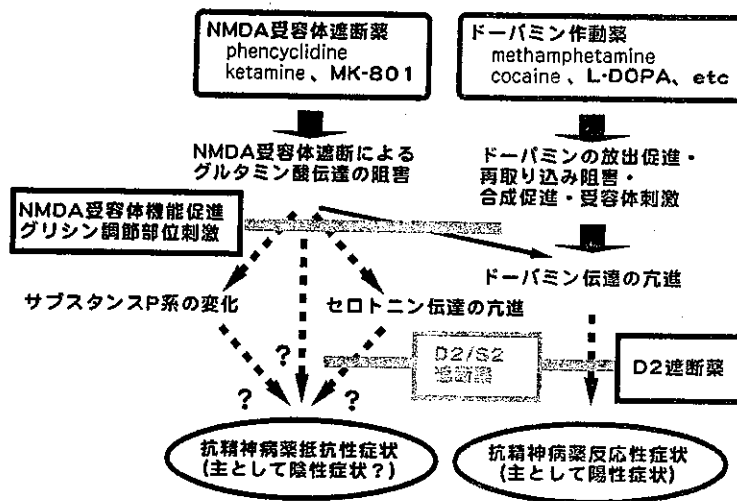


図1 薬理的に見た統合失調症状の発現機序 (仮説)

調症様症状が現れ、定型抗精神病薬による治療に抵抗性を示すことが報告されています。NMDA受容体遮断薬はグルタミン酸伝達を抑制するわけですので、「統合失調症のグルタミン酸伝達低下仮説」を臨床薬理的に支えていることとなります。

ここで、ドーパミン作動薬とNMDA受容体遮断薬が引き起こす病態の間に何か関係があるのかという疑問が生じます。私たちは、PCP投与ラット脳のドーパミン代謝が、大脳皮質や側坐核などでは亢進するのに（大脳皮質での変化の方が大きい）、線条体では変化し難いという違いが従来より指摘されてきたことに注目しました。ラットを使った実験を行い、少なくとも前頭葉皮質においてはNMDA受容体が遮断されるとドーパミン伝達が過剰になることを証明し、この異常が陽性症状の発現に関与する可能性を示唆しました。さらに他の研究グループは、NMDA受容体機能が低下すると、おそらくそれによって興奮性に制御されているGABAニューロンの活動性が減弱し、結果としてGABAニューロンが抑制しているドーパミンニューロンの活動性が増大することを実験的に示しています。つまり、NMDA受容体遮断薬とドーパミン作動薬の双方に共通して、統合失調症様の陽性症状が生ずるメカニズムは、少なくとも大脳皮質の神経回路の特徴によって説

明しうることがわかります。

一方、これらの統合失調症様異常発現薬の作用から抗精神病薬の臨床効果を考えてみます。D2受容体遮断が主作用の定型抗精神病薬は、ドーパミン伝達の過剰と関連した陽性症状を改善します。最近登場した非定型抗精神病薬は、S2セロトニン受容体遮断作用がD2遮断作用に比べ相対的に高い特徴をもち、陽性症状に加えて陰性症状の一部も改善します。NMDA受容体遮断薬は線条体や大脳皮質において、セロトニンの細胞外液中への放出を増加させるので、S2遮断作用はこのセロトニン伝達亢進を調節することによって陰性症状の部分的改善効果を発揮している可能性があります（図1）。セロトニン系とドーパミン系の間には相互作用があるため、S2・D2受容体親和性比も陰性症状への治療効果に重要な意味をもつことが予想されます。しかし、たとえばサブスタンスP系のように、NMDA受容体遮断薬のドーパミン伝達系以外のシステムへの作用は他にもあることが確認されているので、これらの系の異常も同時に改善する薬物でないと、陰性症状を十分抑制する作用は望めません。

このように、ドーパミン作動薬とNMDA受容体遮断薬によって生ずる脳内の異常から、一群の統合失調症における陽性・陰性症状と既存の抗精神病薬の治療効果の発現機序を推測することがで

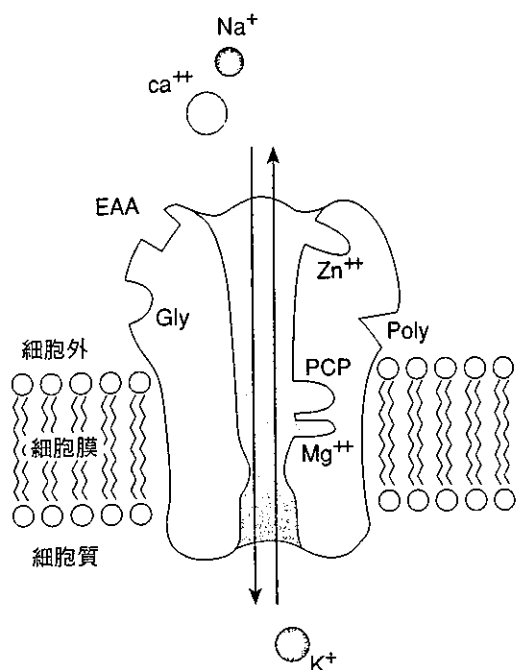


図2 NMDA 受容体イオンチャンネル
 EAA:興奮性アミノ酸結合部位, Gly:グリシン調節部位, Mg⁺⁺:マグネシウム結合部位, PCP:PCP結合部位, Poly:ポリアミン結合部位, Zn⁺⁺:亜鉛結合部位

きそうです。また、統合失調症の「ドーパミン伝達過剰仮説」と「グルタミン酸伝達低下仮説」は互いに矛盾するものではないと言えます。

II. 内在性 D-セリンと統合失調症

1. NMDA 受容体を標的とした難治性統合失調症の治療法開発

私は、PCP が強力な NMDA 受容体遮断作用をもつことが報告されて以来、非常に単純ですけれども、統合失調症様異常発現薬と既存の抗精神病薬の薬理作用と症状との関係を図 1 のように仮定し、NMDA 受容体機能を促進する物質が、陰性症状を中心とした難治性統合失調症状を改善することに加え、ドーパミン伝達抑制によって陽性症状改善作用を併せ持つことを期待できるのではないかと考えるようになりました。NMDA 受容体はイオンチャンネルにカップルしたタイプの受容

体で、たくさんの調節部位を持っています(図 2)。NMDA 受容体シグナルを促進する物質の標的として選んだのは、このうちグリシン調節部位です。その理由は、グルタミン酸が結合する部位を直接刺激すると、過剰な場合に細胞死が誘発されたり個体レベルではけいれんが起こり、治療薬としては問題がありますが、グリシン調節部位の刺激では、NMDA 受容体作動薬の作用は増強するが、今お話したような大きな障害は引き起こされないからです。グリシン調節部位の刺激は、それ自身では神経伝達を生じませんが、グルタミン酸結合部位の作動薬が作用を発揮するためには必要条件となるので、グリシン調節部位の作動薬を特に「コ・アゴニスト」と呼びます。

