

200500824A

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

統合失調症の生物学的マーカーの開発に関する研究

差し替え分

平成 17 年度 総括研究報告書

主任研究者 伊豫 雅臣

平成 18 (2006) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 統合失調症の生物学的マーカーの開発に関する研究 1
主任研究者 伊豫雅臣 千葉大学大学院医学研究院精神医学教授

II. 分担研究報告

1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比..... 9
分担研究者 橋本謙二 千葉大学社会精神保健教育研究センター教授
2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定..... 13
分担研究者 橋本謙二 千葉大学社会精神保健教育研究センター教授
3. ミッドカインノックアウトマウスの統合失調症としての検討..... 20
分担研究者 清水栄司 千葉大学大学院医学研究院神経情報統合生理学教授
4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究--- 35
分担研究者 清水栄司 千葉大学大学院医学研究院神経情報統合生理学教授

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 43

研究成果刊行物・印刷物

平成 17 年度 総括研究報告書

主任研究者 伊豫 雅臣

統合失調症の生物学的マーカーの開発に関する研究 (H17-こころ-008)

主任研究者 伊豫雅臣 千葉大学大学院医学研究院精神医学教授

研究要旨

統合失調症の、脳内グルタミン酸神経伝達機能低下仮説や神経発達障害仮説、および認知機能障害という視点から、1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比に関する研究、2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定、3. ミッドカインノックアウトマウスの統合失調症としての検討、4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究、を行うことにより統合失調症の生物学的マーカー開発を行った。その結果、血清中および脳脊髄液中 D 型セリン濃度/総セリン濃度比、および脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は統合失調症の病態生理に関与した生物学的マーカーである可能性があること、血清中ミッドカイン濃度の低下は統合失調症の病態生理に関係している可能性のあること、MRS と認知機能検査を組み合わせることにより、統合失調症に特徴的な変化を見出せる可能性のあることが示唆された。

分担研究者

千葉大学社会精神保健教育研究センター教授 橋本謙二

千葉大学大学院医学研究院教授 清水栄司

国立精神・神経センター神経研究所部長 功刀浩

理化学研究所脳科学研究所チームリーダー 吉川武男

帝京大学医学部附属市原病院教授 稲田俊也

的はこれらに基づいて統合失調症の生物学的マーカーを開発することである。

我々は既に統合失調症の血清中 D 型セリン濃度/総セリン濃度の有意な低下を見出している。これはグルタミン酸神経伝達機能低下仮説を支持するものである。しかしながら、この変化を病態生理に基づいた生物学的マーカーとして確立していくには、脳内においても同様の変化が生じていることが重要である。

また、グルタミン酸神経伝達機能低下仮説においてグルタミン酸そのものの変化を見出すことも重要であり、グルタミン酸濃度に関連した知見は統合失調症の病態仮説に基づいた生物学的マーカーとしての可能性が高いものと思われる。既に統合失調症の

A. 研究目的

統合失調症の病態生理として、脳内グルタミン酸神経伝達機能低下仮説や神経発達障害仮説があり、また近年中心的な症状と考えられるようになった認知機能障害がある。本研究の目

脳脊髄液中グルタミン酸濃度が低下していることが報告されている。しかし、これに関しては必ずしも一致した見解が得られておらず、さらなる検討を要する。

ところでミッドカインは胎生中期から出生直後に一過性に増加する成長因子であり、海馬の発達に参与している可能性がノックアウトマウスの研究により示されている。また、我々は未治療統合失調症において血清中ミッドカイン濃度が減少しており、このミッドカインは生物学的マーカーの候補の可能性がある。しかしながら、ミッドカインが神経発達や行動にどのような変化をもたらすか明らかではなく、統合失調症の病態生理との関係も不明である。

さらに近年統合失調症における認知機能障害が注目されている。また画像診断法により統合失調症における様々な脳の変化が見出されている。我々はげっ歯類を用いた研究により NMDA 受容体アンタゴニストである phencyclidine や MK801 により後部帯状回に一過性の神経障害が生じることを見出している。しかしながら統合失調症における後部帯状回の変化についての報告はない。

以上より本研究では 1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比に関する研究、

2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定、
3. ミッドカインノックアウトマウスの統合失調症としての検討、4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究を行うことにより統合失調症の生物学的マーカー開発を行った。さらに我々は健常者および統合失調症患者の DNA や血清中蛋白の収集を行っているが、それらのサンプルは今後の研究にて解析を進める予定である。

