

障害の改善度が高いことが報告されている。^{3,19)}

NMDA 受容体コ・アゴニスト単独でも陽性症状が改善される可能性は、次のような実験動物から支持され、臨床試験が待たれる^{3,19)}：① NMDA 受容体コ・アゴニストが NMDA 受容体遮断薬を急性投与した統合失調症モデル動物の前頭葉の DA 伝達亢進を抑制する、② PCP を反復投与した統合失調症モデル動物にみられる、アンフェタミン(間接的 DA 作動薬)誘発性の前頭葉 DA 遊離亢進が(統合失調症の線条体で同様の現象の報告がある)、グリシンを PCP と併用投与することにより認められなくなる。

一方、現在臨床応用可能な NMDA 受容体コ・アゴニストの限界も明らかになっている。グリシンは、BBB(血液脳関門)透過性が低く大量投与が必要であり、抑制性グリシン受容体にも作用し NMDA 受容体への選択性が低い欠点がある。D-サイクロセリンは、BBB 透過性は高いが、NMDA 受容体グリシン調節部位の部分作動薬のため、治療用量の範囲が狭く設定が難しい。D-セリンは、グリシン調節部位への選択性は高く臨床効果も優れているが、BBB 低透過性のため高用量を要する上、腎臓への毒性が問題になる。GLYT 1 阻害薬も高用量を要し、グリシンと同様、NMDA 受容体への選択性に難点がある。さらに、グリシン調節部位への選択的作動薬を合成することが技術的に困難な現状がある。

そこで、D-セリンに特異的なトランスポーターあるいは分解酵素の阻害薬のように、内在性 D-セリンの代謝系を標的として、グリシン調節部位への D-セリンシグナルを選択的に増強する物質の開発が有用と考えられる。

前節で述べたように、脊髄小脳変性症をはじめとする神経疾患で生ずる小脳失調症状にも、NMDA 受容体機能促進薬の効果が期待できる。小脳失調治療薬としては、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン製剤があるが十分な臨床効果が得られない患者もあり、筆者らが進めている D-サイクロセリンの投与試験²⁵⁾や、今後の D-セリンシグナル調整薬の開発の意義があると推察される。

脳虚血性神経細胞障害に対しては、NMDA 受容体遮断薬が有効であるが、精神症状誘発の副作用を克服するため、緩徐な作用を持つ治療薬の開発が求められている。この障害への D-セリンシグナルの

増強の関与が示唆されていることから、D-セリン合成阻害薬が有効な可能性がある。

⑥ おわりに

内在性 D-セリンは、研究の進展に伴い、D 体のアミノ酸であることのほかに、脳の情報伝達に関わる機能的役割においても古典的な神経伝達物質とは多くの相違点を持つことが明らかになりつつある。シナプス間隙においては、神経伝達物質が神経インパルス依存的に放出された後速やかに消去される必要があるのに対して、D-セリンは神経インパルス依存的な放出増加が生じず、コ・アゴニストとして一定以上の濃度が維持されなければならない。この現象にはグリア細胞の関与が示唆される。したがって、脳内 D-セリンの代謝及び生理機能の分子機構の解明により、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がかりがもたらされる可能性が高い。さらに、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期待される。

参考文献

- 1) Fujii N., *Orig. Life Evol. Biosph.*, 32, 103 (2002).
- 2) Danysz W., Parsons C. G., *Pharmacol. Rev.*, 50, 597 (1998).
- 3) Nishikawa T., *Biol. Pharm. Bull.*, in press (2005); 西川 徹, 日本神経精神薬理学雑誌, 20, 33 (2000).
- 4) Yasuda E. et al., *Neurosci. Lett.*, 299, 162 (2001).
- 5) Mothet J. P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102 : 5606 (2005).
- 6) Yamamoto N. et al., *Synapse*, 42, 84 (2001); Javitt D. C. et al., *Brain Res.*, 941, 146 (2002); Ribeiro C. S. et al., *ibid.*, 929, 202 (2002).
- 7) Matsuo H. et al., *Neurosci. Lett.*, 358, 123 (2004).
- 8) Foltyn V. N. et al., *J. Biol. Chem.*, 280, 1754 (2005); 吉村 徹, 生化学, 76, 378 (2004).
- 9) Semba R., *Neurosci. Res.*, 50, S 34 (2004) (Neuro 2004, Osaka, Sept., 2004).
- 10) Urai Y. et al., *Neurosci. Lett.*, 324, 101 (2002).
- 11) Tsuchida H. et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 280, 1189 (2001).
- 12) Taniguchi G. et al., *J. Neurochem.*, in press (2005).
- 13) Mothet J. P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 97, 4926 (2000).
- 14) Yang Y. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 15194 (2003).
- 15) Chen L. et al., *J. Neurophysiol.*, 89, 691 (2003).
- 16) Chatterton J. E. et al., *Nature*, 415, 793 (2002).
- 17) Iwama H. et al., 7 th International Congress on Amino Acids and Proteins, Vienna, Aug., 2001.
- 18) Schell M. J. et al., *J. Neurosci.*, 17, 1604 (1997); Kim P. M. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 102, 2105 (2005).
- 19) Javitt D. C., *Mol. Psychiatry*, 9, 984 (2004).
- 20) Ishimaru M. et al., *Biol. Psychiatry*, 9, 84 (2004).
- 21) Chumakov I. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99, 13675 (2002).
- 22) Hashimoto K. et al., *Arch. Gen. Psychiatry*, 60, 572 (2003); Hashimoto K. et al., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 28, 385 (2004).
- 23) Bordelon Y. M. et al., *Neurosci.*, 83, 459 (1997).
- 24) Katsuki H. et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311, 836 (2004).
- 25) Ogawa M. et al., *J. Neurol. Sci.*, 210, 53 (2003).