図 3 は国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第 4 部和田先生の研究グループとの共同研究の結果ですが、アフリカツメガエル卵母細胞に発現させた NMDA 受容体 (cDNA は東京大学薬理学の三品先生から提供していただきました) をグルタミン単独で刺激した時より、グリシン調節部位の作動薬であるグリシンや D-セリン (データは示していないが D-アラニンにも同様の作用があります) が存在している条件の方が、NMDA 受容体チャンネルのシグナル (電流) がはるかに大きいことがおわかりになると思います。ここで注目していただきたいのは、グリシンには立体異性体がありませんが、セリンやアラニンには D 体と L 体という立体異性体があって、L 体の方はほとんど NMDA 受容体機能促進効果がないという点です。この特徴を利用すると、実験を進める場合に、NMDA の受容体を介した効果かどうかを知るのに非常に役に立ちますので、私たちは D 体・L 体があるセリンとアラニンを用いました。さらに、後で誤りであったことがわかるのですが、D-セリンのような D アミノ酸は内在性の物質ではないというのが定説でしたから、グリシンのように生体内に分解系がある内在性物質より、「非内在性物質」の D-セリンや D-アラニンの方が分解を受けにくく、強い作用が期待できる点も D アミノ酸を用いた理由です。

実験では、統合失調症のモデルとして PCP を急性投与したラットを使用しました。セリンやアラ

ε2/ζ1 ヘテロメリックNMDA受容体

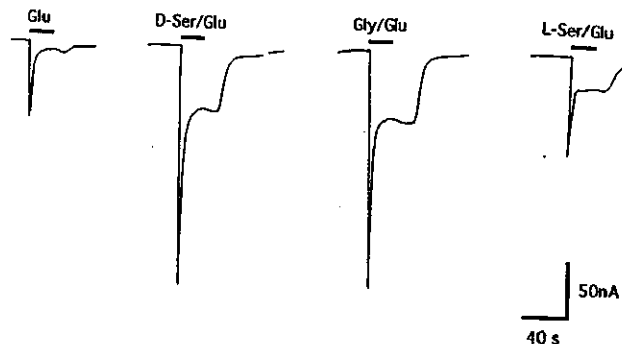


図3 グリシンおよびD-セリンによるNMDA受容体電流の増強
アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたヘテロメリックNMDA受容体(サブユニットε2とζ1の組み合わせ)における検討結果を示す。

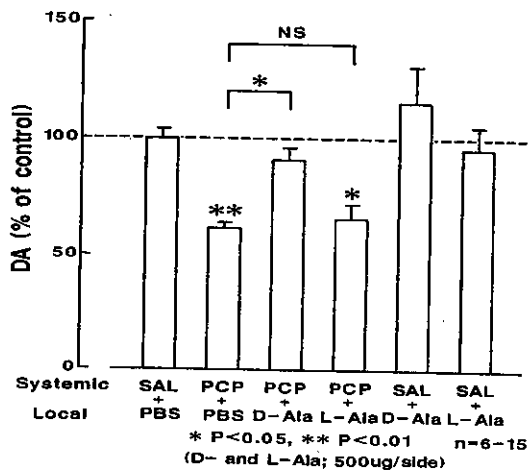


図4 Phencyclidineによる前頭葉のドーパミン伝達異常に対するNMDA受容体機能促進剤の効果
Phencyclidine投与後(10mg/kg, 腹腔内注射)に生ずるドーパミン消費増加を指標にした検討結果を示す。Ala, Alanine; PCP, phencyclidine; SAL, Saline; PBS, Phosphate buffered saline; *P<0.05, **P<0.01, SAL+PBS群に対する有意差または線で結んだ2群間の有意差

ニンは、極性が高く血液脳関門を通りにくいため、ラットの脳室内に直接注入してみました。

まず、陽性症状に対する効果ですが、前頭葉のドーパミン伝達の過剰を指標に評価することにしました。図4は、前頭葉のドーパミン消費への影響を検討した結果で、値が低いほど伝達が過剰な

ことを表しています。期待通り、PCPによって盛んになったドーパミン消費をD-アラニンがほぼ完全に補正しています。これに対してNMDA受容体に作用が非常に弱いL体のアラニンはほとんど効果がありません。したがって、NMDA受容体グリシン調節部位の刺激は、現在の抗精神病薬と同様の抗ドーパミン作用は発揮してくれそうです。

次に、陰性症状のような抗精神病薬抵抗性症状に対する改善効果は、確立された生化学的な指標がありませんでしたので、抗精神病薬では改善されないPCP投与後の異常行動を観察することにしました。指標とした異常行動には、チョコチョコと歩き回る移所運動量増加、無目的で単純な動作を繰り返す常同行動などが含まれます。移所運動量増加に対するD-アミノ酸の影響を例にご説明しますと、図5のように、完全ではないのですが、D-セリンやD-アラニンによってかなり抑制されました。常同行動に対しても同様な抑制が認められました。ここにお示ししていませんが、他の研究者が従来の抗精神病薬、たとえばhaloperidolの抗PCP作用は非常に弱いことを報告していますので、これらの抗PCP作用は、難治性症状に対してもある程度治療に役に立つのではないかと淡い期待を抱いたわけです。

D-セリンおよびD-アラニンの抗PCP効果は、NMDA受容体のグリシン調節部位の選択的

拮抗薬であるジクロロキヌレン酸や7クロロキヌレン酸を予め脳室内に注入しておくことによって減弱しました。したがって、抗PCP作用にはグリシン調節部位の刺激が重要なことが確認され、この部位を刺激する薬物を、陰性・陽性双方の作用に改善効果を示す新しい抗精神病薬として応用する可能性を提唱しました。ほぼ同じ時期に、米国のコントララス博士らもD-セリンの抗PCP作用と、統合失調症治療薬としての応用について発

表しています。

その後、NMDA受容体グリシン調節部位を刺激する薬物が、実際に臨床で役立つことが明らかになってきています。表1に挙げたグリシン、D-サイクロセリン、それからD-セリンは、今まで実際に統合失調症患者の方々に投与されたことのあるグリシン調節部位作動薬です。この中のD-サイクロセリンは古くから抗結核薬として使われている薬物で、グリシンとD-セリンとは対照的に、血液脳関門を容易に透過します。すべての研究結果が一致しているわけではありませんが、抗精神病薬と併用投与したところ、抗精神病薬に抵抗していた症状が良くなったという報告が多数出されています。D-セリンの臨床効果については、Coyle博士らが1998年に初めて発表しました。既存の抗精神病薬を服用していて、難治性症状が残存している状態の31名の統合失調症の患者さんを対象に、クロスオーバー二重盲検試験を行ったもので、陰性症状のスコアやウィスコンシンカードソーティングテストなどによって検討した認知機能障害が改善したと報告しています。興味深いことに、陽性症状のスコアも減少しています。ただ、グリシンやD-セリンは血液脳関門を透過し難いので大量に服用しなければならないこと、グリシンは抑制性グリシン受容体にも作用するためNMDA受容体への選択的な効果を期待できないこと、D-セリンは腎臓に対する毒性が否定されていないこと、D-サイクロセリンは