B. 研究方法

1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比に関する研究：千葉大学大学院医学研究院、千葉大学社会精神保健教育研究センター、カロリンスカ研究所との共同研究によりサンプルを収集した。カラムスイッチング液体クロマトグラフィーにて、25 名の初発で未治療の男性統合失調症患者と 17 名の年齢を一致させた男性健常者における脳脊髄液中 D 型および L 型セリン濃度を測定し、それらを比較した。
2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定：千葉大学大学院医学研究院、千葉大学社会精神保健教育研

究センター、カロリンスカ研究所との共同研究によりサンプルを収集した。25名の未治療初発統合失調症男性患者および17名の年齢を合わせた男性健常者の脳脊髄液中のグルタミンおよびグルタミン酸濃度を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

3. ミッドカインノックアウトマウスの統合失調症としての検討：成体 Mdk(-/-)および Mdk(+/-)マウスを用い、脳内ドパミン神経機能（線条体におけるドパミン濃度、ドパミン関連受容体）および脳内グルタミン酸神経機能（グルタミン酸神経系伝達物質濃度、NMDA受容体）、メタンフェタミンおよびMK801投与による移所運動量、および音驚愕反応のプレパルス抑制テストを調べた。
4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究：千葉大学大学院医学研究院、千葉大学附属病院と千葉大学社会精神保健教育研究センターとの共同研究にて行った。19名の統合失調症患者と23名の年齢と性別を合わせた健常者を対象に、プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー（MRS）により後部帯状回と両側海馬のスペクトルを測定するとともに、種々の

認知機能検査を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は千葉大学大学院医学研究院倫理委員会にて承認を得、実験前に説明同意を得た。

C. 研究結果

1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比に関する研究：統合失調症患者における D 型セリン濃度の総セリン濃度に対する割合は 6.01%であり、健常者の 7.41%に比べ、有意に低下していた。
2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定：統合失調症患者の脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は健常者に比べて有意に高かった。しかし、それぞれの濃度は両群に差は認められなかった。
3. ミッドカインノックアウト：成体 Mdk(-/-)マウスは、ドパミン機能低下（線条体におけるドパミン濃度の減少と受容体の減少、および覚醒剤メタンフェタミン投与による移所運動量の増加の減少）を示す一方で、グルタミン酸系、特に NMDA 系に関しては正常であった。さら

に、このマウスは、音驚愕反応のプレパルス抑制テストの障害を示し、この障害は、抗精神病薬投与によって改善した。さらに、このマウスは、社会相互作用の減少を認め、この減少は、クロザピンによって改善した。これらの所見は、ミッドカインの欠損が、ドパミン機能低下を引き起こし、さらに、統合失調症のような神経精神障害に特徴的な行動変化を生じたことを示していた。

4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究：統合失調症患者では健常者に比べ有意な認知機能の低下がみられた。後部帯状回における N-acetylaspartate の creatine-containing compounds に対する比 (NAA/Cr) は統合失調症患者において健常者に比べて有意に低下していた。また全被験者の NAA/Cr は言語記憶スコアと有意な正の相関が見られ、また、患者群でも有意な正の相関が見られた。さらにこの比は全被験者の年齢と有意な負の相関があったが、患者群との間では有意な相関はみられなかった。

D. 考察

1. 未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比に関する研究：本研究より初発で未治療の統合失調症患者では脳内の D 型セリンの合成代謝過程に異常があることが示唆され、このことは統合失調症の NMDA 受容体機能低下仮説を支持するものである。また、D 型セリン濃度/総セリン濃度比は統合失調症の病態生理に関与した生物学的マーカーである可能性を示唆する。
2. 未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定：本研究の結果は、統合失調症では脳内のグルタミン-グルタミン酸サイクルに機能障害が生じていて、それが統合失調症の病態生理に関与していることが示唆された。また、脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は統合失調症の生物学的マーカーとしての可能性が示唆された。
3. ミッドカインノックアウトマウスの統合失調症としての検討：本研究の結果は、ミッドカインの欠損が、ドパミン機能低下を引き起こし、さらに、統合

失調症のような神経精神障害に特徴的な行動変化を生じたことを示していた。我々は、ミッドカインの欠損が、ドパミン系の機能不全を介して、感覚運動ゲート機構の障害に寄与していることを示した。本研究から、Mdk(-/-)マウスは、統合失調症の神経発達仮説の動物モデルとなりうる可能性が示唆された。また、我々は未治療の統合失調症において血清中ミッドカイン濃度の低下を見出したが、この低下は統合失調症の病態生理にも関与している可能性が示唆される。