統合失調症：分子から治療まで

統合失調症の分子薬理的解析 —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 | 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)
西川 徹 | 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的解析の試みを紹介
したい。

I. 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

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¹⁻⁹⁾ (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⁹⁾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

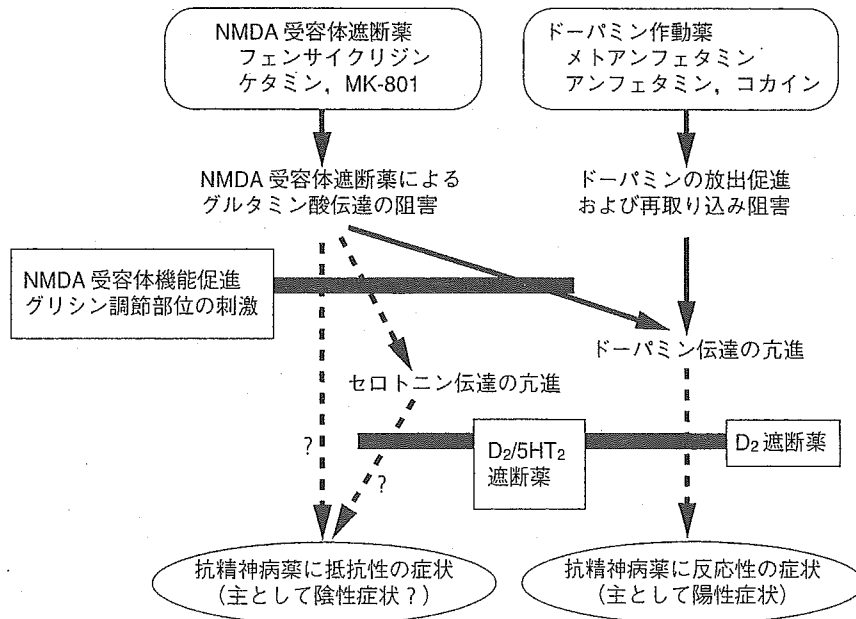


図1 薬物の作用から見た統合失調症状の発現機序 (仮説)

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^{2,8)}。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

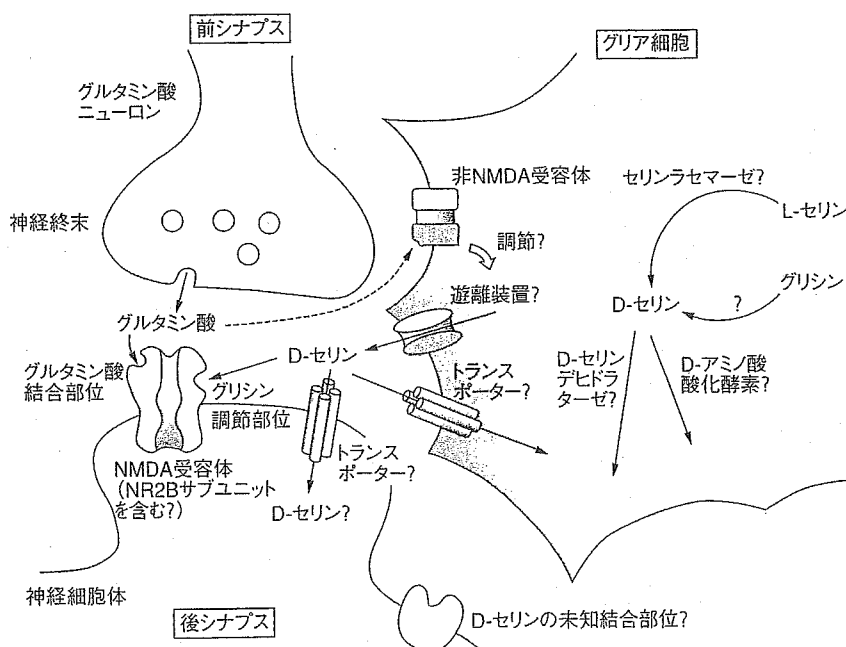


図2 脳内D-セリン動態の模式図(仮説:文献10)を改変)

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り，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逃げ，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