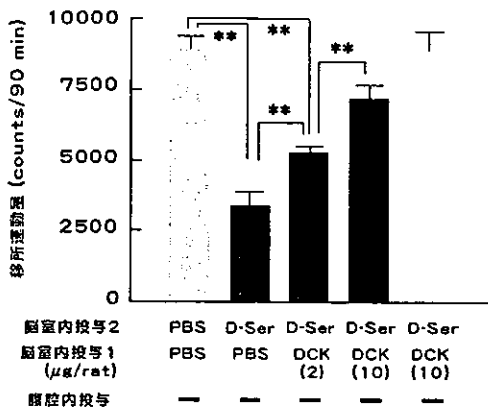


図5 Phencyclidine による異常行動に対する NMDA 受容体機能促進剤の効果
Phencyclidine 投与後 (10mg/kg, 腹腔内注射) に生ずる移動運動量増加を指標にした検討結果を示す。D-Ser, D-Serine; DCK, 5, 7-dichlorokynurenate; **P<0.01, 線で結んだ2群間の有意差

表1 抗精神病効果が臨床的に検討されている NMDA グリシン調節部位アゴニスト

アゴニスト (1日用量)	アゴニスト としての性質	選択性	脳への 移行	副作用
グリシン (30~60g)	Full agonist	非選択的	低い	けいれん 閾値低下?
D-サイクロセリン (50mg)	Partial agonist (治療用量域が狭い)	非選択的	高い	精神症状
D-セリン (2.1g)	Full agonist	選択的	低い	腎毒性?
グリシン トランスポーター 阻害薬*(10mg/kg)	Full agonist 高力価	非選択的?	高い	けいれん 閾値低下?

*は前臨床段階

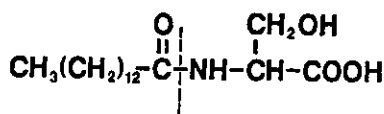


図6 N-ミリスチル-D-セリンの化学構造

NMDA 受容体グリシン調節部位に対して部分的作動薬として作用するので、治療用量が狭く設定が難しいことなどの問題があり、グリシン調節部位を刺激する優れた治療薬があるとは言えない状況です。

私は動物実験を始めた当初から、脳へ移行し易いグリシン調節部位刺激薬を考える必要があると感じ、日本油脂の日比野博士に相談したところ、D-セリンやD-アラニンにミリスチン酸を結合させた化合物のN-ミリスチル D-セリン (図6) とN-ミリスチル-D-アラニンを考案して下さいました。これらの化合物を脳室内ではなく腹腔内(末梢性)に投与しておく、PCPによる異常行動が抑制されることがわかりました。さらに、この抑制効果はD-セリンの抗PCP作用と同様に、NMDA受容体グリシン調節部位の拮抗薬である7クロロキヌレン酸で減弱することから、グリシン調節部位を介して発揮されていることが示唆されました。N-ミリスチル化されたD-セリンとD-アラニンは、臨床応用も期待されたのですが、界面活性の高い物質のためかラットでは容易に肝障害を引き起こし、断念せざるを得ませんでした。ところが、これらの実験がきっかけになって思いもよらない脳内物質に巡り会うことになりました。

2. 脳の内在性D-セリン

1) 脳の内在性D-セリンの検出

N-ミリスチル D-セリンやN-ミリスチル D-アラニンは、グリシン調節部位に直接結合する活性をもたないことがわかりましたので、抗PCP効果が得られた実験の結果は、これらの物質が脳に移行した後にエステル結合が分解されて、遊離型のD-セリンやD-アラニンが生ずる可能性を示唆しています。また、脳室内に注入したD-アミノ酸の動態も知る必要があります。そこ

で、gas chromatography-mass spectrometry (GC MS) 法などでD・L体を分離して定量できないかについて、国立精神・神経センター神経研究所診断研究部におられた林先生(故人)にご教示をお願いしました。林先生は、高速液体クロマトグラフィーによる分離・定量法を検討して下さいましたが、D-アミノ酸やその化合物で処置していないラット脳のサンプルを測定したところ、D-セリンの標準物質と同じ位置に、脳内物質のピークが出現しました。この後、D-アミノ酸の研究を進めておられた筑波大学の藤井先生(現、京都大学)のご指導で、キラルアミノ酸を分離できるgas chromatography法を用いて無処置ラットの脳のアミノ酸分析を行っても、やはり内在性D-セリンの存在が疑われました。D-セリン以外の物質のピークがたまたまD-セリンの位置に検出された可能性も否定できませんでしたので、再び林先生にご指導をお願いしてGC MSで質量分析を行ってみると、gas chromatographyで観察されたピークはD-セリンであることが確認できました。成熟したラットの脳ではD-セリン以外のD-アミノ酸はほとんど検出されませんでしたので、D-セリンは例外的なD-アミノ酸のようでした。

哺乳類の組織では、遊離のタイプでも蛋白質を構成するタイプでも、D体のアミノ酸が発達の一時期や老年期に検出されることはあっても、恒常的に高い濃度を保つことはないというのが定説でしたので、成熟したラットの脳でD-セリンが検出されたということは、この定説に反することになります。しかも、抗PCP作用や抗統合失調症作用を発揮するD-セリンが私たち哺乳類の脳にもともと備わっているということは、内在性D-セリンはそもそも精神活動や行動のような高次脳機能の制御に非常に重要な役割を担っていて、これが異常になると病気になることも考えられるわけですから、統合失調症の病態に関与しており、内在性D-セリンのシグナルを調節する薬物が統合失調症の治療に貢献する可能性があります。こうして、私たちは脳の内在性D-セリンに遭遇し詳細に研究を進めるようになりました。