4. 統合失調症における後部帯状回の代謝変化と認知機能障害に関する MRS 研究：本研究の結果から、健常者では後部帯状回における神経細胞は加齢に伴い減少し、認知機能もその減少に平行していることが示唆された。一方、統合失調症患者における認知機能には海馬よりも後部帯状回の病理が重要な役割をおっていることが示唆された。また、MRS と認知機能検査を組み合わせることにより、統合失調症に特徴的な変化を見出せる可能性が示唆された。

E. 結語

本研究により、血清中および脳脊髄液中D型セリン濃度/総セリン濃度比、および脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は統合失調症の病態生理に関与した生物学的マーカーである可能性があること、血清中ミッドカイン濃度の低下は統合失調症の病態生理に関係している可能性のあること、MRS と認知機能検査を組み合わせることにより、統合失調症に特徴的な変化を見出せる可能性のあることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hashimoto, K., Engberg, G., Shimizu, E., Nordin, C., Lindstrom, L.H. and Iyo, M. Elevated glutamine/glutamate ratio in cerebrospinal fluid of first episode and drug naive schizophrenic patients. *BMC Psychiatry* 5: 6, 2005.
2. Salama, R.H., Muramatsu, H., Shimizu, E., Hashimoto, K., Ohgake, S., Watanabe, H., Komatsu, N., Okamura, N., Koike, K., Shinoda, N., Okada, S., Iyo, M. and Muramatsu, T. Increased midkine levels in sera from patients with Alzheimer's disease. *Prog. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry* 29: 611-616, 2005.
3. Hashimoto, K., Shimizu, E. and Iyo, M. Dysfunction of glia-neuron communication in pathophysiology of

- schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rev.* 1: 151-163, 2005.
4. *Yamada, K., *Ohnishi, T., *Hashimoto, K., Ohba, H., Iwayama-Shigeno, Y., Takao, H., Toyota, T., Minabe, Y., Nakamura, K., Shimizu, E., Itokawa, M., Mori, N., Iyo, M. and Yoshikawa, T. Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol. Psychiatry* 57: 1493-1503, 2005. (*equal contribution)
 5. Hashimoto, K., Engberg, G., Shimizu, E., Nordin, C., Lindstrom, L.H. and Iyo, M. Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients. *Prog. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry* 29: 767-769, 2005.
 6. Iwayama, Y., Hashimoto, K., Nakajima, M., Toyota, T., Yamada, K., Shimizu, E., Itokawa, M., Hoshika, A., Iyo, M. and Yoshikawa, T. Analysis of correlation between serum D-serine levels and functional promoter polymorphisms of GRIN2A and GRIN2B genes. *Neurosci. Lett.* 394: 101-104, 2006.
 7. Shimizu, E., Hashimoto, K., Ochi, S., Fukami, G., Fujisaki, M., Okamura, N., Koike, K., Watanabe, H., Nakazato, M., Shinoda, N., Komatsu, N., Morita, F. and Iyo, M. Posterior cingulate metabolite changes may reflect cognitive deficits in schizophrenia, more than the left and right medial temporal lobes: a proton magnetic resonance spectroscopy investigation. *J. Psychiatry Res.* in press, 2006.
2. 学会発表
 1. Hashimoto, K., Hikida, T., Sawa, A. and Iyo, M. (2005) Levels of D-serine, L-serine, glutamate, glutamine, and glycine in postmortem brain of schizophrenia, bipolar disorder and major depression. The 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 12-16, 2005.
 2. Ohgake, S., Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., Koike, K., Koizumi, H., Muramatsu, H., Muramatsu, T. and Iyo, M. (2005) Abnormal sensory motor gating and social interaction in midkine-deficient mice and the effects of antipsychotic treatment. The 35th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 12-16, 2005.
 3. 橋本謙二、山田和男、大西哲生、大羽尚子、茂野佳美、鷹尾 瞳、豊田倫子、三辺義雄、中村和彦、清水栄司、糸川昌成、森 則夫、吉川武男、伊豫雅：統合失調症患者におけるセリンラセマーゼ遺伝子の解析。第35回日本神経精神薬理学会・第27回日本生物学的精神医学会合同年会、2005。
 4. 大掛真太郎、清水栄司、橋本謙二、岡村斉恵、小池 香、小泉裕紀、松澤大輔、橋本 佐、張 琳、伊豫雅臣：ミッドカイン遺伝子多型

と統合失調症との関連研究. 第35回日本神経精神薬理学会・第27回日本生物学的精神医学会合同年会、2005.

