

一群の統合失調症患者でも、健常者には異常を起こさない少量の DA 作動薬やストレスにより幻覚・妄想が容易に誘発される¹²⁾ことから、逆耐性現象と類似または同一の分子基盤をもつ病態の存在が推定され、逆耐性現象は統合失調症の発症や再燃のモデルと考えられている¹¹⁾¹²⁾。

逆耐性現象の分子機構はいまだ解明されていないが、D₁受容体遮断薬が逆耐性の形成を阻害し、D₁作動薬により逆耐性が引き起こされることなどから、その成立には D₁受容体の刺激が重要な役割を果たすと推測されている¹¹⁾。しかし、D₁ノックアウトマウスでは AMP への逆耐性が弱いながらも形成されることや、NMDA 受容体遮断をはじめ DA 以外の伝達系の操作によっても AMP への逆耐性形成が阻害されることなどから、逆耐性の形成には複数のシグナル伝達系の関与が考えられる¹¹⁾。また、逆耐性が成立した動物の脳における DA 遊離は、対照群にくらべ、基礎的レベルに変化はなく AMP 類やコカインの再投与時に増大するという報告があるが¹¹⁾、反対意見もあり、さらに検討を要する。

さらに最近、一度成立した逆耐性がセロトニン 2 型受容体¹³⁾や D₁受容体作動薬¹⁴⁾の反復投与により消失することが報告され、逆耐性現象の分子機構の特性や精神病状態の治療や再発予防の観点から注目されている。

4) 統合失調症の DA 伝達に対する AMP の影響

脳画像研究の進歩によって、統合失調症の AMP 類に対する反応性を、症状だけでなく DA 伝達の点からも検討することが可能になり、1990 年代なかばごろから健常者との違いが報告されるようになった。

ヒトに少量の AMP を投与すると、脳の内在性 DA が遊離し、これと競合する放射性リガンドの D₂受容体結合が減少する。この変化は間接的にシナプス間隙への DA 遊離の状態を反映している。AMP を投与した統合失調症患者の線条体における D₂受容体への放射性リガンド結合の減少率を single photon emission computed tomography (SPECT) や positron emission tomography (PET) で測定したところ、正常対照群と比較して有意に大きく¹⁵⁾¹⁶⁾、精神症状の増悪と相関していた¹⁷⁾。この結果は、統合失調症では DA 神経伝達の調節障害

があり、AMP によって内在性の DA が過剰に遊離されやすいために、精神症状が増悪する可能性を示唆している。

一方、これまでの PET および SPECT を用いた研究のほとんどで、統合失調症患者の線条体における D₂受容体結合能の変化は見出されていないが¹⁸⁾ (死後脳の線条体では D₂受容体結合能が増加しているという結果が多いが、長期服薬の影響を考慮する必要がある⁷⁾)、最近、基礎的に遊離されている内在性 DA の影響が検討されはじめた。つまり、DA 合成阻害薬の急性投与によりシナプス間隙の DA を枯渇させる前後の D₂受容体結合能の差を観察した研究では、統合失調症患者のほうが健常者よりこの差が有意に大きく、基礎的 DA 遊離の増加が推測された¹⁹⁾。また、結合差が大きい症例では抗精神病薬への反応が良好であった¹⁹⁾。

さらに、統合失調症患者の線条体では、DA の前駆体を標識した [¹⁸F] L-DOPA の蓄積の上昇が報告されている²⁰⁾²¹⁾。これは DA 合成が増加しているためと考えられ (DA は NA の前駆体でもあり、L-DOPA の蓄積は NA 合成とも関係するが、線条体の NA 濃度はきわめて低く、おもに DA 合成が反映される)、DA 伝達過剰仮説に矛盾はしない。

上述した所見のうち、AMP 投与後の変化は、逆耐性が形成された動物で AMP 類やコカインの再投与後に異常行動の増強と線条体の DA 遊離の増大がみられるという結果¹¹⁾と類似しており、AMP モデルと統合失調症の病態に共通性があることを支持している。DA 神経終末における基礎的な DA の放出および合成の異常は、逆耐性現象との関連は不明だが、AMP 投与時に作動する DA 伝達のフィードバック系の障害によってもたらされる可能性がある。

※ 4. DA 仮説・AMP モデルの限界

DA 伝達過剰仮説は、統合失調症において分子レベルで証明されるには至っていないが、明らかに矛盾する所見は得られておらず、治療薬開発の基礎になっている点で、AMP モデルとともにいぜんとして重要な位置を占めている。分子遺伝学的研究でも、D₂受容体の細胞内移行を遅延させる Ser 311→Cys ミスセンス変異が統

合失調症と相関すること²²⁾がメタ解析²³⁾によって支持され、D₂受容体を介するDA伝達が過剰になりやすい脆弱性の基盤として注目されている。

しかし、DA仮説は統合失調症全体ではなく、幻覚・妄想状態を中心とした一部の症状の病態を説明するにすぎない¹²⁾。多様な精神症状・縦断的経過を示す統合失調症の病態すべてを単独の薬理学的モデルで説明することは困難であり、AMPモデルは妄想型や急性期の統合失調症のモデルとして研究に応用するのが妥当と考えられている¹²⁾。

また、統合失調症とAMPモデルの違いにも留意する必要がある。統合失調症患者にみられるPPIの異常は、AMP急性投与時には認められるが、逆耐性現象が成立すると消失する。PETやSPECTを用いた研究において、MAPを長期乱用し統合失調症様異常を呈する覚せい剤精神病患者では、尾状核・被殻におけるDAトランスポーターが減少し²⁴⁾²⁵⁾、薬物中止後もこの状態が長期間続くこと²⁵⁾が見出されているが、統合失調症では変化しないとの報告²⁶⁾²⁷⁾が多い。

このような差異は、AMP類がDA神経終末に直接作用してDA伝達を亢進させるのに対して、統合失調症のDA伝達異常はDA以外の神経伝達または神経修飾の障害の結果、二次的に生ずる機序を考慮すべきことを示している。実際に、従来の脳を対象とした研究結果と臨床薬理的知見は、統合失調症の病態には複数の脳部位を含む特定の神経回路網（または情報処理システム）の障害とそれに伴う多くの神経伝達異常の関与を示唆している¹⁾²⁸⁾。

たとえば、NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬は、統合失調症と区別がむずかしい陽性・陰性双方の症状を誘発するが、実験動物に急性投与すると前頭葉皮質のDA伝達が著明に亢進する²⁹⁾。前頭葉皮質ではDAニューロンを抑制しているGABAニューロンが、NMDA受容体を介してグルタミン酸ニューロンから促進的調節を受けている。したがって、上記の現象は、NMDA受容体遮断薬によってGABAニューロンの機能が低下し、DAニューロンの脱抑制が生じたためと推察される²⁹⁾。また、健康なヒトで、NMDA受容体の機能を低下させると、SPECT上で、AMPによるDA放

出の著明な増加が観察される³⁰⁾。これらの結果は、NMDA受容体機能の低下により二次的にDAニューロンの制御が障害され、統合失調症の陽性症状や逆耐性現象が出現しうることを示唆している。