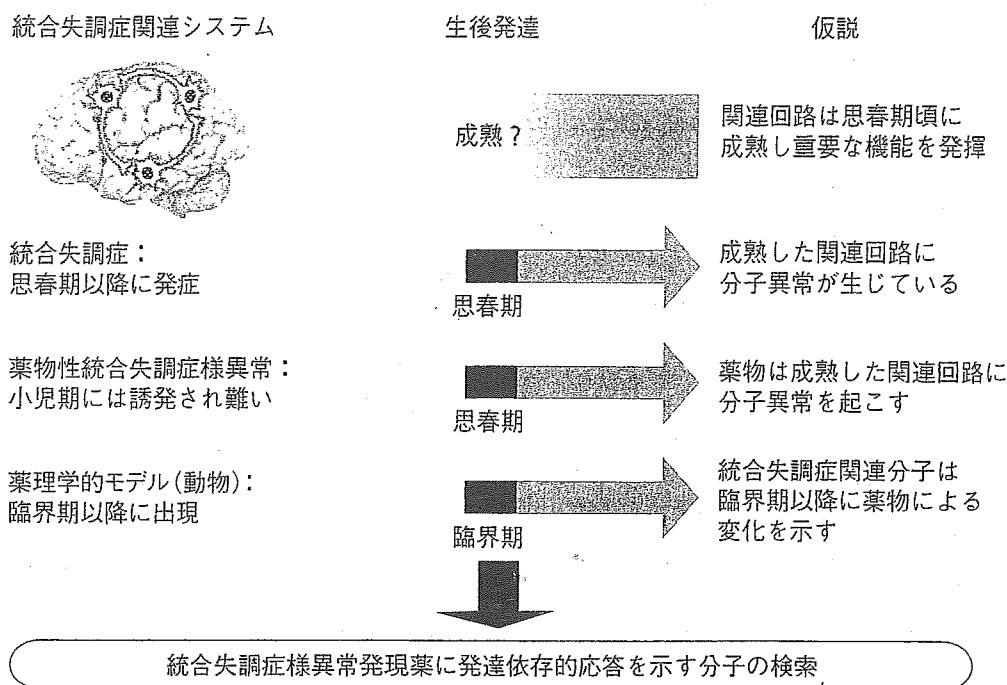


図3 生後発達と統合失調症および薬物性統合失調様異常の発症（仮説）

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、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学的・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 *dsr-1* および *dsr-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 (島

- 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: 逆耐性現象に關与する新規遺伝子 *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.

標準治療と最新治療—メリット・デメリット
統合失調症

古田 光 東京医科歯科大学
大学院精神行動医科学分野
西川 徹 同 教授

CLINICAL NEUROSCIENCE 別冊

Vol. 23 No. 1 2005年1月1日発行

中外医学社

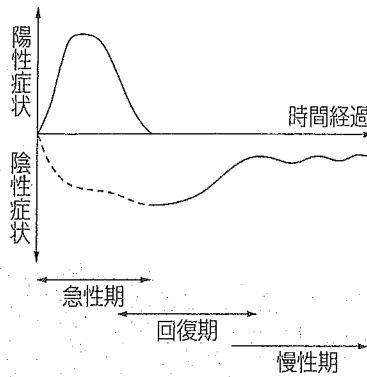
療と最新治療—メリット・デメリット

、人生の早期(主に15~35歳)に高率(約0.8%)で発症(精神薬)に抵抗する症状のために慢性化しやすく、回復を阻む重大な精神障害である。広汎な精神機能、主症状は幻覚・妄想・思路障害・興奮・感覚過剰と、感情鈍麻・意欲低下・無為自閉などの陰性症状。神経変性疾患のような粗大な形態学的病変を伴わない。本症は脳の機能異常に基づくと考えられている。病変間のドーパミンの過剰(特にD2受容体が関与)が。また、グルタミン酸、セロトニン、GABA(γ-acid)、アセチルコリン、各種神経ペプチド等の神経考えられているが、今なお特定されていない。幻覚症状が治療により軽減しても、陰性症状の持続が患力を低下させることが多い。また病識の持ちにくい、内服コンプライアンスの不良から再発・再燃する性症状が活発な時期を急性期と呼び、陽性症状が軽持続する時期を慢性期と呼ぶ。

より異なるが、いずれも抗精神病薬による薬物療法電気けいれん療法が急性期や難治例に併用されるこの治療以外にも、精神療法、作業療法、心理社会的り、近年、これらの領域でさまざまな新しい取り組み、患者のQOLの維持・改善に効果をあげている。薬物療法の歴史は、1952年にクロルプロマジンが本られたことに始まる。以後ハロペリドール(1958年)、多種類の抗精神病薬が開発された。抗精神病薬は、の陽性症状を改善し、この治療効果はD2型ドーパミン作用と関係することが明らかにされた。しかし、陰効果は不十分であった。また患者にとって不快な副作用(外路症状、不快な鎮静感、薬剤性の認知機能障害、服薬コンプライアンス低下がおこりやすく、維持とも多かった。このタイプの抗精神病薬が長らく薬あったが、1990年代より錐体外路症状が出現しにくく次々と開発された。これらの薬剤を従来の抗精神病薬「定型抗精神病薬」と総称する。従来型の薬剤は「定」と呼ばれる。非定型抗精神病薬は錐体外路症状が出く、陰性症状への効果も定型抗精神病薬より期待で、欧米では統合失調症の薬物療法は非定型抗精神病薬として用いられており、わが国でも主流になりつつある。非定型抗精神病薬による治療を標準治療として紹介し、薬について最新治療の項で紹介する。さらに、今後の薬剤についても言及する。