5. 清水栄司、Ragaa salama H. M., 村松寿子、橋本謙二、大掛真太郎、渡邊博幸、小松尚也、岡村齊恵、小池 香、篠田直之、岡田真一、伊豫雅臣、村松 喬：アルツハイマー病患者における血清ミッドカインの上昇. 第35回日本神経精神薬理学会・第27回日本生物学的精神医学会合同年会、2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

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

平成17年度 分担研究報告書

未治療統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型セリン/総セリン濃度比

分担研究者 橋本謙二 千葉大学社会精神保健教育研究センター教授

研究要旨

NMDA 受容体グリシンサイトの内因性アゴニストである D 型セリンは統合失調症の病態生理に関与していることが示唆されている。本研究の目的は初発の未治療統合失調症患者で脳脊髄液中の D 型セリンと L 型セリン濃度、または D 型セリン濃度の割合が変化しているかどうかを調べるものである。カラムスイッチング液体クロマトグラフィーにて、25 名の初発で未治療の男性統合失調症患者と 17 名の年齢を一致させた男性健常者における脳脊髄液中 D 型および L 型セリン濃度を測定し、それらを比較した。統合失調症患者における D 型セリン濃度の総セリン濃度に対する割合は 6.01%であり、健常者の 7.41%に比べ、有意に低下していた。このことから、初発で未治療の統合失調症患者では脳内の D 型セリンの合成代謝過程に異常があることが示唆され、このことは統合失調症の NMDA 受容体機能低下仮説を支持するものである。また、D 型セリン濃度/総セリン濃度比は統合失調症の病態生理に関与した生物学的マーカーである可能性を示唆する。

A. 研究目的

我々は統合失調症の病態生理に基づいた生物学的マーカー開発を行っているが、既に血清中 D 型セリン濃度/総セリン濃度比が統合失調症では健常者に比べて有意に低下していることを見出している。この変化が脳内においても変化しているか否かを調べることは統合失調症の病態生理に関係した生物学的マーカー開発においては重要である。

さて、グルタミン酸受容体のサブタイプである NMDA 受容体を介するグルタミン酸神経伝達の機能障害が統合失調症の病態生理に関与していることが示唆されている (Javitt and Zukin 1991; Olney and Farber 1995; Tamminga 1998; Goff and Coyle 2001; Hashimoto et al 2004; 2005)。動物実験では脳内の遊離 D 型セリンは L 型セリンの約三分の一であり、D 型セリンの細胞外濃度は一般的な L 型アミノ酸の濃度よりも高い (Hashimoto and Oka 1997)。D 型セリンは、霊長類の脳で L 型セリンから D 型セリンに変

換する新規の酵素である、グリアのセリンラセマーゼによって合成されることも知られている (Snyder and Ferris 2000)。内因性 D 型セリンはグルタミン酸受容体の NMDA 型にコ・アゴニストとして作用することが生化学および電気生理学的研究により示唆されている (Snyder and Ferris 2000)。さらに D 型セリン投与は定型型抗精神病薬を服用している統合失調症患者において認知機能および陰性症状を改善する可能性がある (Goff and Coyle 2001)。

我々は統合失調症患者では総セリン濃度と比べ D 型セリンの血清中濃度が低いことを報告したが、このことはセリンラセマーゼ活性が統合失調症患者では低下していることを示唆している (Hashimoto et al., 2003)。L 型および D 型セリンは血液脳関門を通過することが知られているが、脳脊髄液中の L 型および D 型セリン濃度の変化を確かめる必要がある。そこで本研究では、初発で未治療の統合失調症患者における脳脊髄液中の L 型および

D 型セリン濃度が年齢を一致させた健常者と異なるかどうかを調べた。

B. 研究方法

25 人の男性統合失調症患者（年齢：平均 26.1 歳、18 から 39 歳）と 17 人の年齢を一致させた精神障害のない男性健常者（平均 27.3 歳、22 歳から 44 歳）を対象とした。統合失調症の診断は DSM-II-R（American Psychiatric Association, 1987）に基づき、初発で抗精神病薬の服用歴のない患者を対象とした。脳脊髄液は午前 8 時から 9 時の間に脊髄穿刺（L4-L5）により採取し、即座に -80°C にて冷凍した。総セリン濃度および L 型、D 型セリン濃度はカラムスイッチング高速液体クロマトグラフィーにより測定した。

群間比較は Mann-Whitney U-test で行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