※おわりに—AMPモデルの新たな研究方向

統合失調症の病態の少なくとも一部には、過剰な脳内DA伝達が関与していると推測され、AMPモデルがその解析に有用なことが支持されている。本症では特定の神経回路網の障害から生ずる複数の神経伝達物質の異常が想定されることを考え合わせると、今後は、AMPモデルをDA伝達系だけでなく、その上流あるいは下流に位置する分子カスケードの異常を探索するのに役立つ視点が必要である。このため、既知の遺伝子や蛋白質の発現量の比較、differential cloning、DNAマイクロアレイなどを用いて、AMP類の急性投与や逆耐性現象の成立時に発現が変化する分子をスクリーニングする試みがおこなわれている¹⁾。またわれわれは、①統合失調症が思春期以降に発症する、②AMP類の精神機能への影響も発達に従って変化する、③逆耐性現象が特定の生後発達時期（臨界期）以降にしか形成されない、などの点に着目し、統合失調症関連候補分子として、逆耐性現象の臨界期からAMP類投与時に異常を示すようになる遺伝子を検索している³¹⁾。以上の研究から、ΔFosB、NAC1、Cdk5、γGβ1、塩基性線維芽細胞増殖因子、mrt1などをはじめ、AMPモデルや統合失調症に関係する可能性がある、DA伝達系以外の分子が同定された¹⁾³¹⁾。

こうしたAMPモデルの新たな研究方向が、統合失調症の病態解析だけでなく、現在の受容体拮抗作用による対症療法的治療の域を超え、脆弱性・再発準備性の獲得を阻止するような新しい治療法の開発につながる事が期待される。

【* 脚注】

突然の音や光の刺激に対する驚愕反応は、その直前に単独では刺激を引き起こさない弱い同種の刺激を与えておくことにより、著明に抑制される。この現象はpre-pulse inhibition (PPI) と呼ばれ、感覚運動情報制御機

能を反映する客観的指標の一つとして考えられている。統合失調症ではこの抑制が減弱している。DA 作動薬を投与すると PPI が減弱することから、統合失調症モデルの一指標として重視されている。ただし、PPI の減弱は強迫性障害をはじめとして、統合失調症以外の精神疾患でもみられる点に注意する必要がある。



文 献

- 1) 西川徹：統合失調症—動物モデルからのアプローチ。*Molecular Medicine* 40 : 270-278, 2003
- 2) 西川徹：薬理作用の基礎。今日の分裂病治療。島菌安雄，藤縄昭編。金剛出版，東京，1990，pp. 254-282
- 3) Carlsson A, Lindqvist M : Effect of chlorpromazine and haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 20 : 140-144, 1963
- 4) van Rossum JM : The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 160 : 492-494, 1966
- 5) Javitt DC : Negative schizophrenic symptomatology and the PCP (phencyclidine) model of schizophrenia. *Hillside J Clin Psychiatry* 9 : 12-35, 1987
- 6) Sanfilippo M, Wolkin A, Angrist B *et al* : Amphetamine and negative symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 123 : 211-214, 1996
- 7) Sedvall G : Monoamines and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand (suppl.)* 358 : S 7-S 13, 1990
- 8) Rothman RB, Vu N, Partilla JS *et al* : *In vitro* characterization of ephedrine-related stereoisomers at biogenic amine transporters and the receptorome reveals selective actions as norepinephrine transporter substrates. *J Pharmacol Exp Ther* 307 : 138-145, 2003
- 9) Jones SR, Gaidetdinov RR, Wightman RM *et al* : Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter. *J Neurosci* 18 : 1979-1986, 1998
- 10) Kopnisky KL, Hyman SE : Molecular and Cellular Biology of Addiction. In : *Neuropsychopharmacology : The Fifth Generation of Progress*. ed. by Davis KL, Charney D, Coyle T *et al*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2002, pp. 1367-1379
- 11) 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
- 12) 佐藤光源：覚醒剤精神病—基礎と臨床—，金剛出版，東京，1986
- 13) Dacidsen C, Lazarus C, Xiong X *et al* : 5-HT (2) receptor antagonists given in the acute withdrawal from daily cocaine injections can reverse established sensitization. *Eur J Pharmacol* 453 : 255-263, 2002
- 14) 首藤隆秀，島添隆雄，渡辺繁紀：メタンフェタミン逆耐性の薬理的消失に関する検討。第 23 回日本神経精神薬理学会年会発表要旨集，2002，p. 101
- 15) Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH *et al* : Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug free schizophrenia subject. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 9235-9240, 1996
- 16) Breier A, Su TP, Saunders R *et al* : Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations : evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 2569-2574, 1997
- 17) Laruelle M, Abi-Dargham A, Gil R *et al* : Increased dopamine transmission in schizophrenia : relationship to illness phases. *Biol Psychiatry* 46 : 56-72, 1999
- 18) Bigliani V, Pilowsky LS : *In vivo* neuropharmacology of schizophrenia. *Brit J Psychiatry* 174 (suppl.) : S 23-S 33, 1999
- 19) Abi-Dargham A, Rodenhiser J, Printz D *et al* : Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 8104-8109, 2000
- 20) Reith J, Benkelfat C, Sherwin A *et al* : Elevated dopa decarboxylase activity in living brain of patients with psychosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 11651-11654, 1994
- 21) Hietala J, Syvalahti E, Vuorio K *et al* : Presynaptic dopamine function in striatum of neuroleptic-naive schizophrenia patients. *Lancet* 346 : 1130-1131, 1995
- 22) Arinami T, Itokawa M, Enguchi H *et al* : Association of dopamine D2 receptor molecular variant with schizophrenia. *Lancet* 343 : 703-704, 1994
- 23) Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT : Meta-analysis identifies an association between the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 8 : 911-915, 2003
- 24) Volkow ND, Chang L, Wang GJ *et al* : Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *Am J*

- Psychiatry* 158 : 377-382, 2001
- 25) Sekine Y, Iyo M, Ouchi Y *et al* : Metamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *Am J Psychiatry* 158 : 1206-1214, 2001
- 26) Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH *et al* : Dopamine and serotonin transporters in patients with schizophrenia : an imaging study with [123 I] beta-CIT. *Biol Psychiatry* 47 : 371-379, 2000
- 27) Laakso A, Vilkmann H, Alakare B *et al* : Striatal dopamine transporter binding in neuroleptic-naive patients with schizophrenia studied with positron emission tomography. *Am J Psychiatry* 157 : 269-271, 2000
- 28) Andreasen NC : Schizophrenia : the fundamental questions. *Brain Res Brain Res Rev* 31 : 106-112, 2000
- 29) Umino A, Takahashi K, Nishikawa T : Characterization of the phencyclidine-induced increase in prefrontal cortical dopamine metabolism in the rat. *Br J Pharmacology* 124 : 377-385, 1998
- 30) Kegeles LS, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y *et al* : Modulation of amphetamine-induced striatal dopamine release by ketamine in humans : implications for schizophrenia. *Biol Psychiatry* 48 : 627-640, 2000
- 31) 西川徹 : mrt1 をめぐって. 特集「統合失調症の神経生物学」, *Schizophrenia Frontier* 5 : 18-24, 2004

統合失調症：分子から治療まで

統合失調症の分子薬理学的解析 —ドーパミン受容体およびNMDA受容体 作用薬を用いたアプローチ—

にしかわ とおる 西川 徹 | 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)
E-mail: tnis.psyc@tmd.ac.jp