標準治療^{1~3)}

覚・妄想や精神運動興奮・昏迷などを認めることが、焦燥や睡眠障害も出現率が高い。そのため鎮静作用薬を主剤として選択し、ベンゾジアゼピン系の抗をしばしば併用する。自宅での安静が困難な場合は、め入院による休養が必要となる。入院治療に患者の場合、医療保護入院などの強制入院が行われる。も薬物療法は内服が基本である。幻覚・妄想状態にリドール2~6mg/日を、これに加えて不安焦燥が強プロマジン50~150mgを1日2~3回に分けて投



統合失調症の経過概念図

統合失調症の発症または再発時の一般的な症状変化を示す。急性期では、陽性症状が目立つ。同時に出現している陰性症状は、この時期には背景化しており(点線)、陽性症状が改善する頃から表面化するように見える(実線部分)。各時期の持続期間や本症全体の経過は多様である。

与する。投与開始時は少量からはじめ、数日単位で増量し十分量を用いるようにする。

入院治療が必要で興奮が強い、内服ができないなどの問題がある場合は、ハロペリドール5~30mg/日の静脈内投与、レボメプロマジン25mgの筋注などが用いられる。鎮静を目的としてフルニトラゼパム1~4mgの静注が用いられることもある。ベンゾジアゼピン系薬剤の静注は急激な鎮静が必要な場合非常に有効であるが、呼吸循環抑制に十分な注意が必要であり、心電図・動脈血酸素飽和度をモニターした上で、蘇生処置の準備を整えてから行うことが望ましい。

急性期には患者に対する安全の確保や、安心感を与えるアプローチが重要である。幻覚・妄想・興奮・昏迷などの改善に当たって、支持的な精神療法(個人・集団精神療法)や、作業療法、生活技能訓練などのリハビリテーションを導入する。

回復期・慢性期

薬物療法の継続とともに、心理・社会的な介入の重要性が増す。デイケア、作業所、授産施設などの社会的資源を活用したリハビリテーションを積極的に進める。可能であれば抗精神病薬の減量を試みる。ただし、薬物による維持療法が統合失調症の再発予防に有意な効果があることが確認されており、抗精神病薬を減量・中止できるかどうかはケースごとに慎重な判断が必要である。怠業から再発・再燃を繰り返すケースや患者本人の希望があるときは、持効性注射剤(ハロペリドール、フルフェナジンの2種の定型抗精神病薬の製剤がある)を用いることもある。

定型抗精神病薬の特徴

定型抗精神病薬は、1)鎮静作用が強力、2)抗幻覚妄想効果に優れる、3)経口以外の投与が可能(静注、筋注)、などの利点がある。しかし副作用として、ドーパミンD2受容体の遮断による錐体外路症状(特に悪性症候群は致命的となる可能性がある)、高プロラクチン血症などの出現率が高い。また抗コリン作用による口渇・便秘・霧視・排尿障害、抗アドレナリン作用による低血圧、その他心伝導障害も比較的高頻度である。さらに、抑うつ・認知機能障害なども副作用として生じることがある。

錐体外路症状に対し抗パーキンソン薬である抗コリン薬(ピペリデン、トリヘキシフェニジルなど)を併用せざるを得ないことも多く、その抗コリン作用により認知機能障害や口渇・眠気を生じることがある。慢性期の維持治療では急性期より少ない容量の薬剤を用いることが多いが、常に錐体外路症状のリスクがあり、中でも遅発性ジスキネジアは治療が難しい。

定型抗精神病薬

クロルプロマジン・ハロペリドールほか

1. 経静脈投与、筋肉注射できる注射剤が存在
2. 液剤、持続性注射薬がある
3. 非定型抗精神病薬の効かない症状に有効なことがある
4. 薬価が低い
1. 錐体外路症状をはじめ、高プロラクチン血症・便秘・口渇・低血圧などの副作用の出現率が高い
2. 薬剤性の認知機能障害をきたしやすい
3. 服薬コンプライアンスが低下しやすい

非定型抗精神病薬

リスペリドン・ペロスピロン・クエチアピン・オランザピン

1. 錐体外路症状が出現しにくい
2. 陰性症状の部分的改善効果が期待できる
3. 服薬コンプライアンスが良い
4. 定型抗精神病薬無効症例で有効なことがある
1. セロクエル・クエチアピンでは耐糖能異常の副作用があり、糖尿病患者には禁忌
2. 抗幻覚妄想効果・鎮静効果が不十分なことがある
3. 経口薬しかない
4. 薬価が比較的高い

最新治療¹⁻⁶⁾

精神病薬

精神病薬は、1996年からわが国に導入されはじめ、現在リスペリドン、ペロスピロン、クエチアピン、オランザピンの4剤である。いずれもD2型ドパミン受容体拮抗作用が直接的に強力な5-HT2型セロトニン受容体拮抗作用を有する（コトニンドパミン拮抗薬）と呼ばれることがある。クエチアピンは、その他にも各種の神経伝達物質受容体に親和性を持つMARTA (multi-acting-receptor-targeted antipsychotic) 受容体標的化抗精神病薬と名付けられた。