2) 内在性D-セリンとNMDA受容体

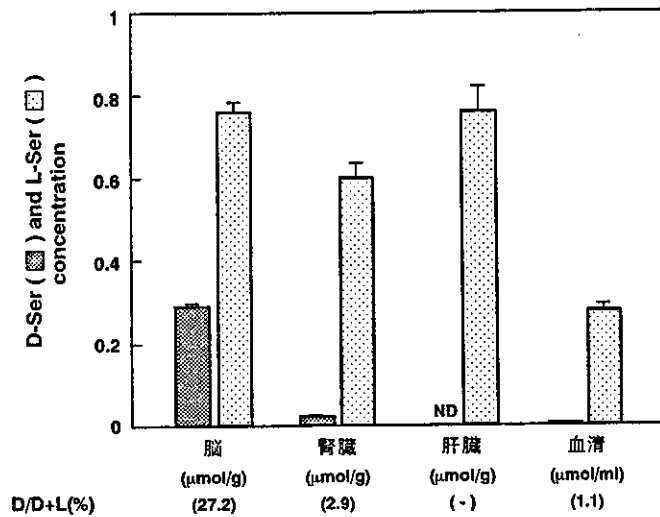


図7 ラットにおける遊離型D-セリンの体内分布：L-セリンとの比較

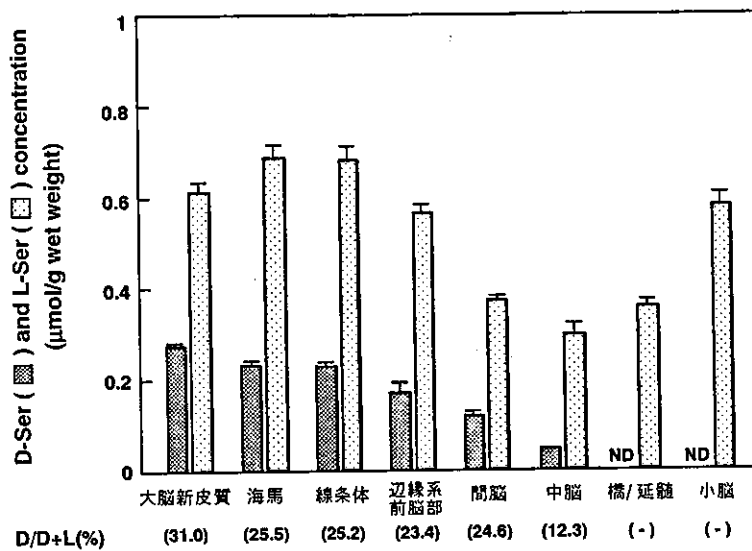


図8 ラット脳における遊離型D-セリンの分布：L-セリンとの比較

はじめに、内在性D-セリンが体の中でどんなふうに分布しているかを成熟ラットで調べてみますと、脳で濃度が高く、末梢には非常に低いという明らかなコントラストが見られました(図7)。L-セリンやグリシンをはじめとする他の内在性のアミノ酸は、脳と末梢組織の双方で高い濃度に維持され、これほど極端な濃度差を示しません。さらに脳内でもD-セリンの分布は不均一で、大脳皮質や海馬、線条体あるいは辺縁系前脳

部などの高次機能に関係する部位で最も組織中濃度が高く、視床、視床下部、中脳と、脳の後方になるにしたがって低くなり、橋・延髄・小脳・脊髄ではほとんど検出できないレベルしかありません(図8)。他のアミノ酸では、たとえばグリシンの脳内濃度のよう、ある程度の部位差が認められる場合もありますが(後脳の方が前脳より高い)、D-セリンほど顕著な例はありません。

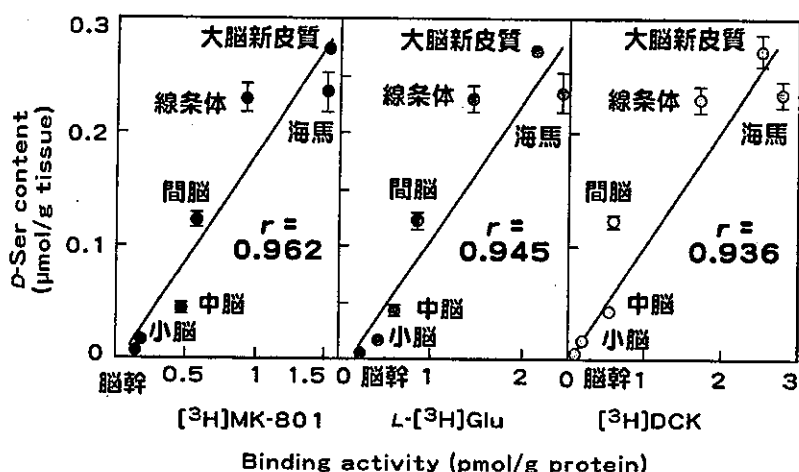


図9 ラット脳におけるD-セリンとNMDA受容体各調節部位の分布の関係
 縦軸はD-セリン濃度、横軸は各リガンドの結合活性（単位あたりの結合部位数を反映）を示す：[³H] MK-801, フェンサイクリジン結合部位への [³H] MK-801結合活性；L-[³H] Glu, グルタミン酸結合部位への L-[³H] グルタミン酸結合活性；[³H] DCK, グリシン結合部位への [³H] 5, 7-dichlorokynureate 結合活性。

D-セリンはNMDA受容体グリシン調節部位に選択的な作用を及ぼすとお話しましたが、私はD-セリンのこのような特徴的な脳内分布がNMDA受容体の分布とよく似ているのではないかと考え、両者を比較してみることにしました。摂南大学におられた米田先生（現、金沢大学）の研究グループが測定された、NMDA受容体のグルタミン酸結合部位、グリシン調節部位およびPCP結合部位のデータと、GCやHPLCで定量したD-セリン濃度を、脳の部位毎にプロットしてみると、確かにD-セリン濃度が高い脳部位はNMDA受容体の3種の結合部位数が多く、D-セリンが少ないところはNMDA受容体も少ないことがわかりました。両者の間には、図9のような1に近い正の相関関係が認められます。この事実から、予想した通り、D-セリンはNMDA受容体の内在性調節因子のひとつであることが強く示唆されました。

さらに、このようなD-セリンの分布がNMDA受容体のR2B (ε2) サブユニットに酷似していることに気づきましたので、D-セリンはR2B (ε2) サブユニットを含むNMDA受容体に選択的作用をもつ可能性を検討してみることにしまし

た。NR1とNR2A, NR2B, NR2C, NR2Dのいずれかを組み合わせたヘテロメリックなNMDA受容体を、アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させたところ、D-セリンはどの組み合わせにも強力な作用を及ぼし、期待通りの結果は得られませんでした。ただ、グリシン調節部位への効果は、以前から内在性リガンドと考えられてきたグリシン自身よりも、D-セリンの方がやや高いことがわかりました。

一方、大脳新皮質と小脳において、生後発達に伴うD-セリン濃度の変化を調べてみましたが、大脳新皮質では生後3週頃に出生直後の約3倍になり、成熟期を通じてほぼ一定のレベルを保つ（加齢にしたがって少しずつ減少傾向を示す）のに対して、小脳では、出生直後は大脳新皮質と同等の濃度が認められ、生後7日頃には大脳新皮質の2倍程度にまで増加しますが、3週以降は急速に減少して成熟期になるとほとんど検出されなくなります（図10）。これらの生後変化のパターンも、R2B (ε2) サブユニットと酷似していました。

その後、内在性D-セリンの存在は他の研究グループによっても確認されました。その中で、ア

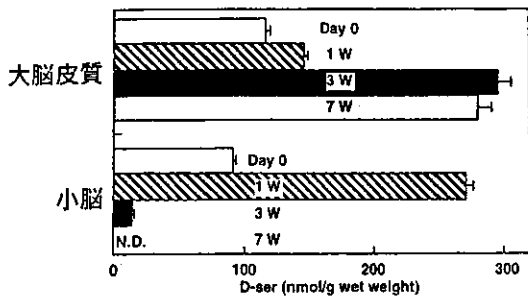


図10 ラットの脳皮質および小脳におけるD-セリン濃度の発達による変化
Day 0 は誕生日, W は生後週齢を示す。

アメリカ Johns Hopkins 大学のスナイダー博士らは、D-体のセリンに対する抗体を作ること成功し、免疫組織化学を使って、D-セリンと NMDA 受容体が互いに類似した分布を示すという私たちの生化学的解析結果を追認しました。