SUMMARY

統合失調症の原因・病態の解明と新しい治療法開発の
手がかりを得るため、私たちは、ドーパミン作動薬（覚
せい剤・コカイン他）やNMDA受容体遮断薬（フェンサ
イクリジン・ケタミン他）などの統合失調症様異常発現
薬を手がかりに、統合失調症関連分子の探索と解析を進
めている。この過程で、NMDA受容体コ・アゴニストで
あり、統合失調症とその薬理学的モデルの異常を改善す
るD-セリンが内在性物質であることを見出した。さら
に、D-セリンの代謝および機能の分子機構を調べ、D-セ
リン選択的応答を示す新規遺伝子をクローニングした。
また、統合失調症や統合失調症様異常発現薬による精神
病状態が思春期以降に生ずることに着目し、統合失調症
状の発症や再発に関連する候補分子として、覚せい剤に
対し、特定の生後発達期以降に異常な応答を示す新規遺
伝子を検出した。現在、これら分子の統合失調症患者に
おける変化や、治療薬開発の標的としての意義を検討中
である。

KEY WORDS

統合失調症
ドーパミン作動薬
NMDA受容体遮断薬
内在性D-セリン
発達

はじめに

統合失調症は、およそ0.8%もの高率で発症し、15
～35歳頃から冒される例が大部分を占める。しかも、
治療薬（抗精神病薬）に抵抗する症状のために容易に
慢性化し、十分な社会復帰を果たせない患者が多く、
わが国だけでも20万人以上が入院生活を余儀なくさ
れている重大な疾患である。

脳科学の進歩に伴って、統合失調症の分子病態を理
解するための多様なアプローチが行われるようになった
が、脳器質性精神疾患とは異なって、脳細胞の明ら
かな変性・脱落あるいは炎症を伴わず、他に生物学的
マーカーも確立されていないことから、神経変性疾患
で得られてきたような著しい成果があがるに至ってい
ない。したがって、未知の作動原理に従う脳内システ
ムや病的過程を念頭のおいた視点が必要と考えられ
る。本稿では、こうした可能性を考慮して筆者らが進
めている統合失調症の分子薬理学的解析の試みを紹介
したい。

1. 統合失調症状の薬理学的特徴

統合失調症においては、思考、知覚、感情、意欲な
どの脳機能が広汎に障害され、多彩な精神症状が出現
する。これらの症状は一般に、陽性症状と陰性症状に

特集1 統合失調症：分子から治療まで

分類される。陽性症状は、妄想、幻覚、統制を欠いた行動・興奮など、発症すると新たに産出されたように見える異常をさす。陰性症状は、健常時の諸機能が減弱・脱落する異常という意味で、会話・思考内容の貧困化、感情鈍麻、意欲の減退、引きこもりなどを含む。

これらの症状に対応する器質的または分子遺伝学的変化は見出されておらず、次のような薬理学的事実にもとづき、ドーパミン (dopamine: DA) 伝達の過剰が陽性症状に関係し、グルタミン酸伝達の低下が陽性・陰性双方の症状に関与する可能性が示唆されている¹⁻⁵⁾ (図1)。①覚せい剤 (アンフェタミン (amphetamine), メタンフェタミン (methamphetamine: MAP) など) やコカインは DA 伝達を亢進させる作用をもち、主として統合失調症と区別し難い幻覚・妄想状態を引き起こす、②抗精神病薬は統合失調症患者の主に幻覚・幻覚妄想状態を改善し、その力価は D2 型 DA 受容体遮断作用と正比例するが、感情鈍麻、意欲減退をはじめとする陰性症状にはほとんど効果がない、③フェンサイクリジン (phencyclidine: PCP), ケタミン, その他の NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型グルタミン酸受容体遮断薬は、遮断作用の強さに相関して統合失調症様の陽

性および陰性症状を発現させる、④健常者には明らかな異常を引き起こさない少量の PCP または ケタミンを寛解期の統合失調症患者に投与すると、精神症状の増悪や脳の活動異常が出現する、⑤抗精神病薬は DA 作動薬による統合失調症様状態は改善するが、NMDA 受容体遮断薬による異常に対しては陽性症状に効果を及ぼすにとどまり陰性症状には無効である、⑥ NMDA 受容体遮断薬投与により大脳皮質優位に DA 伝達が亢進する。

さらに、5HT₂ 型セロトニン受容体遮断作用が相対的に強い抗精神病薬は、D₂ 受容体遮断作用が主体の抗精神病薬より陰性症状に対する改善効果が大きいこと⁶⁾や、NMDA 受容体遮断薬により脳内セロトニンの細胞外放出が増加すること⁷⁾などより、陰性症状の一部にセロトニン伝達異常の関与が推測される。

II. NMDA 受容体に作用する新しい抗精神病薬

以上の所見は、少なくとも一群の統合失調症患者において、NMDA 受容体を介したグルタミン酸伝達の低下が抗精神病薬抵抗性・反応性双方の症状に関係す

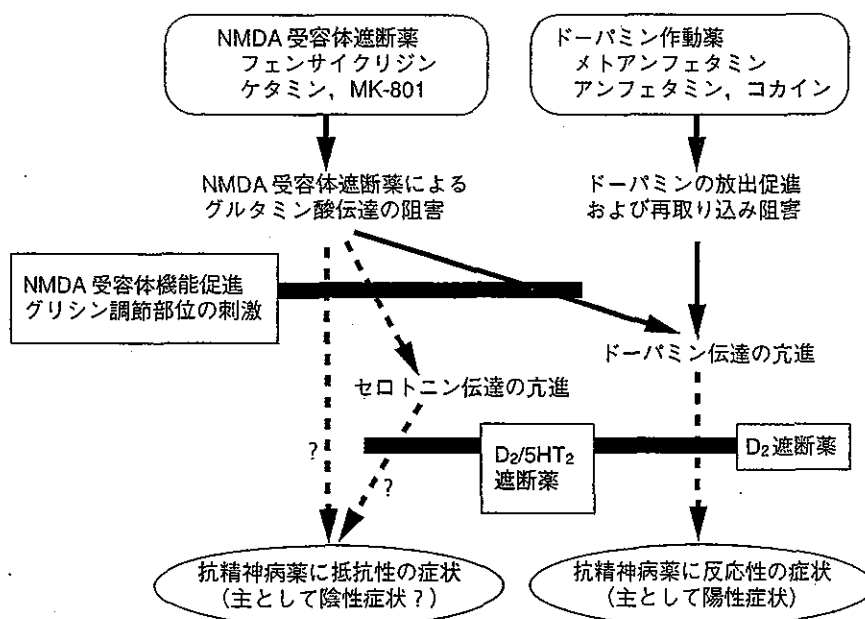


図1 薬物の作用から見た統合失調症状の発現機序 (仮説)

ることを示唆している。したがって、NMDA受容体機能を促進する物質が、陽性症状だけでなく難治性の陰性症状に対しても有効であることが期待される(図1)。筆者らは、この仮説をもとに、ラットを用いて新しい治療法開発の研究を行い、NMDA受容体のグリシン調節部位を選択的に刺激してNMDA受容体機能を促進するD-セリンやD-アラニン、PCPが脳内DA伝達亢進や異常行動を惹起する作用を抑制することを明らかにした^{2,9)}。他の研究グループも、グリシンまたはD-セリンが抗PCP作用をもつことを報告している⁹⁾。