（倫理面への配慮）

本研究は倫理委員会にて承認を得、実験前に説明同意を得た。

C. 研究結果

Table 1 に結果を示す。統合失調症患者の脳脊髄液中 L 型セリン濃度は $22.8 \pm 8.01 \mu\text{M}$ (mean \pm SD) であり、健常者の $18.2 \pm 4.78 \mu\text{M}$ (mean \pm SD) よりも高かったが、統計的に有意差はなかった。統合失調症患者の脳脊髄液中 D 型セリン濃度は $1.39 \pm 0.54 \mu\text{M}$ (mean \pm SD) であり、健常者の $1.39 \pm 0.29 \mu\text{M}$ (mean \pm SD) よりもわずかに低かった。一方、総セリン濃度に対する D 型セリン濃度の割合は統合失調症患者で $6.01 \pm 2.15 \%$ (mean \pm S.D.) であり、健常者 ($7.41 \pm 1.83 \%$ (mean \pm S.D.)) に比較して有意に低かった。

D. 考察

本研究の主な知見は初発で未治療の統合失調症患者の脳脊髄液中における D 型セリン濃度の総セリン濃度に対する割合は健常者に比べ有意に低く、これは我々の血清を用いた研

究結果に一致するものであったことである (Hashimoto et al, 2003)。また初発で未治療の統合失調症患者における脳脊髄液中 D 型および L 型セリン濃度の測定は本研究が初めてである。D 型セリンはセリンラセマーゼにより L 型セリンより変換されるが、この酵素は脳内のアストロサイトに豊富に存在する (Snyder and Ferris 2000)。それゆえ、総セリン濃度に対する D 型セリンの割合の著名な減少は統合失調症患者において脳内のセリンラセマーゼ活性が低下していることを反映していると思われる。しかしながら、統合失調症の病態に関する役割を明らかにするには、D 型セリンの合成代謝経路や、D 型セリンの放出取り込みなどに関するさらなる研究が必要であろう。

我々は脳脊髄液中の L 型セリン濃度のわずかな上昇を見出した。統合失調症における脳内総セリン濃度およびグリシン濃度が高いことがすでに報告されているが、これはセリンとグリシンの変換に係る hydroxymethyltransferase の異常を示唆するものである (Waziri et al 1982)。このように L 型セリンの上昇はグリシン濃度の上昇によりグリシンからセリンへの合成が増えていることによるのかもしれない。それゆえ、L 型セリンの合成代謝過程に統合失調症では異常があるのかもしれないが、現在のところ L 型セリン濃度が上昇している機序は不明である。

本研究では未治療統合失調症患者での脳脊髄液中 D 型セリン濃度の絶対的変化を見出すことはできなかったが、D 型セリン濃度のわずかな低下を見出した。これは脳脊髄液中のグルタミン酸などのアミノ酸濃度は脳局所のそれらの変化を反映するのに感受性があることを示唆している (Tsai et al, 1998; Hashimoto et al, 2005)。それゆえ、脳局所の実際のシナプス活性を脳脊髄液中の D 型セリン濃度が反映しているかどうかはあきらかではないが、統合失調症の脳では D 型セリンの合成代謝の

異常があることはわかるであろう。さらにこの研究では被験者数が少ないことにも周囲すべきかもしれない。

E. 結語

本研究では初発の未治療統合失調症患者では脳内の総セリン濃度に対する D 型セリン濃度の比が低下しており、これは統合失調症の病態生理においてグリア-神経細胞相互作用における D 型セリンの合成代謝過程の異常が重要であることを示唆している。

引用論文

- American Psychiatric Association, 1987.
Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (3rd ed.). APA, Washington, DC.
- Goff D.C., Coyle J.T., 2001. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 158, 1367-1377.
- Hashimoto K., Fukushima T., Shimizu E., Komatsu N., Watanabe H., Shinoda N., Nakazato M., Kumakiri C., Okada S., Hasegawa H., Imai K., Iyo M., 2003. 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.

Hashimoto K., Okamura N., Shimizu E., Iyo M., 2004. Glutamate hypothesis of schizophrenia and approach for possible therapeutic drugs. *Curr. Med. Chem. - CNS Agents*, 4, 147-154.

Hashimoto K., Shimizu E., Iyo M., 2005. Dysfunction of glia-neuron communication in pathophysiology of schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rev.* 1, 151-163, 2005.

G. 研究発表

1. 論文発表

Hashimoto, K., Engberg, G., Shimizu, E., Nordin, C., Lindstrom, L.H. and Iyo, M. Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients. *Prog. Neuropharmacol. Biol. Psychiatry*, 29, 767-769, 2005.