まとめますと、内在性のD-セリンが検出され、脳に選択的で NMDA 受容体 R2B (ε2) サブユニットと同様の分布と発達による著しい変化を示すことが明らかになりました。D-セリンは NMDA 受容体を介するシナプス伝達に重要であるとしますと、新たな神経伝達物質の可能性もあります。

3) 内在性 D-セリンの代謝と機能のメカニズム

D-体のセリンのレベルを既に良く知られている神経伝達物質と、線条体と比較してみますと、GABA より低くアセチルコリンやドーパミンよりも高いところに位置していることがわかってきました。一方、脳内の分布から予想したように、本当に NMDA 受容体を調節しているとする D-体のセリンは細胞の外に出ているはずで、これは臨床的にも非常に大事な点で、細胞外に放出されていることが証明されれば、このシグナルを人工的に調整する薬物を創ることによって、新しいタイプの精神疾患の治療薬ができる期待が持てます。

そこで、in vivo dialysis という方法で脳の中で細胞の外に出てくるアミノ酸を測定してみました。確かに D-体のセリンも、前頭葉 (frontal cortex)、線条体、小脳など脳部位で、グルタミン酸やグリシンのように神経伝達物質として確立

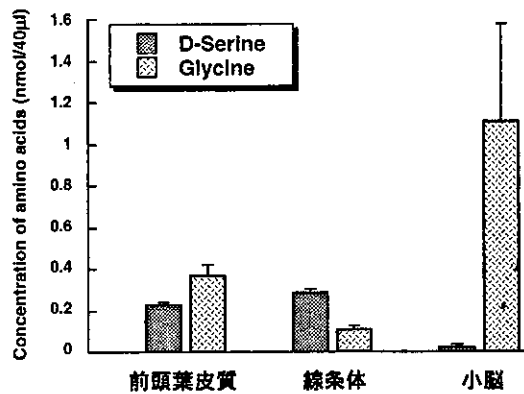


図11 ラットの各脳部位における細胞外 D-セリンおよびグリシン濃度
In vivo dialysis による測定結果を示す

されているアミノ酸とともに、細胞外液の中に存在が証明されました。細胞外液中の濃度の分布は、脳組織中の分布とよく一致していて、前頭葉や線条体では多く、小脳ではないわけではなくて非常に少ないことがわかりました (図11)。前頭葉ではグリシンに匹敵する濃度が見られ、線条体ではグリシンより高いことが注目されます (図11)。

そうしますと、細胞外液中の D-セリンはどこからやって来るのが、次の重要な問いになります。神経から放出され、神経インパルスによってコントロールされていれば、神経伝達物質の可能性が高くなってきます。この問いに答えるため、前頭葉皮質で dialysis チューブを通して脱分極刺激を試みました。すると、グルタミン酸やグリシンは従来の報告通り、急速に細胞外液中濃度が高まり、神経インパルスの増加によって放出が促進されたことが明らかになりましたが、細胞外の D-セリンは増えるどころか逆に却って減ってしまうという奇妙なプロファイルを見せました (図12)。

どうも D-体のセリンは、神経のインパルスに依存して細胞外に出てくるものではなさそうです。テトロドトキシンで神経インパルスを止めたり、一般に神経伝達物質の放出に要求される細胞外液中のカルシウムをキレートしてしまっても、D-セリンの放出は減少せず、反対に少し上昇する

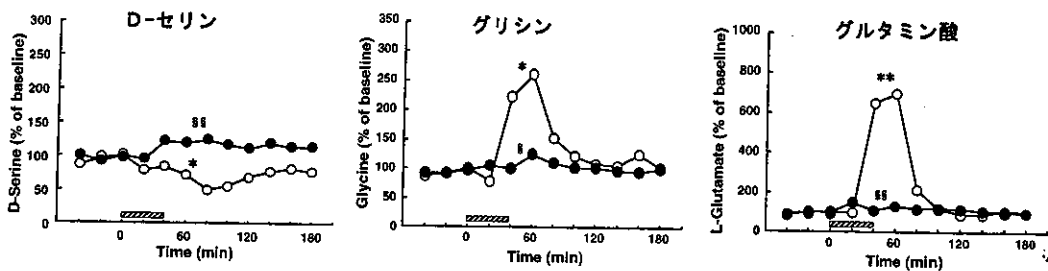


図12 ラット前頭葉皮質の細胞外液中D-またはL-セリン、グリシンおよびグルタミン酸濃度に対する脱分極剤ベラトリンの影響

D-セリンに対するベラトリン (○) の効果は、グリシンおよびグルタミンに対する効果と著しく異なるが、双方とも神経インパルス遮断薬 tetrodotoxin (TTX) (●) によって抑制される：○, ベラトリン灌流；●, ベラトリン+TTX 灌流；*P<0.05, **P<0.01, 人工脳脊髄液灌流群 (データ省略) vs ベラトリン灌流群；§P<0.05, §§P<0.01, ベラトリン+TTX 灌流群 vs ベラトリン灌流群。グラフは平均値のみを示している。

こともわかりました。これらの結果だけでは結論をくだせませんが、神経以外つまりグリア細胞から何らかのキャリア (担体) 蛋白によって細胞外へ遊離されているのだろうと想像しています。いずれにしても細胞外で神経の情報を調節するシグナルとして働いているとしますと、これを回収するシステムが存在するはずで、この可能性を放射性ラベルしたD-セリンの脳組織への取り込みの活性で調べてみたのですが、確かに脳には非常に高いD-セリン取り込み活性が検出されました (図13)。この活性は、D-セリンと同じく末梢組織にはほとんどありませんでした (図13)。実際、他の研究者によってD-セリンが培養グリア細胞に取り込まれ、放出されることを示唆する所見が発表されています。

それでは、このように脳の細胞に存在し、細胞外で機能するD-セリンはどうやって供給されるのかが、次の疑問となります。私たちのデータは、少なくとも脳の中でD-セリンを合成し、その濃度を制御するシステムが存在することを強く示唆しています。ちょっと耳慣れない方もおられるかと思うのですが、非ケトーシス型の高グリシン血症という非常に悲惨な病気があります。多くの患者さんが生後まもなく亡くなってしまいますが、この非ケトーシス型高グリシン血症では、グリシンを分解する主要な酵素であるグリシン開裂酵素の活性を欠いています。グリシンは構造的