実際に、欧米においては、グリシン、D-サイクロセリン(NMDA受容体グリシン部位の部分的作動薬)、D-セリン、あるいはグリシントランスポーター阻害薬を、統合失調症患者に従来の抗精神病薬と併用投与する二重盲検試験が行われ、抗精神病薬単独投与群より、陰性症状および認知障害の改善度が有意に高いことが報告されている⁹⁾。

III. 内在性D-セリンと統合失調症

筆者らは、D-アミノ酸がもつ抗PCP作用の発現機序を検討する過程で、「哺乳類の組織中アミノ酸はL体で占められており、D体が恒常的に存在することはない」という定説に反して、D-セリンがラットの脳に一生の間高い濃度で維持される内在性物質であることを発見した¹⁰⁾。

D-セリンは、グリシン、D-アラニンと同様に単独では神経伝達を生じないが、グルタミン酸が十分なNMDA受容体の神経伝達を起こすためには不可欠であるという重要な役割をもつため、NMDA受容体のコ・アゴニストと呼ばれる。筆者らはさらに、内在性コ・アゴニストのD-セリンが、①脳に選択的でNMDA受容体—特にNMDAR2Bサブユニット—と酷似した分布を示し、②細胞外液中への神経インパルス非依存的な遊離、③脳組織への取り込み、④L-セリン

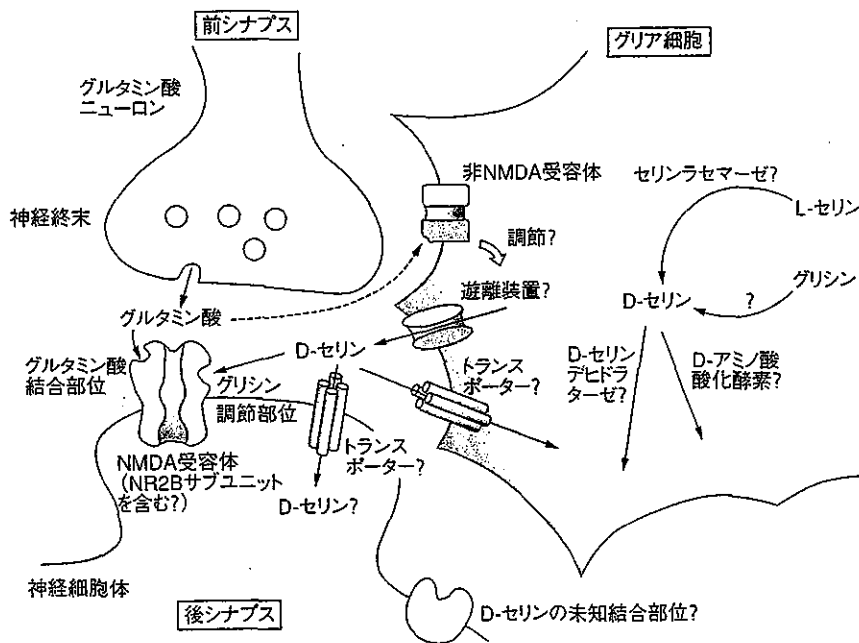


図2 脳内D-セリン動態の模式図(仮説:文献10)を改変)

脳内D-セリンは、神経細胞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、アストロサイトの非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-セリンの代謝系はニューロンにも存在する可能性がある。

からの生合成，⑤グリシン開裂酵素活性低下による減少，⑥D-アミノ酸酸化酵素活性消失による増加などの反応系あるいは調節系をもつことを明らかにした¹⁰ (図2)。免疫組織化学的研究では，グリア細胞（アストロサイトおよびオリゴデンドロサイト）と神経細胞の双方に存在することが報告されている¹⁰ (図2)。

抗PCP作用や統合失調症状を改善する作用をもつことを考え合わせると，D-セリンは哺乳類の脳において，NMDA受容体を調節する内在性神経修飾物質であって，行動や精神機能の発現・制御に関与すると推測される。そこで，筆者らは統合失調症においてD-セリンの代謝や機能が障害された結果，NMDA受容体機能が低下する可能性の検討を始めたが，D-セリンの死後脳組織中の変化は認められなかった¹¹。ただし，D-セリンシグナルの異常を間接的に支持する所見として，グリシン結合部位の増加¹²，D-セリン分解能をもつD-アミノ酸酸化酵素とその調節に関わる因子の遺伝子多型と統合失調症との間の有意な相関などの報告がある¹³。血液中D-セリン濃度の低下も報告されたが¹⁴，アルツハイマー病でも同様の傾向があり¹⁵，今後の検討が待たれる。一方，NMDA受容体機能を促進する新しい抗精神病薬の開発においても，グリシン，D-セリン，D-サイクロセリンなどには，脳への移行性，作用の選択性，毒性のいずれかに問題があるため，脳の内在性D-セリンの代謝系に作用してそのシグナルを増強する薬物が期待されている^{2,10}。

これらの研究に必要な，D-セリンの代謝・機能を担う分子の解明は未だ十分ではないが，D-セリンのL-セリンからの生合成に関与するセリンラセマーゼ¹⁶ (最近本酵素遺伝子のノックアウトマウスがD-セリンを欠損することが報告された¹⁷) や，D-セリンに高い親和性を持つ中性アミノ酸トランスポーター¹⁸を単離したという報告が注目される。筆者らは，D-セリンに立体選択的応答を示す (L-セリン投与後には有意な変化が見られない) 新規遺伝子，*dsr-1* (D-serine-responsive transcript-1)¹⁹ および *dsr-2*²⁰ をラット大脳新皮質からクローニングした。*dsr-1*の一部はプロトンATPaseサブユニットをコードするM9.2遺伝子と相同性があり，D-セリンの取り込みや放出に関与する可能性がある。また，*dsr-2*はD-セリンと酷似した体内・脳内分布と

その発達変化を示し，D-セリンまたはNMDAR2Bサブユニットとの機能的相関が推察された。

IV. 統合失調症発症の発達薬理的仮説

統合失調症とDAおよびグルタミン酸伝達系との関連を示唆する薬理的所見は，本症の分子病態の重要な手がかりであるが，必ずしもこれらの伝達系自体の異常が原因であることを意味しない。したがって，冒頭に述べた「未知の脳内システム」を考慮して病態を解析する必要がある。D-セリンが構築するシステムも候補のひとつと考えている。さらに筆者は，薬理的所見を活用した別の戦略として，統合失調症やそのモデルとなる薬物誘発性の異常が一定の発達段階以降に出現することに注目し，統合失調症状に関する発達薬理的仮説を立て検討を進めている²¹ (図3)。

ほとんどの統合失調症は思春期以降に発症するが，①PCPと同様にNMDA受容体遮断作用をもつケタミンは，成人に比べて小児には精神異常を起こし難い²²，②アンフェタミンを投与したときの反応も小児と成人では異なる²³，などの臨床観察から，薬物による統合失調症様異常も思春期以降に生じ易いことが推測される。こうした現象は，統合失調症で特異的に障害される情報処理システムがあつて，③思春期頃に機能的成熟を遂げ，④それまでは構造的にも未成熟か，個体の精神機能の制御に主要な役割を果たしていないが，⑤機能的成熟後には精神機能の調節に不可欠な重要な役割を果たすこと，などの仮定が成り立てば説明可能である (図3)。

すなわち，このシステムの発達過程や成熟時期を規定する因子に異常があつても，思春期までは，行動の変化は目立たないはずであり (図3)，思春期以降の誤作動は精神機能に重大な障害をもたらす。特有の精神症状となって顕在化することが予想される (図3)。統合失調症特異的なシステムに障害を与える薬物が本症類似の異常を引き起こすと考えられるため，そのシステムの完成以前には，こうした異常は生じ難いことになる (図3)。