薬理学的特性は、錐体外路症状の原因となる黒質線条体系のドーパミン遮断を軽減するという意見がある^{2,5)}（とはいえ、ドパミン以上の症例でなんらかの錐体外路症状はみられ、高用量でドーパミンが増加する）。PETを用いた研究からは、D2受容体占有率の5%以上で抗精神病作用が得られ、約80%以上で錐体外路症状が出現し易くなると推定され、治療用量の非定型抗精神病薬よりこの占有率が低い点が、本副作用の軽減可能性が示唆されている。

副作用の共通した特徴は、定型抗精神病薬と比較し、陽性症状の改善だけでなく、感情鈍麻・意欲低下状態にもある程度の治療効果を示す点である。また、薬物毎に異なる多様な薬理作用を反映して、抗精神病薬の効果が認められる部分がある。

従来期の治療にも積極的に非定型抗精神病薬が用いられるようになった。リスペリドン内服液とベンゾジアゼピン系抗不安薬の併用が、急性期治療に効果を上げたという報告がある。興奮が強いときや幻覚・妄想が強い場合に治療開始初期にハロペリドールの静注など定型抗精神病薬を投与し、症状改善後の主剤の切り替えが不必要となる場合がある。慢性期の症例でも定型抗精神病薬から非定型抗精神病薬への切り替えで、陰性症状や薬剤性の認知機能障害の改善がみられる。その際には、再発・再燃や、認知機能の改善に合わせた自己の病的状態や現実への認識が向上することによる治療効果の向上が必要である。

今日では、統合失調症の薬物治療はできるだけ非定型抗精神病薬で行い、病状極期や急性の増悪時のみ定型抗精神病薬を投与することが多くなる傾向がある。ただし、クエチアピン・

オランザピンは、糖尿病あるいは耐糖能の低い患者では致死的な耐糖能異常をきたすことがあり、定型抗精神病薬には見られなかった重大な副作用として、投与開始前の慎重なスクリーニングが行われている。

■ 今後の治療薬

現在日本では利用できないが、海外で高い評価を受けているMARTAタイプの非定型抗精神病薬に分類される薬剤としては、クロザピンとジブラシドンがある²⁾。クロザピンは他の治療に反応しない難治例に効果があるが、顆粒球減少という重篤な副作用をきたすことがあり、適応が限られる²⁾。ジブラシドンは1998年よりヨーロッパで用いられており、体重増加の副作用が少ないことが特徴である²⁾。

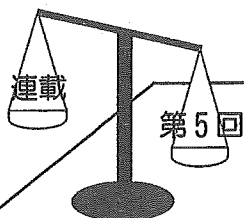
2002年末には、従来の抗精神病薬には見られなかった、D2型ドパミン受容体パーシャルアゴニストとしての作用をもつアリピプラゾールが米国で臨床使用が承認された⁶⁾。この薬剤はドパミン伝達の過剰な遮断をおこしにくいという特徴を持ち、陽性症状・陰性症状への効果を認めるうえ、錐体外路症状、高プロラクチン血症などの副作用をおこしにくい⁶⁾。

クロザピンやアリピプラゾールは、現在日本でも導入が検討されており、薬物療法の選択肢が拡大して、難治性症状や副作用の軽減が図られることが期待されている。

一方、近年の基礎的・臨床的研究から、統合失調症の陽性および陰性症状に、NMDA受容体を介するグルタミン酸伝達の低下が関与することが示唆されている⁶⁾。したがって、NMDA受容体機能を賦活する作用を持った物質が、既存の抗精神病薬に反応性・抵抗性双方の症状を改善することが期待されている⁶⁾。これまでに、グリシン、D-サイクロセリン、D-セリンなどの、NMDA受容体グリシン調節部位を刺激する本受容体機能促進薬を既存の抗精神病薬と併用投与することにより、難治性の陰性症状や認知障害の改善をみたという報告があり、今後の発展が注目される⁶⁾。

文 献

- 1) 融 道男. 向精神病薬マニュアル. 2版. 医学書院; 2001.
- 2) Stahl SM, 著 仙波純一, 訳. 精神薬理学エッセンシャルズ. 2版. メディカルサイエンスインターナショナル; 2002.
- 3) Kapur S, Mamo D. Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2003; 27: 1081-90.
- 4) 吉岡正哉, 石郷岡 純. 非定型抗精神病薬のみで対応しうるか. 特集「統合失調症の新しい治療戦略を考える」. 臨床精神薬理. 2004; 7: 1715-25.
- 5) 融 道男. アリピプラゾールの劇薬性—統合失調症治療における新しいドパミンD2受容体パーシャルアゴニスト. 精神医学. 2004; 46: 855-64.
- 6) 山本直樹, 西川 徹. 新たな抗精神病薬開発の未来. Schizophrenia Frontier. 2001; 2: 99-106.