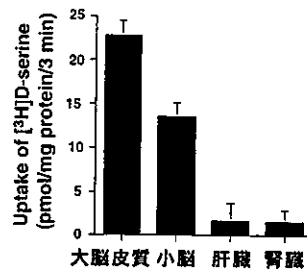


図13 ラット各組織における [3H] D-セリンの取り込み活性
各組織からP2分画を調整して温度依存性の [3H] D-セリン蓄積を測定した。

にセリンに類似しており、L-セリンとグリシンの代謝は相互に関係が深いので、本症の専門家である東北大学におられた多田先生 (現、NTT東北病院) にお願ひして、本症でD-セリンがグリシン代謝異常の影響を受けていないかを調べてみました。そうしますと確かにこの病気で亡くなられた患者さんの大脳新皮質ではグリシン代謝酵素がないためグリシン量が著しく増えていますが、D-セリンが極端に減っていることがわかりました (図14)。脳の中のD-セリン濃度は何らかの調節を受けているらしいことがはっきりしてきたわけです (図14)。

この変化が、グリシン開裂酵素活性が欠如しているためか、グリシン濃度の上昇によるためなのかを知るため、グリシン開裂酵素を阻害するシス

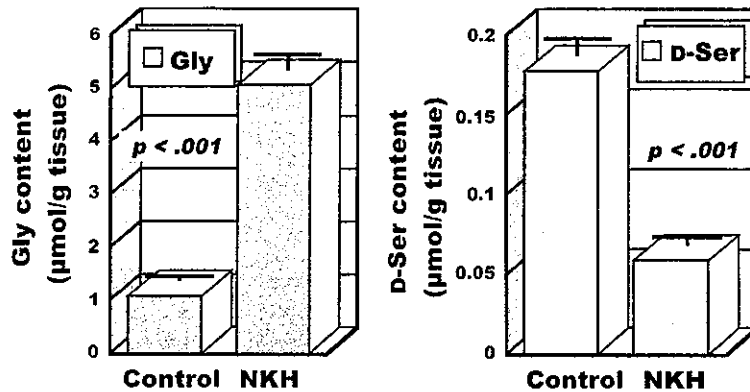


図14 非ケトーシス型高グリシン血症患者死後脳大脳皮質におけるグリシンおよびD-セリン濃度
NKH: non-ketotic hyperglycinemia; 有意差はそれぞれの対照群との比較を示す

テアミンを動物に注射してみますと、非ケトーシス型高グリシン血症の患者さんとよく似た現象が起こり、大脳新皮質でグリシン濃度の増加とD-セリン濃度の低下が認められました。グリシンを投与して脳内のグリシンを高めるとD-セリンは増加しましたので、増加したグリシンの二次的影響ではないことがわかりました。L-セリンと同じように、D-セリンの代謝もグリシン代謝と深く関係していそうです。

さらに、L-体のセリンからD-セリンが合成される可能性についても検討しました。L-体のセリンを末梢から投与した幼若期ラットの大脳新皮質では、L-セリンが著明に増加しますが、このとき、D-体のセリンの濃度は2倍程度に上昇しました(図15)。逆に、D-体のセリンを投与して脳内のD-セリン濃度を高めた状態では、大脳新皮質のL-セリン濃度が2倍位に上がります(図16)。ところが、グリシンやその他のアミノ酸の濃度はあまり変わらない。これらの結果から、おそらくD-体とL-体のセリンの間に相互転換が起こっていて、ラセマーゼのような酵素があるのではないかと考えられます。スナイダー博士らの研究グループは、セリンラセマーゼ遺伝子をクローニングしたと報告していますが、細菌のラセマーゼに比較して活性が非常に低く、最終的な証明(ノックアウトマウスでD-セリンが合成されないなど)には到達していないようです。

分解系については、D-アミノ酸酸化酵素が生

理的に脳内のD-セリンに作用する候補のひとつと考えられています。この酵素は、哺乳類の組織でD-アミノ酸の存在が指摘される以前から知られており、外来性の不要なD-アミノ酸を除去するのではないかと想定されてきました。D-セリンはD-アミノ酸酸化酵素に対して、D-アラニンについて低いミカエリス定数を示すことから、本酵素の生理的基質になっている可能性があります。ただ不思議なのは、各脳部位でD-セリンの濃度とD-アミノ酸酸化酵素の活性とは逆相関することで、D-セリンの濃度差を形成するのに関与する意味があるのかもしれませんが、一般的な酵素と基質との関係ではありません。D-セリンが豊富な大脳新皮質ではD-アミノ酸酸化酵素活性は非常に低いので、シナプス調節に関わるD-セリンは他の未知の酵素が分解する可能性も考慮する必要がありそうです。

これまでの内在性D-セリンに関する所見をまとめたのが図17です。内在性D-セリンの少なくとも一部は、脳内で合成されてグリア細胞または神経細胞に蓄えられ、シナプス間隙にグリア細胞から遊離されるようです。遊離されたD-セリンは、NMDA受容体グリシン調節部位に内在性リガンドとして作用し、NMDA受容体機能を制御していると考えられます。グリシン調節部位以外の未知の膜蛋白に結合する可能性もあります。標的分子に作用したD-セリンは、グリア細胞あるいは神経細胞に再び取り込まれると推測されま

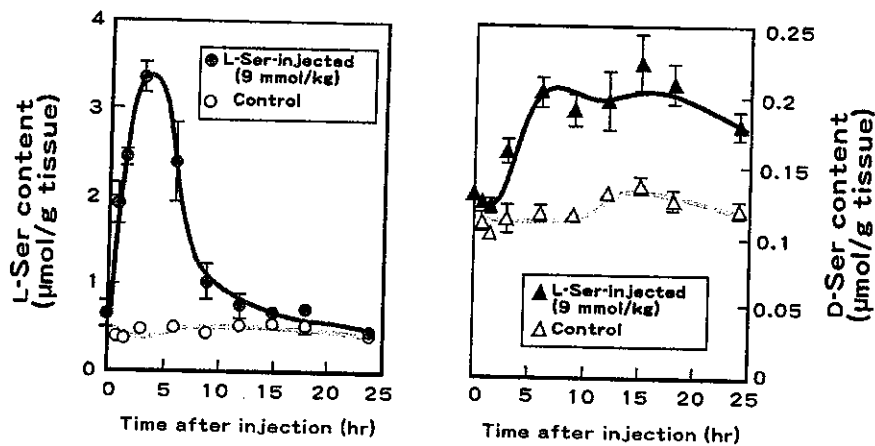


図15 L-セリン腹腔内投与幼若ラットの脳新皮質におけるD-およびL-セリン濃度の変化

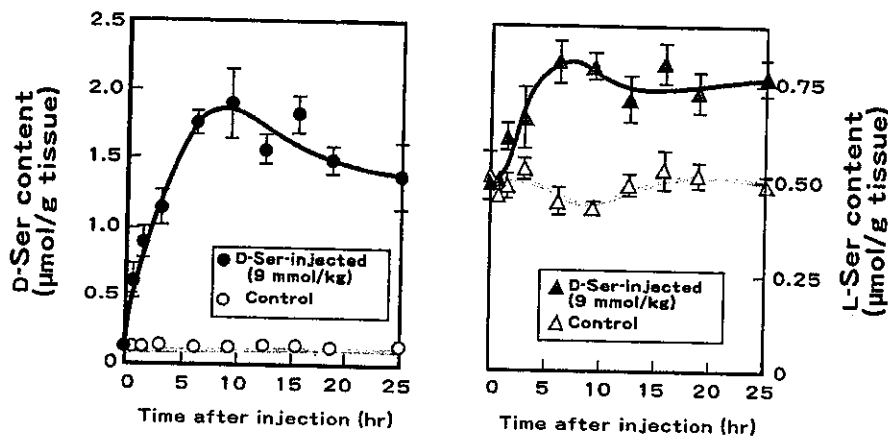


図16 D-セリン腹腔内投与幼若ラットの脳新皮質におけるD-およびL-セリン濃度の変化

す。D-セリンの生合成にはセリンラセマーゼ、グリシン開裂酵素、セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼなどが、分解にはD-アミノ酸化酵素が、それぞれ関与することが示唆されています。つまり、詳細は未だ不明ですが、D-セリンは独自の代謝・機能系をもち精緻な制御を受けているらしいと言えます。