一方，成熟した動物に統合失調症様異常発現薬を投与すると，ヒトで見られる統合失調症状と同様の薬理

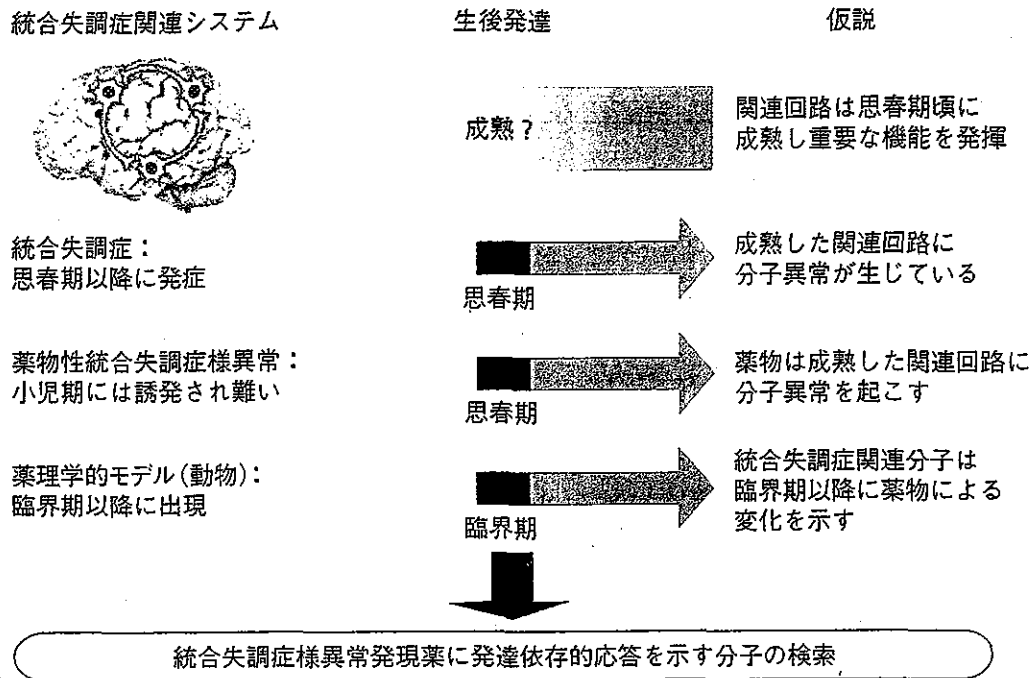


図3 生後発達と統合失調症および薬物性統合失調症様異常の発症 (仮説)

学的反応をもつ異常行動が認められ、統合失調症治療薬のスクリーニングに用いられてきた^{1,2,6)}。したがって、動物の脳にも、ある種の統合失調症で異常を呈する情報処理システムと基本的に類似したシステムの存在が推測される。興味深いことに、これらの行動異常も特定の臨界期以降に出現する。たとえば、アンフェタミン類やコカインによって引き起こされ、統合失調症陽性症状の発症および再燃のモデルと考えられている逆耐性現象(行動感作:脚注参照*)は、ラットでは生後3週以降にならないと成立せず^{24,25)}、PCP投与ラットの異常行動も生後発達時期によって違いが見られる²⁶⁾。

以上の仮説に従えば、ヒトでは思春期頃、動物では上記の臨界期以降に、統合失調症様異常発現薬に対し

て異常な応答を示すようになる分子またはそれを含む分子カスケードや神経回路が存在し、統合失調症の病態に関与する可能性が高い。そこで、MAPまたはPCP投与後の活動異常のパターン(神経活動のマーカである*c-fos*遺伝子発現を指標として検討)が発達に伴って変化し、臨界期頃に成熟期のパターンに近づく大脳新皮質^{25,27)}を、統合失調症関連システムを含む脳部位として選び、これら薬物に対する反応が臨界期の前後で差がある遺伝子群をRAP-PCR(RNA arbitrarily primed PCR)およびRT-PCRを用いて探索した。この結果、実際に、MAP(*mrt1*(MAP-responsive transcript 1), *mrt3*)あるいはPCP(*pvt1*(PCP-responsive transcript 1), *pvt4*)に発達依存的応答を示す遺伝子群が検出された。

逆耐性現象

逆耐性現象は、ヒトや実験動物において、覚せい剤、コカインなどのDA作動薬を単回または反復投与すると、幻覚・妄想あるいは異常行動(移所運動(場所を変えて歩き回る行動)および常同行動(たとえば首を左右に振るといった、単純で無目的な行動を繰り返す))が薬物やストレスによって誘発されやすくなる状態が長期間持続する現象を指し、行動感作とも呼ばれる。統合失調症患者においては、健常者には異常を引き起こさない少量のDA作動薬が幻覚・妄想状態を容易に増悪・再燃させることから、DA作動薬による精神病状態ばかりでなく、統合失調症における幻覚・妄想状態の発症あるいは再燃のモデルと考えられている。

V. 覚せい剤に発達依存的応答を示す *mrt1*

このうち新規遺伝子 *mrt1* について最も解析が進み、逆耐性現象と共通した薬理学的特徴をもつことがわかった^{28,29}。つまり、① *mrt1* から PDZ, PX (phox), RA (Ras association) の各ドメインをひとつずつもつ少なくとも2種類のイソ蛋白が産生され、MAP に応答するのはシナプトゾーム画分に多く含まれる Mrt1b 蛋白をコードし、末梢より脳に優位に発現する *mrt1b* mRNA であること、*mrt1b* は、② MAP への応答が出現するのは逆耐性現象が成立するようになる時期と一致しており、③ MAP 反復投与によって逆耐性が形成された動物の脳では、持続的に上昇し MAP 再投与後には変化しないこと、④ 逆耐性を形成するコカインにも反応し、⑤ 逆耐性を阻害する D1 型 DA 受容体遮断薬を前処置すると MAP による発現誘導が生じなくなるなど、などが明らかになった。さらに、アンチセンスオリゴヌクレオチドを脳室内に持続注入した動物では、MAP の反復投与を行っても逆耐性現象が認められなかった(未発表データ)。

これらの結果は、*mrt1b*, Mrt1b などが逆耐性現象の形成や維持に重要なことを示唆しており、統合失調症の陽性症状の発症・再燃に関与する可能性がある。現在、さらに検討を加えるため、*mrt1* を前脳選択的に過剰発現するマウスの作製と、統合失調症患者のゲノムにおける相同遺伝子およびそのプロモーター領域の解析を進めている。

mrt1 は最近 sorting nexin ファミリーに分類された。構造上の特徴から膜蛋白、細胞内シグナル系あるいは細胞骨格系蛋白と結合すると考えられ、5HT₄セロトニン受容体と結合するという報告がある³⁰、筆者らも、酵母ツーハイブリッド法を使って、Mrt1b と相互作用をもつ分子群を解析中である³¹。