モノアミン障害・アンフェタミンモデル

嶋津 奈* 西川 徹*

キーワード

統合失調症
ドパミン伝達
アンフェタミン
(ドパミン作動薬)
抗精神病薬
陽性症状

統合失調症のおもに幻覚・妄想などの陽性症状を改善する抗精神病薬が、その力価と比例した強力な D_2 型ドパミン受容体遮断作用をもつことや、ドパミン作動薬が本症と類似した幻覚・妄想状態を引き起こすことから、統合失調症の陽性症状には脳内ドパミン伝達の過剰が関与すると考えられている。この「ドパミン仮説」のモデルとして、アンフェタミンその他のドパミン作動薬を投与した動物やヒトが研究され、一般にアンフェタミンモデルとよばれる。陽性症状の病態モデルという限界はあるが、最近には脳画像や分子生物学的方法を導入した従来とは異なる視点からの研究が進み、統合失調症の分子機構解明への新たな貢献が期待されている。

❖はじめに

統合失調症は、認知・思考・感情・行動などの精神機能が広汎に冒される疾患である。これまでのところ、その生物学的診断は確立されておらず、原因の異なる複数の疾患から構成される可能性（異質性）があることから、分子機構の解明が難航している。その手がかりとして現在有力視されているのは、統合失調症の陽性症状がドパミン (dopamine: DA) 伝達を阻害する薬物によって改善され、DA 作動薬や NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型グルタミン酸受容体遮断薬が統合失調症と区別しがたい異常を引き起こす臨床薬理学的事実である¹⁾。統合失調症のモノアミン障害仮説とアンフェタミン (amphetamine: AMP) モデルは、このうち DA 伝達に関する薬理学的所見にもとづいて古くから検討され

てきたものである²⁾³⁾。1966年には van Rossum⁴⁾が DA 伝達過剰仮説を提唱し、そのモデルとして、AMP 類その他の DA 作動薬による精神病や動物の異常行動が研究されている（広義の AMP モデル）。本稿では、これらの仮説とモデルについて概説し、問題点と限界を考えるとともに、統合失調症の病態解明に向けた新たな視点を探る。

❖ 1. 脳内ドパミン伝達障害

統合失調症では、つぎのような所見にもとづいて、幻覚・妄想を中心とした陽性症状と脳内 DA 伝達の過剰との関連が推測されている²⁾⁴⁾：①抗精神病薬が統合失調症の陽性症状を改善する力価は、 D_2 型 DA 受容体 (D_2 受容体) 遮断作用の強さと正比例するが、この関係は D_1 型 DA 受容体 (D_1 受容体) や DA 以外の神経伝達物

質受容体への作用とのあいだには成立しない, ② AMP 類 [覚せい剤; AMP, メタンフェタミン (methamphetamine: MAP) など], コカイン, L-DOPA (L-dihydroxy phenylalanine) などの DA 伝達を亢進させる薬物は, 統合失調症と区別しがたい幻覚・妄想状態を引き起こす, ③ 一群の統合失調症患者では健常者にくらべ少量の DA 作動薬により精神症状が誘発される。

一方, 陰性症状については, 前頭葉を中心とした中脳皮質系 DA ニューロンの機能低下との関連を指摘する研究者も多いが, ① 選択的に DA 受容体を遮断するタイプの抗精神病薬により顕著な影響を受けない²⁾⁵⁾⁶⁾, ② DA 作動薬は本質的な改善をもたらすとはいえない⁶⁾, ③ 死後脳の分析では大脳皮質領域の DA または DA 代謝産物の減少が報告されていない⁷⁾など, 支持する根拠に乏しい。

※ 2. AMP モデル (表 1)

1) AMP 類の DA 伝達に対する作用

統合失調症様異常を発現させる種々の DA 作動薬は, DA 伝達を亢進させる機序が異なる。AMP 類 (AMP, MAP) およびメチルフェニデートは, DA, ノルアドレナリン (noradrenaline: NA), セロトニン (5-hydroxytryptamine: 5-HT) などのトランスポーターから取り込まれ (作用の強さは $NA \geq DA \gg 5-HT$), これらのモノアミンの放出を促進する⁸⁾。とくに DA 系への作用は詳細に解析され, DA 神経終末に取り込まれた AMP 類がシナプス小胞への DA の凝集を阻害し, その結果増加した小胞外細胞質内 DA がトランスポーターを介してシナプス間隙に逆輸送される可能性が考えられている⁹⁾。コカインはモノアミントランスポーターに結合して, NA, DA, 5-HT などの取り込みを阻害する⁸⁾。L-DOPA は, 神経終末での DA 合成を高める²⁾。

後述の AMP 類が誘発する統合失調症モデルの異常行動は, DA トランスポーターをノックアウトした場合のみ消失し, NA や 5-HT のトランスポーター欠失では変化しないことから, DA 伝達に最も密接に関係していることが確認されている¹⁰⁾。

表 1. AMP モデルと統合失調症の薬理的・行動学的特徴

薬理的・行動学的所見	DA 作動薬 (急性投与)	逆耐性	統合失調症
移所運動量増加	+	+	
常同行動	+	+	
抗精神病薬による改善	+	+	部分的
PPI 異常 ^a	+		+
(感覚運動情報制御障害)			
社会的行動障害 ^b		・NT	+
認知機能障害	+	NT	+
DA 作動薬感受性		亢進	亢進
NMDA 遮断薬感受性	^c	亢進	亢進
発達依存性	- ^d	+	+

a : PPI → p. 61 の脚注を参照

b : 陰性症状との関連が推測される

c : 常同行動のうち急速な首ふりは増強されるが, 移所運動量増加作用は変化しない

d : 異常行動は発達時期に依存せずに生ずるが, 質的な詳細は未検討

NT : 未検討

(西川 徹, 2003¹⁾より改変引用)