4) 内在性D-セリンと統合失調症

内在性D-セリンは、統合失調症や統合失調症様異常発現薬が引き起こす精神機能や行動の障害に拮抗する作用をもつことから、NMDA受容体などへの作用を通して、脳の高次機能の調節に重要な役割を果たしていることが強く示唆されます。これを支持する興味深いデータをご紹介します

す。姫路工大の長田先生がD-セリンの系統発生を調べられたのですが、魚、カエル、および鳥の脳にはほとんど検出されませんが、哺乳類の脳では共通して豊富に存在し、非常に大きな変化があることがわかりました。脳機能が高度になるにしたがって、D-セリン含量が増えているように見えます。

もちろんD-セリンは私たち人間の脳にも多く、死後脳を使って調べると前頭葉、頭頂葉などの大脳皮質で多く、小脳・脊髄ではごく微量で、ラットと同じような分布パターンがあることがわかりました(図18)。それでは、統合失調症の患者さんでは実際にD-セリンのシグナルが異常になっていないかどうかという点が最も気になる

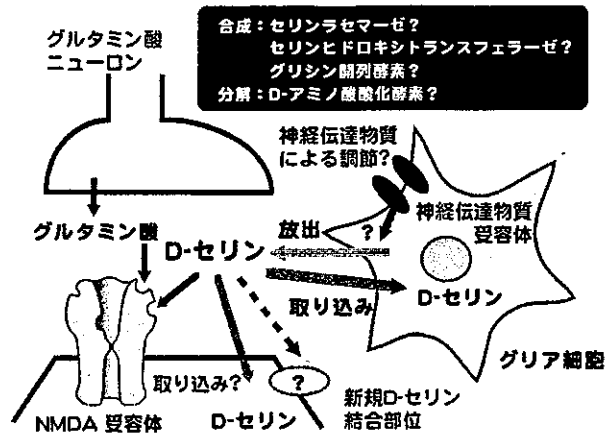


図17 脳の内在性D-セリンの動態（仮説）

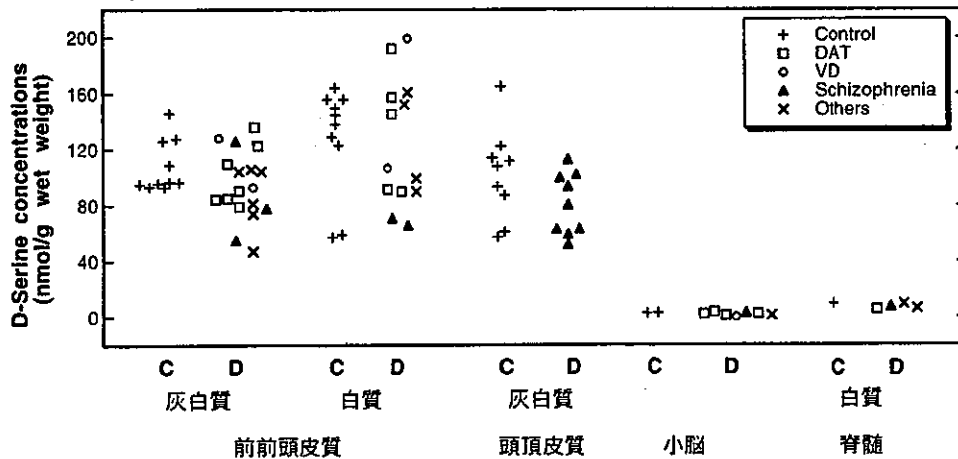


図18 精神神経疾患患者死後中枢神経組織におけるD-セリン濃度
非精神神経疾患患者(C)と精神神経疾患患者(D)の比較を示す。精神神経疾患の内訳はグラフ内の説明を参照：DAT アルツハイマー型痴呆；VD 脳血管性痴呆。

ころです。D-セリンの代謝や機能に関連する分子に異常が生じ、D-セリンのシグナルが低下すればNMDA受容体機能が不十分となり、統合失調症状が出現する可能性があるからです。

現在までにD-セリンの前頭葉皮質と上側頭回の組織中濃度を調べた範囲では、特に有意な変化は見いだせませんでした(図18)。しかし、医科歯科大学前教授の融道男先生のグループが、D-セリンが実際にNMDA受容体上で結合するグリシン調節部位への3H-グリシン結合能が、前運動野、体性感覚野、縁上回、角回などの脳部位で

有意に増加していることを報告されています。この結果は、抗精神病薬の影響を完全に除外することができないものの、D-セリンシグナルが減少したための代償的な変化と解釈することもできます。

私たちは、脳の組織中濃度には反映されないが、細胞外のD-セリン量は何らかの異常をきたしている可能性があると考え、D-セリンの代謝や機能を調節するような分子を明らかにした上、統合失調症の病態にどんな関係があるのか調べようとしています。また、こうした分子を同定でき

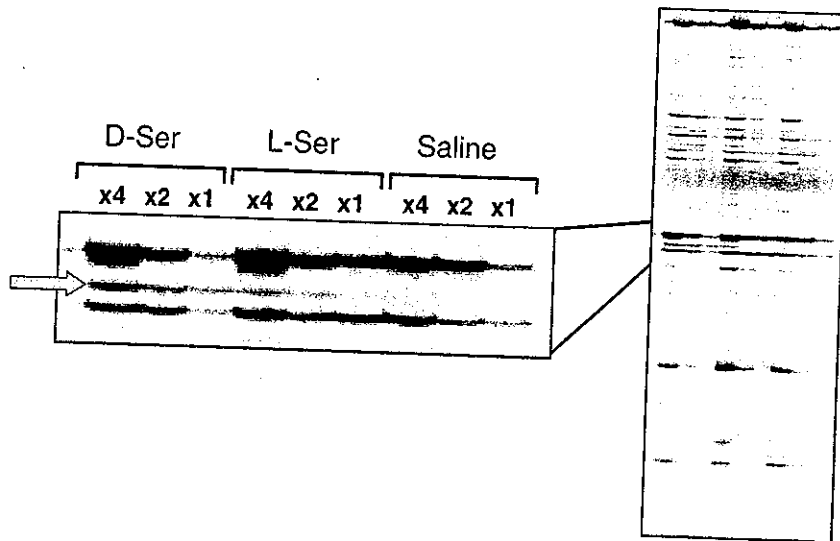


図19 D-, L-セリンまたは生理的食塩水の腹腔内投与後の幼若ラット大脳新皮質における遺伝子発現のフィンガープリント
矢印はD-セリンに選択的応答を示す転写産物を示す。cDNAの量を展開しているの
でそれぞれの投与物質に対して。