2. 学会発表

1. 橋本謙二：統合失調症の病態におけるグリア細胞の関与。第32回日本脳科学会、2005.
2. 橋本謙二、山田和男、大西哲生、大羽尚子、茂野佳美、鷹尾 瞳、豊田倫子、三辺義雄、中村和彦、清水栄司、糸川昌成、森 則夫、吉川武男、伊豫雅：統合失調症患者におけるセリンラセマーゼ遺伝子の解析。第35回日本神経精神薬理学会・第27回日本生物学的精神医学会合同年会、2005.

Table 1. CSF levels of L- and D-serine and ratio (D-serine/total serine) in normal controls and drug naive schizophrenic patients.

	Controls (n=17)	Schizophrenia (n=25)	<i>p</i> value
L-Serine (μM)	18.6 (18.2 ± 4.78)	21.5 (22.8 ± 8.01)	0.069
D-Serine (μM)	1.43 (1.39 ± 0.29)	1.26 (1.39 ± 0.54)	0.778
Ratio [%: D/(D+L)]	7.64 (7.41 ± 1.83)	5.55 (6.01 ± 2.15)	0.044*

The values of L-serine, D-serine, and ratio were shown in the median (mean ± SD).

The comparison among two groups was performed using Mann-Whitney U-test.

未治療初発統合失調症脳脊髄液のグルタミン、グルタミン酸濃度の測定

分担研究者 橋本謙二 千葉大学社会精神保健教育研究センター教授

研究要旨

背景：近年の MRS 研究により統合失調症の脳ではグルタミン酸濃度が変化していることが示されている。また、統合失調症の脳脊髄液中グルタミン酸濃度に関しては意見が一致していない。この研究は未治療初発統合失調症患者の脳脊髄液中のグルタミン、グルタミン酸濃度に関する疑問を明確にすることを目的としたものである。

方法：25 名の未治療初発統合失調症男性患者および 17 名の年齢を合わせた男性健常者の脳脊髄液中のグルタミンおよびグルタミン酸濃度を高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

結果：統合失調症患者の脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は健常者に比べて有意に高かった。しかし、それぞれの濃度は両群に差は認められなかった。

結論：統合失調症では脳内のグルタミン - グルタミン酸サイクルに機能障害が生じていて、それが統合失調症の病態生理に関与していることが示唆された。また、脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸濃度比は統合失調症の生物学的マーカーとしての可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は統合失調症のグルタミン酸神経伝達機能低下仮説に基づき、統合失調症の生物学的マーカーの開発を行っている。

さて、統合失調症の病態生理にグルタミン神経伝達の機能障害が関与しているということが様々な研究から示唆されてきている (1-6)。アミノ酸であるグルタミン酸は窒素代謝の中心的な役割を果たした複数の生化学的経路に関与している。放出されたグルタミン酸はグリアに取り込まれ、そこでグルタミンに変換され、神経プレシナプスに移送され、グルタミン酸に再変換される (6-7)。このようにグ

ルタミン酸 - グルタミンサイクルはシナプスにおける神経細胞 - グリア連絡に関係し、統合失調症の病態整理にも重要な役割を果たしていると考えられる (1-6)。

In vivo プロトン MRS により未治療の統合失調症患者では健常者に比べ、内側前頭前野でのグルタミン濃度が上昇していることが見出されている (8)。さらに、最近の 0.4 テスラ MRS 研究により、健常者に比べて未治療の統合失調症患者では左前部帯状回と視床におけるグルタミン濃度が有意に上昇していると報告された (9)。一方、薬物療法中の慢性統合失調症では健常者に比べて、左前部帯状回でのグルタミン濃度の有意な低下が報告さ

れており、これは長期の薬物療法の影響と示唆される (10)。このように神経細胞・グリア間のグルタミン酸 - グルタミンサイクルは統合失調症のグルタミン酸仮説に関係していると思われる。

Kim ら (11) は統合失調症の脳脊髄液中のグルタミン酸濃度の低下を最初に報告したが、その後の研究結果は一致したものではなく、脳脊髄液中グルタミン酸濃度は変化していないとの報告もなされている (12-14)。さらに、脳脊髄液中のグルタミン酸とグルタミンの濃度差の欠損や、グルタミン酸やグルタミンの脳脊髄液中濃度と血清中濃度の有意な相関が報告されている (15)。さらに血液脳関門の膜上にあるナトリウム依存性中性アミノ酸トランスポーターが脳から中性アミノ酸を active に輩出することができることが報告されている (16)。これらは脳の細胞外液における中性アミノ酸濃度が血液中濃度の～10%に維持されていることを示唆している (15,16)。