2) 急性投与モデル

DA 作動薬を急性投与した動物では, 移所運動量 (歩き回る運動) の増加, 常同行動 (急速な首振り, 噛み, 舐めなどの無目的で単純な動作をくり返す異常行動) などが認められ, これらの異常行動が, 抗精神病薬の D_2 受容体遮断作用の強さに正比例して抑制される²⁾。これは, 統合失調症様異常発現薬を投与した動物に, 統合失調症と同じ薬理的性質をもつ障害が出現することを示し, 本症のモデルと考えられるようになった。また, 統合失調症患者にみられる PPI (prepulse inhibition)^{*脚注} の異常が, AMP 類を急性投与した動物にも認められる¹⁾。

3) 逆耐性モデル

AMP 類などの DA 作動薬を単回または反復投与した動物では, これらの薬物に対する感受性が亢進して異常行動が生じやすくなり, 逆耐性現象あるいは行動感作 (behavioral sensitization) とよばれる¹¹⁾¹²⁾。逆耐性現象では, ① 一度成立すると薬物投与を中止しても長期にわたり感受性の亢進が持続する (長期持続性), ② 前処置した薬物ばかりでなく, 他の DA 作動薬やストレスに対しても感受性が高まる (交差逆耐性), などの特徴が認められる¹⁾¹¹⁾。

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

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は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¹⁾²⁾。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¹⁾²⁾。

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学的知見は、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、 Δ FosB、NAC1、Cdk5、 γ G β 1、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ことを期待される。

[* 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，島蘭安雄，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 [¹²³I] beta-CIT. *Biol Psychiatry* **47** : 371-379, 2000
- 27) Laakso A, Vilkkumä 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



Genetic variations in the *WFS1* gene in Japanese with type 2 diabetes and bipolar disorder

Takanori Kawamoto,^a Yukio Horikawa,^{b,c,*} Takeshi Tanaka,^a Noriko Kabe,^a
Jun Takeda,^{b,c,d} and Masahiko Mikuni^a

^a Department of Neuropsychiatry, Gunma University School of Medicine, Gunma, Japan

^b Laboratory of Molecular Genetics, Department of Cell Biology, Institute for Molecular and Cellular Regulation, Gunma University, Gunma 371-8512, Japan

^c Core Research for Evolutional Science and Technology (CREST), Japan Science and Technology Corporation (JST), Kawaguchi, Japan

^d Division of Bioregulatory Medicine, Department of Endocrinology, Diabetes and Rheumatology, Gifu University School of Medicine, Gifu, Japan

Received 12 February 2004; received in revised form 23 April 2004; accepted 27 April 2004

Available online 11 June 2004

Abstract

Diabetic and psychiatric symptoms often appear in patients with Wolfram syndrome, and obligate carriers of *WFS1* have increased prevalence of type 2 diabetes and are more likely to require hospitalization for psychiatric illness including bipolar disorder. To identify the polymorphisms in Japanese, we examined a region of ~50 kb covering the entire *WFS1* gene, and evaluated the patterns of linkage disequilibrium. We found a total of 42 variations including 8 novel coding single nucleotide polymorphisms (A6T, A134A, N159N, T170T, E237K, R383C, V412L, and V503G), 14 novel non-coding polymorphisms, and 2 linkage disequilibrium blocks. We also performed association studies in patients with type 2 diabetes mellitus and patients with bipolar disorder. The haplotype comprising R456 and H611 was most associated with type 2 diabetes ($p=0.013$) and the haplotype comprising g. -15503C/T and g. 16226G/A was most associated with bipolar disorder ($p=0.006$), but neither reached significant difference after multiple adjustment. These genetic variations and linkage disequilibrium patterns in *WFS1* in Japanese should be useful in further investigation of genetic diversities of *WFS1* and various related disorders.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Genetics; Mood disorder; Population study; Linkage disequilibrium; Single nucleotide polymorphism

Introduction

Wolfram syndrome, also known as DIDMOAD (diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy, and deafness [OMIM 222300]), was first described by Wolfram and Wagener [1]. While only juvenile onset diabetes mellitus and progressive optic nerve atrophy are required for the diagnosis, many patients also develop diabetes insipidus, sensorineuronal hearing loss, ataxia, peripheral neuropathy, urinary tract atonia, and psychiatric illnesses such as psychosis, severe depression, and dementia [2].

Wolfram syndrome has been shown to have links with D4S432–D4S431 at chromosome 4p16 [3,4]. We earlier reported two siblings with Wolfram syndrome who demonstrated mood symptoms [5], and proceeded with a multi-institutional coordinated effort to discover the genetic etiology of the disease. Recently, mutations in the gene *WFS1/wolframin* were identified in patients with Wolfram syndrome [6,7]. The gene, which encodes a novel protein containing the predicted transmembrane domains, is expressed ubiquitously, with high expression in pancreatic islets and specific neurons (hippocampus CA1, amygdaloid areas, olfactory tubercles, and superficial layers of the allocortex). The subcellular localization of this protein has been determined to be primarily in the endoplasmic reticulum [8], but its function is not established.