れば、D-セリンシグナルの制御作用をもった、統合失調症あるいはそれ以外の精神疾患の新しい治療薬の開発に結びつく可能性があります。

5) 内在性D-セリンの代謝と機能を支える分子の探索

では実際にどうやって内在性D-セリンに関連する脳の分子を探しているのかを、ご説明致します。特定の生物活性をもつ未知分子を同定する方法のひとつに、機能的クローニングという方法があり、例えばD-セリンのトランスポーターを探る時には、実際にアフリカツメガエルの卵母細胞などの外来遺伝子の発現能力をもつ細胞に様々な遺伝子を発現させてD-セリンの取り込み活性を示す遺伝子を絞り込む方法です。今、私たちもこの方法で、D-体のセリンに特異的なトランスポーターを追究しています。それだけではちょっとアプローチが弱いので、もう1つ別の方法として、differential cloning法を使ってD-セリンに反応する未知分子を探索しています。

生後8日齢のラットにD-セリンを注射すると、脳の中のD-セリン濃度が著しく高まるのを利用し、注射してから6時間と15時間後に、生理的食塩水を注射した対照群と比べて発現が変化し

ている遺伝子を、differential cloning法の一のRNA arbitrarily primed PCR法(RAP-PCR法)で検索してみました。RAP-PCR法では種々の転写産物の発現パターンがフィンガープリントして得られ、発現の差は各バンドの差に反映されます。図19がこの方法で得られたフィンガープリントです。ちょっとわかりにくいのですが、D-体のセリンを投与したときにバンドが濃くなっているのがご覧になれると思います。生理的食塩水でほとんどバンドが見えません。また、L-体のセリンを投与した時のバンドはD-体に比べて非常に薄いので、この遺伝子転写産物は、D-セリンに選択的な応答性をもつと推測されます。

このバンドを切り出してクローニングし、遺伝子の構造を決定しました(図20)。D-serine responsive transcript 1, *dsr-1*, と名付けたこの遺伝子は、今までに報告されていないものであって、独立したコーディング・フレームを2つ持っているのが珍しい点です。3'末端側のコーディング・フレームは、一部に既知のM9.2遺伝子と相同の塩基配列をもち、細胞膜を一回貫通していることが示唆されました。定量的なRT-PCRでも、*dsr-1*はD-体のセリンへの応答は強いがL-体

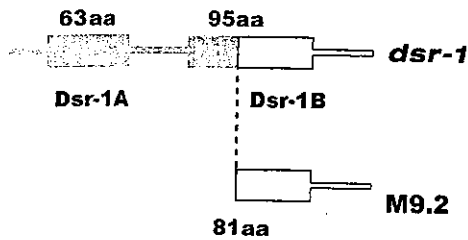


図20 D-セリン応答性遺伝子 *dsr-1* の一次構造
新規遺伝子 *dsr-1* (D-serine responsive transcript-1) は2つのコーディングフレームをもち、3'側のコーディングフレームの一部(3'側)の塩基配列は既知の遺伝子 M9.2 (proton ATPase subunit のひとつをコードすると考えられる) と類似している。

には有意な反応がないことや、M9.2はD体にもL体にも応答しないことが明らかになり、*dsr-1* のD-セリン選択的応答性が確かめられました(図21)。さらに、基礎的発現の脳内分布は、線条体で少ないところを除いてある程度D-セリンと似た前脳部優位なパターンを示しました。生理的な機能は現在検討中ですが、D-セリンの細胞膜を通じた取り込みや放出の調節に関与すると思われます。

まだ不完全ですが、こういった研究を足掛かりにしてD-体のセリンの分子機構を調べ、統合失調症の病態解明や新しい治療薬の開発に役に立てたいと願っております。例えばD-体のセリンの特異的なトランスポーターなどが見つかりますと、それを阻害することでD-セリンのシグナルを強められるわけですから、陰性・陽性双方の統合失調症状が改善する効果を期待できます。つまり先ほどご紹介したようにグリシンやD-セリンほどたくさん服用する必要のない、SSRIのような非常に副作用の少ない抗精神病薬ができるかもしれません。

Ⅲ. 発達依存的に中枢刺激薬への応答性を獲得する遺伝子と統合失調症

後半では、発達依存的に統合失調症とよく似た症状を起こす薬物への反応性を獲得する分子についてお話します。はじめに、このような分子を捜

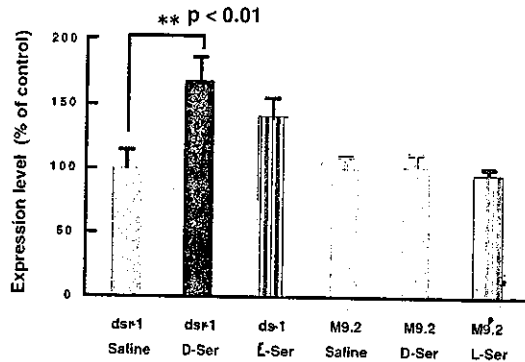


図21 大脳新皮質 *dsr-1* のD-, L-セリンまたは生理的食塩水に対する反応

各処置後3時間で定量的RT-PCRによる測定を行った結果を示す。L-セリンに対する反応は認められず、一部塩基配列が一致するM9.2はいずれの異性体にも有意な応答を示さない。**P<0.01, 生理食塩水投与群に対する有意差

す研究を進めている背景に触れておきたいと思います。

精神疾患は、今まで分子生物学的な解明が進んでいる神経変性疾患と、どこが違うかということを変えて考えてみますと、病理組織標本やMRIのような脳の画像診断で、明らかな細胞死や変性を伴う脳の形態的变化を伴うかどうかという点ではないでしょうか。精神疾患ではこのような変化が見いだせず、謎と混乱が深くなっているように思います。そうすると分子生物学的方法を使うにしても、神経変性疾患と同じ発想のままでは、なかなか精神疾患の原因に迫れないのではないかとこの危惧が私にあり、何とかできないものかと考えています。その答えはもちろん現在はありませんし、今からお話することは、私の仮説に沿った1つの試みに過ぎないとお考えいただきたいと思います。

精神疾患で生じている脳内細胞の異常は、神経変性疾患と異なり、おそらく細胞の生存に関わる基本的機能は変わらないけれども何らかの特異的機能の障害が起こる状態で、神経変性疾患の基本が細胞死・変性なのに対して細胞変調ということが言えるかもしれません。これを何とかしてアプローチしたいわけですが、既知のシステムに関する知識を土台にしてやっていくだけでは、なかなか