おわりに

統合失調症の臨床薬理的・発達薬理学的特徴をもとに、病因・病態の手がかりとなる分子の探索を試みた結果、筆者らは D-セリンとその代謝・機能系、D-セ

リンに対して立体選択的に応答する *dser-1* および *dser-2*、MAP に発達依存的応答を示し逆耐性現象に関与する *mrt1* などを見出した。いずれも、既知の分子とは異なる構造上の特徴をもつことより、グルタミン酸伝達のコ・アゴニスト調節系(古典的神経伝達物質とは異なり、シナプス間隙に一定以上の濃度維持が要求され、グリア細胞と密接に関係するなどの特性をもつ)や、逆耐性のような長期持続性の神経機能変化などの、未解明の脳内制御システムの分子機構および統合失調症の病態との関連を検討する有用なプローブになりうると予想している。また D-セリンシステムは、D-セリン自体が発達にともなって著明な脳内分布の変化を遂げ、統合失調症様異常発現薬の行動への作用が転換する時期に成熟期のパターンに移行する点からも、本症発症との関連が注目される¹⁰。さらに、幼若期と成熟期 PCP に対する応答が異なる遺伝子も検出されている³²。

統合失調症が未知の病態形成原理をもつ可能性を考え合わせると、本稿で紹介した統合失調症関連候補分子の今後の検討にあたっては、遺伝子転写産物、産生蛋白、ゲノムの塩基配列だけでなく、遺伝子がマップされるゲノム領域の高次構造や化学修飾などのエピジェネティックな要因との関係を考慮した研究を進める必要がある。

謝辞

本稿で紹介した筆者らの研究は、国立精神・神経センター神経研究所および東京医科歯科大学大学院精神行動医学分野において、次の方々と共同で行ったものです(所属は共同研究当時)：国立精神・神経センター、高橋(清久)、海野*、谷井(故人)、橋本(篤司)、柏*、林(時司)(故人)、岡、熊代、富田、的場、金田、高橋(勝宣)、林(文彦)、山本*、土田、梶井*、橋本(隆紀)、平岡、戸田、佐藤、藤山、村岡*、黒田*、松井、関口、和田；東京医科歯科大学(*を含む)、櫻井、嶋津、谷口、伊藤、金子、竹林、兼松；他施設、日比野(日本油脂筑波研究所)、藤井(筑波大学)、金野(獨協医科大学)。PCP 塩酸塩をご供与下さった住友製薬研究所および山之内製薬研究所に深謝致します。

参考文献

- 1) 西川 徹：薬理作用の基礎。今日の分裂病治療(高岡

- 安雄, 藤縄 昭編) 金剛出版, 東京, p254-282, 1990.
- 2) 西川 徹: 分裂病と興奮性アミノ酸伝達異常, 精神医学レビュー. 別巻「21世紀に向けて精神分裂病を考える」(融 道男・大森健一編), ライフサイエンス, 東京, p26-37, 1994.
 - 3) Petersen RC, Stillman RC (eds.): Phencyclidine (PCP) Abuse: An Appraisal National Institute on Drug Abuse Research Mono graphs, Superintendent of Documents, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., pp. 313, 1978.
 - 4) Umino A, et al: Characterization of phencyclidine-induced increase in prefrontal cortical dopamine metabolism in the rat, *Br J Pharmacol* 124: 377-385, 1998.
 - 5) Malhotra AK, et al: Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology* 17: 141-150, 1997.
 - 6) Kapur S, Remington G: Atypical antipsychotics: New durations and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Ann Rev Med* 52: 503-517, 2001.
 - 7) Yan QS, et al: Dizocilpine (MK-801) increases not only dopamine but also serotonin and norepinephrine transmissions in the nucleus accumbens as measured by microdialysis in freely moving rats. *Brain Res* 765: 149-158, 1997.
 - 8) Tani Y, et al: Stereoselective antagonism by enantiomers of alanine and serine of phencyclidine-induced hyperactivity, stereotypy and ataxia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 269: 1040-1048, 1994.
 - 9) Javitt DC: Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Mol Psychiatry* 9(11): 984-997, 2004.
 - 10) 西川 徹: 脳内D-セリンの代謝と生理作用. *細胞工学* 23: 1180-1185, 2004.
 - 11) Kumashiro S, et al: Free D-serine in post-mortem brains and spinal cords of individuals with and without neuropsychiatric diseases. *Brain Res* 681: 117-125, 1995.
 - 12) Ishimaru M, et al: Increases in strychnine-insensitive glycine binding site in cerebral cortex of chronic schizophrenics: Evidence for glutamate hypothesis. *Biol Psychiat* 35: 84-95, 1994.
 - 13) Chumakov I, et al: Genetic and physiological data implicating the new human gene *G72* and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 13675-13680, 2002.
 - 14) Hashimoto K, et al: Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 60: 572-576, 2003.
 - 15) Hashimoto K, et al: Possible role of D-serine in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry* 28: 385-388, 2004.
 - 16) Wolosker H, et al: Serine racemase: a glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 13409-13414, 1999.
 - 17) Coyle JT, et al: Gene knockout study of serine racemase. Society for Neurosci. 34th Annual Meeting Program 952.1, Oct. 27, 2004
 - 18) Fukasawa Y, et al: Identification and characterization of a Na(+)-independent neutral amino acid transporter that associates with the 4F2 heavy chain and exhibits substrate selectivity for small neutral D- and L-amino acids. *J Biol Chem* 275: 9690-9698, 2000.
 - 19) Tsuchida H, et al: Cloning of a D-serine-regulated transcript *dsr-1* from the rat cerebral cortex. *Biochem Biophys Res Commun* 280: 1189-1196, 2001.
 - 20) Taniguchi, et al: Cloning of a D-serine-regulated transcript *dsr-2* from the rat cortex. *Neurosci Res* 50: Supplement 1, S53, 2004.
 - 21) 西川 徹, 他: 分裂病の成因は薬理・生化学的アプローチから解明されるか. *精神科治療学* 12: 617-623, 1997.
 - 22) White PF, et al: Ketamine-its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 56: 119-136, 1982.
 - 23) Rapoport JL, et al: Dextroamphetamine: Its cognitive and behavioral effects in normal and hyperactive boys and normal men. *Arch Gen Psychiatry* 37: 966-943, 1980.
 - 24) Fujiwara Y, et al: Behavioral sensitization to methamphetamine in the rat: an ontogenic study. *Psychopharmacol* 91: 316-319, 1987.
 - 25) Nishikawa T, et al: Stimulant-induced behavioral sensitization and cerebral neurotransmission. In *Neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders*, pp. 53-62, Excerpta Medica, Ltd. Tokyo, 1993.
 - 26) 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.
 - 27) Sato D, et al: Developmental changes in distribution patterns of phencyclidine-induced c-Fos in rat forebrain. *Neurosci Lett* 239: 21-24, 1997.
 - 28) Kajii Y, 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.
 - 29) Fujiyama K, et al: 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.
 - 30) Joubert L, et al: New sorting nexin (SNX27) and NHERF specifically interact with the 5-HT4a receptor splice variant roles in receptor targeting. *J Cell Sci* 117: 5367-5379, 2004.
 - 31) 柏 淳, 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.
 - 32) 平岡秀一, 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.

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入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おります。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.