* Corresponding author. Fax: +81-27-220-8889.

E-mail address: yhorikaw@showa.gunma-u.ac.jp (Y. Horikawa).

The prevalence of this autosomal recessive syndrome was estimated as $\sim 1/770,000$ in the United Kingdom [9]. While Wolfram syndrome is rare, obligate carriers have increased prevalence of type 2 diabetes mellitus [9,10], and heterozygous carriers are reported to be 26-fold more likely to require hospitalization for psychiatric illness [11].

Bipolar disorder, also called manic-depression, is characterized by mood swings between states of depression and elation, and genetic predisposition is thought to be an important factor. A linkage study of a large Scottish family provided a maximum LOD score of 4.8 in the region D4S431–D4S403 [12]. Other groups have presented supportive linkage evidence with markers in this region [13,14]. The psychiatric phenotypes observed in carriers and patients with Wolfram syndrome and the location of *WFS1* in the region linked to bipolar disorder have suggested a role of the gene in the development of the disease.

Evidence of abnormal glucose metabolism in psychiatric patients has been accumulating since the early 20th century [15]. Some studies report an increased prevalence of diabetes in hospitalized manic-depressives [16–19]. Gavard et al. carried out an evaluation of 20 studies of the diabetic personality, and found an increased prevalence of depression. A relationship between psychiatric disorder and diabetes mellitus has been suggested by mutations in *WFS1* that affect both diabetic and psychiatric phenotypes. Indeed, we estimated the LOD score for susceptibility to type 2 diabetes in one of the Wolfram pedigrees (WS-1) [6] using additional family information, and found suggestive linkage (M. Mikuni et al. unpublished).

In this study, we examined all of the regions of *WFS1* in Japanese to detect single nucleotide polymorphisms (SNPs)¹ as genetic markers, and evaluated the pattern of linkage disequilibrium (LD) to provide information on population diversity in this gene. We also performed association studies in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus and patients with bipolar disorder.

Materials and methods

Subjects

One hundred and ninety two patients with type 2 diabetes mellitus (male/female, 114/78; age, 62.0 ± 11.2 years; age at diagnosis, 49.8 ± 11.0 years; postprandial glucose, 168.5 ± 69.0 mg/dl; hemoglobin (Hb) A_{1c}, $6.7 \pm 1.1\%$; body mass index (BMI), 23.9 ± 3.5 kg/m²)

and 192 controls (male/female, 74/118; age, 67.6 ± 5.8 ; HbA_{1c}, $4.9 \pm 0.3\%$; BMI, 22.9 ± 2.7 kg/m²) were examined. Patients were diagnosed with type 2 diabetes by medical records or by 75 g oral glucose tolerance test according to the criteria of the Japan Diabetes Society. Control subjects were recruited on the following criteria: 60 or more years of age, no past history of diagnosis of diabetes, HbA_{1c} less than 5.6%, and no diabetes in family members or second degree relatives. Eighteen patients with bipolar I disorders (male/female, 9/9; age, 46.7 ± 12.4) and 29 patients with bipolar II disorders (male/female, 16/13; age, 53.6 ± 12.3) were recruited from Gunma University Hospital and local hospitals in Gunma prefecture, met DSM-IV diagnostic criteria (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition) [20], and were assessed by trained clinicians on the basis of unstructured interviews supplemented by case-note reviews. Ninety-six Japanese random controls (male/female, 39/57; age, 68.8 ± 5.6) were examined for comparisons of genetic variations. The study was approved by the Ethics Committee of Gunma University, and included the written informed consent of each subject.

Detection of polymorphisms in *WFS1*

Genomic DNA was extracted from samples of whole blood using QIAamp DNA Blood Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instruction. Twelve of the random control samples (24 alleles) were used to detect single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *WFS1*. Primers for PCR experiments were designed by Primer3 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) on the basis of the genomic contig sequence (GenBank Accession No. NT_006051) of the *WFS1* region. The mixture for the PCR was 20 μ l in 10 ng template DNA, 0.5 mM each dNTP, 2.5 pmol each forward and reverse primer, 0.5U ExTaq polymerase (Takara, Kyoto, Japan), and 2 μ l of 10 \times PCR buffer. The reaction conditions were an initial denaturation step of 95 °C for 3 min, subsequent 40 cycle reactions at 94 °C for 30 s, 52–62 °C for 30 s, and 72 °C for 1 min, and a final extension step of 72 °C for 10 min. A 3 μ l aliquot from each reaction was assayed on a 1% agarose gel to confirm the product, and the remainder was purified using MultiScreen Filtration System (MILLIPORE, Billerica, MA, USA) with Sephadex G-75 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA). Each PCR product was subjected to cycle sequencing with BigDye terminator Cycle Sequencing FS (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) using each forward and reverse primer. Reaction products were purified by ethanol precipitation, and sequenced by ABI PRISM 377 sequencer. Results were processed with Autoassembler, version 2.1 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA) to compare sequences.

¹ Abbreviations used: bp, base pair; SNPs, single nucleotide polymorphisms; LD, linkage disequilibrium; PCR, polymerase chain reaction; cSNPs, coding single nucleotide polymorphisms.