この研究では初発の未治療統合失調症患者における脳脊髄液中グルタミン酸およびグルタミン濃度、またはそれらの比が年齢を合わせた健常者と異なっているか否かを調べた。

B. 研究方法

25 人の男性統合失調症患者 (年齢：平均 26.1 歳、18 から 39 歳) と 17 人の年齢を一致させた精神障害のない男性健常者 (平均 27.3 歳、22 歳から 44 歳) を対象とした。統合失調症の診断は DSM-II-R に基づき、初発で抗精神病薬の服用歴のない患者を対象とした。脳脊髄液は午前 8 時から 9 時の間に脊髄穿刺 (L4-L5) により採取し、即座に -80°C にて冷凍した。グルタミン酸とグルタミン濃度は高速液体クロマトグラフィーにより測定した (18)。

2 群間比較は Mann-Whitney U-test にて行い、2 変量間の関係は Spearman correlation coefficients にて解析した。P<0.5 を有意差ありとした。

(倫理面への配慮)

本研究は倫理委員会にて承認を得、実験前に説明同意を得た。

C. 研究結果

患者群における脳脊髄液グルタミン濃度もグルタミン酸濃度も健常者との間に有意な差はみとめなかった。しかしながら、グルタミン/グルタミン酸比は患者群で 117.7 ± 27.4 (mean \pm S.D.) であり、健常者群の 89.1 ± 22.5 (mean \pm S.D.) に比べて有意に高かった (p<0.001; Figure 1)。さらに健常者群ではグルタミンとグルタミン酸との間に有意な相関 (r=0.549, p<0.022) がみられるのに対して、患者群ではそのような相関がみられなかった。

D. 考察

この研究で我々は脳脊髄液中グルタミン/グルタミン酸比が健常者に比較して初発の未治療統合失調症患者では有意に高いことを見出した。その一方で、グルタミン、グルタミン酸それぞれは両群間に有意な差を認めなかった。我々の知る限り初発の未治療統合失調症患者でこのような比の有意な変化の報告は最初のものである。一方、脳脊髄液中グルタミン酸濃度は著名な変化のないことが報告されている(14)。したがって、我々が得た脳脊髄液中グルタミン酸(またはグルタミン)濃度に関する結果とMRS研究の結果の違いは、脳脊髄液サンプルであることと皮質辺縁領域におけるグルタミン酸濃度の違いに基づくものかも知れない。しかしながら、グルタミン酸/グルタミン比の変化を見出したことが特筆すべきことで、これは統合失調症における脳内のグリア-神経細胞のグルタミン酸-グルタミンサイクルの異常を示唆するものと思われる。

一般的にグルタミンはアストロサイトでグルタミン酸からグルタミン合成酵素により合成され、この酵素は脳のグリア細胞に選択的に存在する。グルタミンはその後アストロサイトから神経細胞の終末に移送され、そこで再び神経伝達物質であるグルタミン酸にグルタミナーゼにより変換さ

れる。グルタミナーゼとグルタミン酸デカルボキシラーゼ(GAD)の活性は統合失調症において背外側前頭前野(DLPFC)で健常者に比べて有意に高いと報告されている。この部位ではグルタミン酸デヒドロゲナーゼ、グルタミン合成酵素、そしてGABAトランスミナーゼの活性は統合失調症と健常者で違いはない(19)。これらの知見から、グルタミン酸とGABAの代謝が統合失調症のDLPFCで変化していることが示唆される。さらにグルタミン合成酵素とグルタミン酸デヒドロゲナーゼという鍵となる酵素は神経細胞-グリア間のグルタミン酸-グルタミンサイクルに関係しており、統合失調症患者の前頭前野では著明に変化している。このことから、統合失調症者の脳でのグルタミン酸-グルタミンサイクルの異常が示唆されている(20)。また、ヒトの神経細胞とグリア間のグルタミン酸-グルタミンサイクルはグルタミン酸神経伝達やグルタミン神経機能、そしてそれらの制御に密接に関与している(7)。これらをまとめると、脳内グルタミン酸-グルタミンサイクルの機能障害は統合失調症の病態生理に関与しており、統合失調症のグルタミン酸仮説を支持するものである。