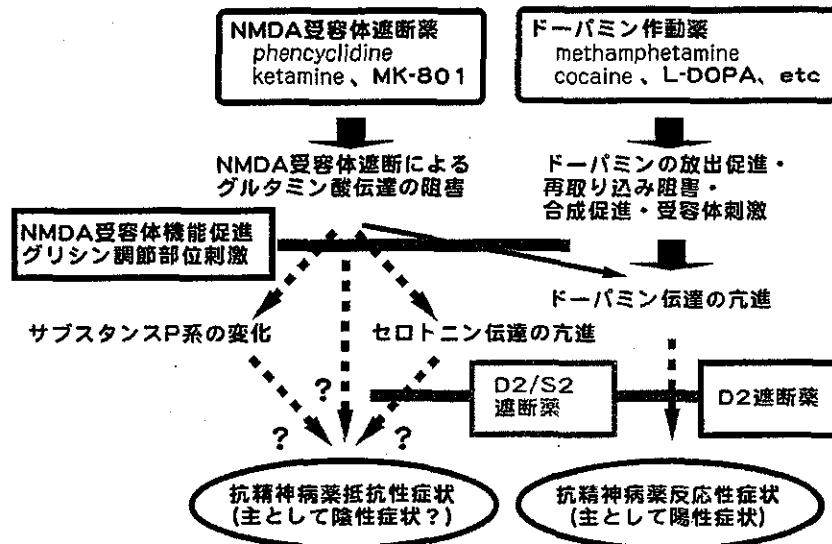


図1 薬理学的に見た統合失調症状の発現機序（仮説）

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い、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

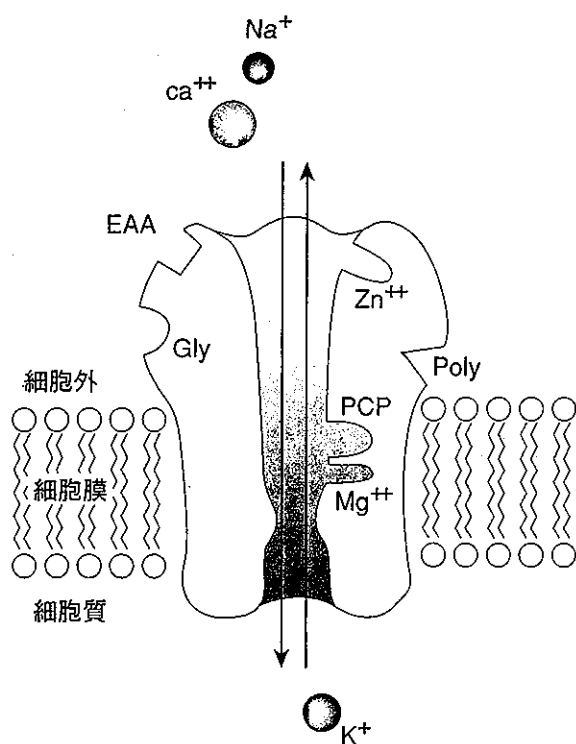


図2 NMDA受容体イオンチャンネル
 EAA：興奮性アミノ酸結合部位，Gly：グリシン調節部位，Mg⁺⁺：マグネシウム結合部位，PCP：PCP結合部位，Poly：ポリアミン結合部位，Zn⁺⁺：亜鉛結合部位

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状の治療法開発

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、非常に単純ですが、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/ε1 ヘテロメリックNMDA受容体

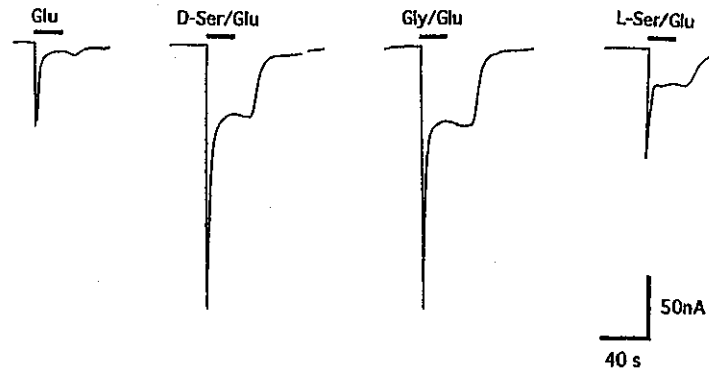


図3 グリシンおよびD-セリンによるNMDA受容体電流の増強
アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたヘテロメリックNMDA受容体(サブユニットε2とε1の組み合わせ)における検討結果を示す。

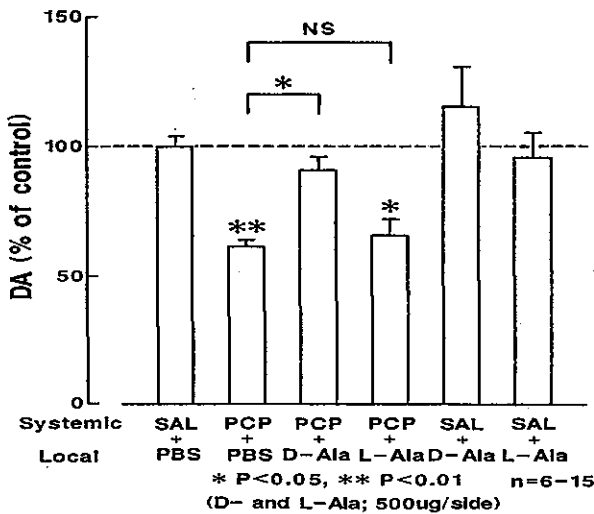


図4 Phencyclidineによる前頭葉のドーパミン伝達異常に対するNMDA受容体機能促進剤の効果
Phencyclidine投与後(10mg/kg, 腹腔内注射)に生ずるドーパミン消費増加を指標にした検討結果を示す。Ala, Alanine; PCP, phencyclidine; SAL, Saline; PBS, Phosphate buffered saline; *P<0.05, **P<0.01, SAL+PBS群に対する有意差または線で結んだ2群間の有意差

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

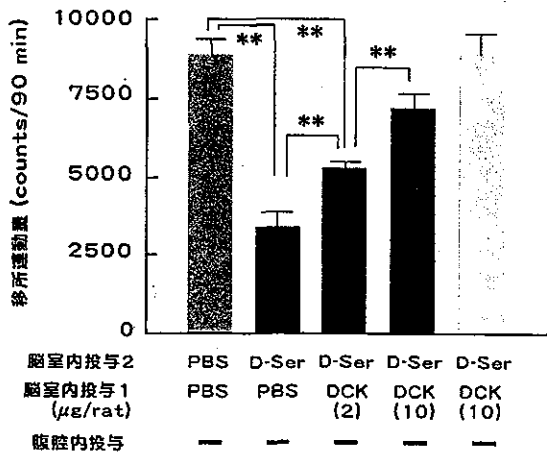


図5 Phencyclidineによる異常行動に対するNMDA受容体機能促進剤の効果
Phencyclidine投与後(10mg/kg, 腹腔内注射)に生ずる移所運動量増加を指標にした検討結果を示す。D-Ser, D-Serine; DCK, 5, 7-dichlorokynurenate; **P<0.01, 線で結んだ2群間の有意差

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

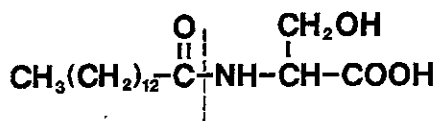


図6 N-ミリスチル-D-セリンの化学構造

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。すなわち、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

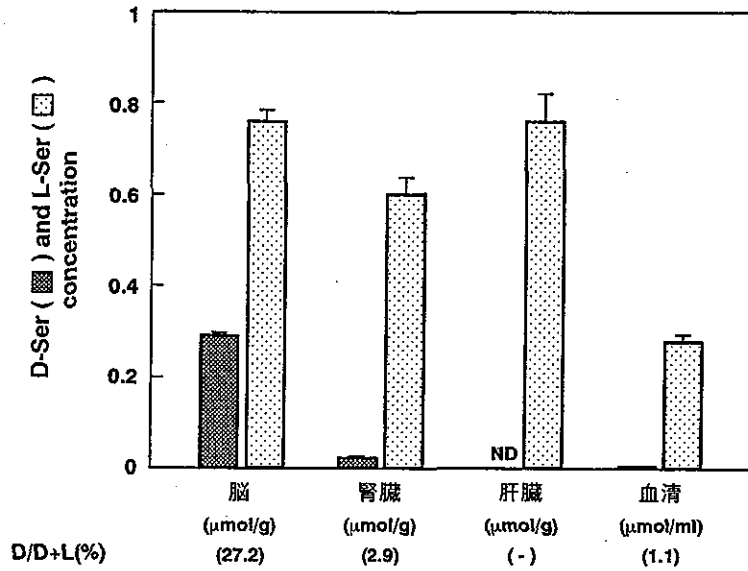


図7 ラットにおける遊離型 D-セリンの体内分布：L-セリンとの比較

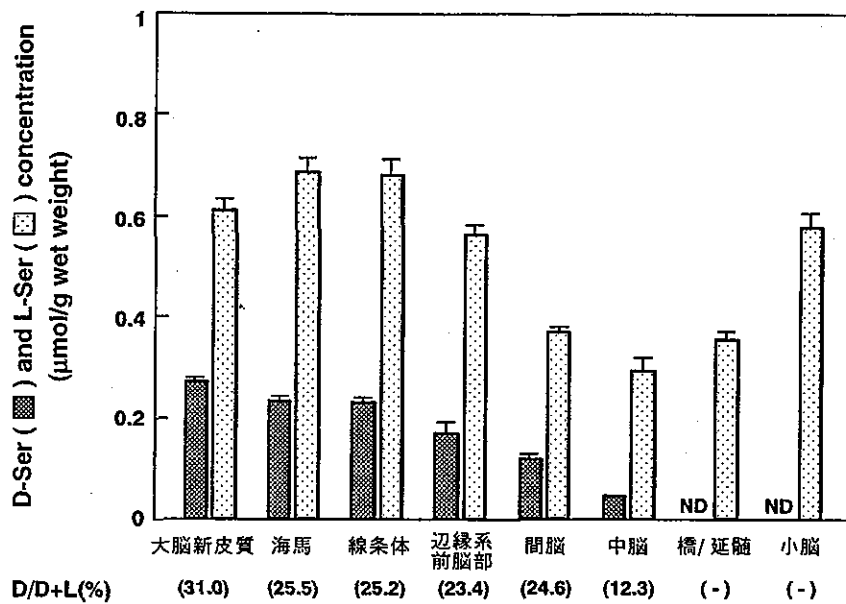


図8 ラット脳における遊離型 D-セリンの分布：L-セリンとの比較

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ないことがわかりました (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に、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。

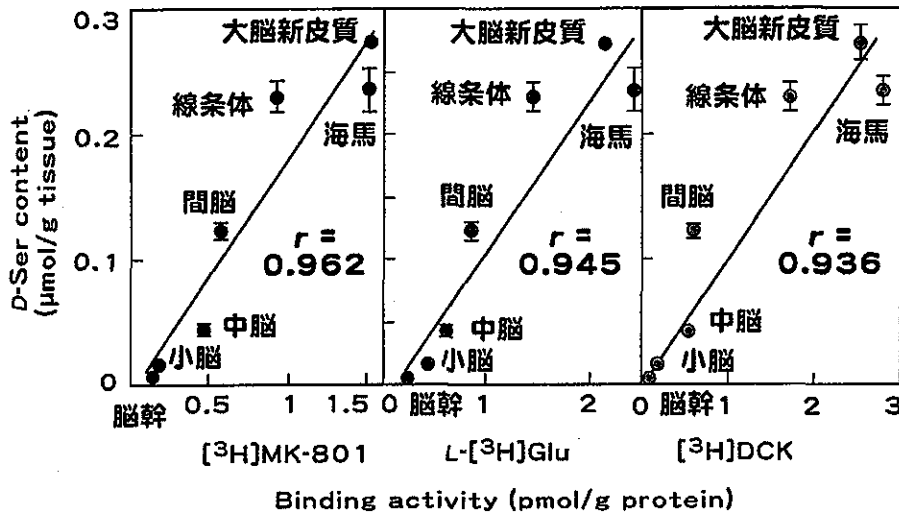


図9 ラット脳におけるD-セリンとNMDA受容体各調節部位の分布の関係
 縦軸はD-セリン濃度、横軸は各リガンドの結合活性（単位あたりの結合部位数を反映）を示す： $[^3\text{H}]$ MK-801, フェンサイクリジン結合部位への $[^3\text{H}]$ MK-801結合活性； $\text{L-}[^3\text{H}]$ Glu, グルタミン酸結合部位への $\text{L-}[^3\text{H}]$ グルタミン酸結合活性； $[^3\text{H}]$ DCK, グリシン結合部位への $[^3\text{H}]$ 5, 7-dichlorokynurenate結合活性。

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 ($\epsilon 2$) 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 ($\epsilon 2$) サブユニットを含むNMDA受容体に選択的な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 ($\epsilon 2$) 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

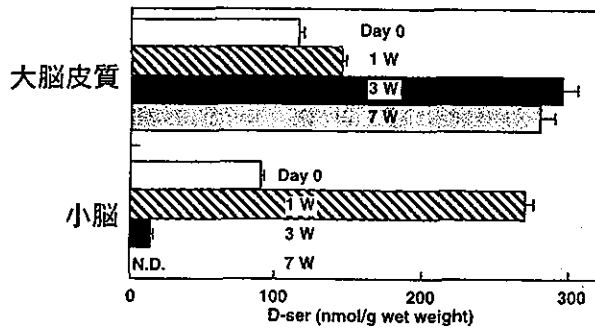


図10 ラットの脳皮質および小脳におけるD-セリン濃度の発達による変化
Day 0 は出生日, W は生後週齢を示す。

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によって成功し、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、脳に選択的に NMDA 受容体 R2B ($\epsilon 2$) 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

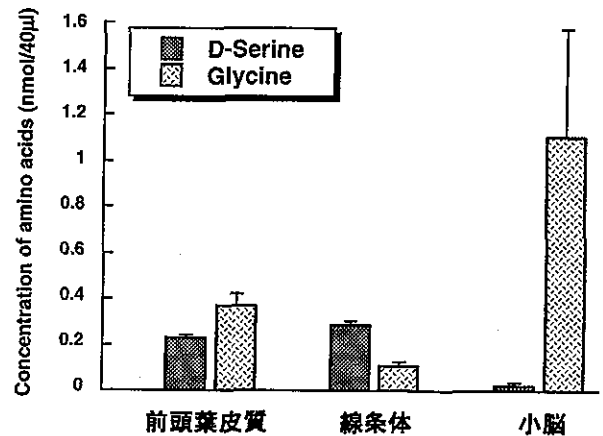


図11 ラットの各脳部位における細胞外 D-セリンおよびグリシン濃度
In vivo dialysis による測定結果を示す

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無いですが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かが、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後、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