緒言に記載したように、血液脳関門膜上に存在するナトリウム依存性ア

ミノ酸トランスポーターはグルタミンとグルタミン酸を細胞が胃液から内皮細胞にポンピングすることができる(20,21)。このキャリアーはグルタミンとグルタミン酸を血液中に移送する(16,20,21)。それゆえ、脳脊髄液中のアミノ酸濃度は血液の～10%である。これらを総合する脳脊髄液中のグルタミン酸とグルタミンの濃度を制御するトランスポート機序の変化が統合失調症における脳脊髄液中のグルタミン/グルタミン酸比を上昇させているのかもしれないが、更なる検討が必要である。

E. 結語

我々は神経細胞-グリア間のグルタミン酸-グルタミンサイクルの異常が統合失調症の病態生理に関与していることを示唆したが、これは統合失調症のグルタミン酸仮説を支持するものである。

引用論文

1. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1991; 148: 1301-1308.
2. Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*. 1995; 52: 998-1007.
3. Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 1367-1377.
4. Coyle JT, Schwarcz R. Mind glue: implications of glial cell biology for psychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57: 90-93.
5. Hashimoto K, Okamura N, Shimizu E, Iyo M. Glutamate hypothesis of schizophrenia and approach for possible therapeutic drugs. *Curr Med Chem CNS Agents* 2004; 4: 147-154.
6. Hashimoto K, Shimizu E, Iyo M. Dysfunction of glia-neuron communication in pathophysiology of schizophrenia. *Curr Psychiatry Rev* 2005; 1: in press.
7. Rothman DL, Behar KL, Hyder F, Shulman RG. In vivo NMR studies of the glutamate neurotransmitter flux and neuroenergetics: implications for brain function. *Annu Rev Physiol*. 2003; 65: 401-427.
8. Bartha R, Williamson PC, Drost DJ, Malla A, Carr TJ, Cortese L, Canaran G, Rylett RJ, Neufeld RW. Measurement of glutamate and glutamine in the medial prefrontal cortex of never-treated schizophrenic patients and healthy controls by proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 959-965.
9. Theberge J, Bartha R, Drost DJ, Menon

- RS, Malla A, Takhar J, Neufeld RW, Rogers J, Pavlosky W, Schaefer B, Densmore M, Al-Semaan Y, Williamson PC. Glutamate and glutamine measured with 4.0 T proton MRS in never-treated patients with schizophrenia and healthy volunteers. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 1944-1946.
10. Theberge J, Al-Semaan Y, Williamson PC, Menon RS, Neufeld RW, Rajakumar N, Schaefer B, Densmore M, Drost DJ. Glutamate and glutamine in the anterior cingulate and thalamus of medicated patients with chronic schizophrenia and healthy comparison subjects measured with 4.0-T proton MRS. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 2231-2233.
 11. Kim JS, Kornhuber HH, Schmid-Burgk W, Holzmuller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. *Neurosci Lett*. 1980; 20: 379-82.
 12. Perry TL. Normal cerebrospinal fluid and brain glutamate levels in schizophrenia do not support the hypothesis of glutamatergic neuronal dysfunction. *Neurosci Lett*. 1982; 28: 81-5.
 13. Do KQ, Lauer CJ, Schreiber W, Zollinger M, Gutteck-Amsler U, Cuenod M, Holsboer F. γ -Glutamylglutamine and taurine concentrations are decreased in the cerebrospinal fluid of drug-naive patients with schizophrenic disorders. *J Neurochem*. 1995; 65: 2652-62.
 14. Tsai G, van Kammen DP, Chen S, Kelley ME, Grier A, Coyle JT. Glutamatergic neurotransmission involves structural and clinical deficits of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 1998; 44: 667-74.
 15. Alfredsson G, Wiesel FA, Lindberg M. Glutamate and glutamine in cerebrospinal fluid and serum from healthy volunteers – analytical aspects. *J Chromatography*. 1988; 424: 378-384.
 16. O’Kane RL, Vina JR, Simpson I, Hawkins RA. Na⁺-dependent neutral amino acid transporters A, ASC, and N of the blood-brain barrier: mechanisms for neutral amino acid removal. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004; 287: E622-E629.
 17. Erhardt S, Blennow K, Nordin C, Skogh E, Lindstrom LH, Engberg G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2001; 313: 96-98.
 18. Aoyama C, Santa T, Tsunoda M, Fukushima T, Kitada C, Imai K. A fully automated amino acid analyzer using NBD-F as a fluorescent derivatization reagent. *Biomed Chromatography*. 2004; 18: 630-636.
 19. Gluck MR, Thomas RG, Davis KL, Haroutunian V. Implications for altered