

- glutamate and GABA metabolism in the dorsolateral prefrontal cortex of aged schizophrenic patients. *Am J Psychiatry*. 2002; 159: 1165-73.
20. Burbaeva GSh, Boksha IS, Turishcheva MS, Vorobyeva EA, Savushkina OK, Tereshkina EB. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003; 27: 675-680.
21. Lee WJ, Hawkins RA, Vina JR, Peterson DR. Glutamine transport by the blood-brain barrier: a possible mechanism for nitrogen removal. *Am J Physiol* 1998; 274: C1101-C1107.
22. O'Kane RL, Martinez-Lopez I, DeJoseph MR, Vina JR, Hawkins RA. Na⁺-dependent glutamate transporters (EAAT1, EAAT2, and EAAT3) of the blood-brain barrier. A mechanism for glutamate removal. *J Biol Chem* 1999; 274: 31891-31895.
- 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. 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. 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.
 - 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。

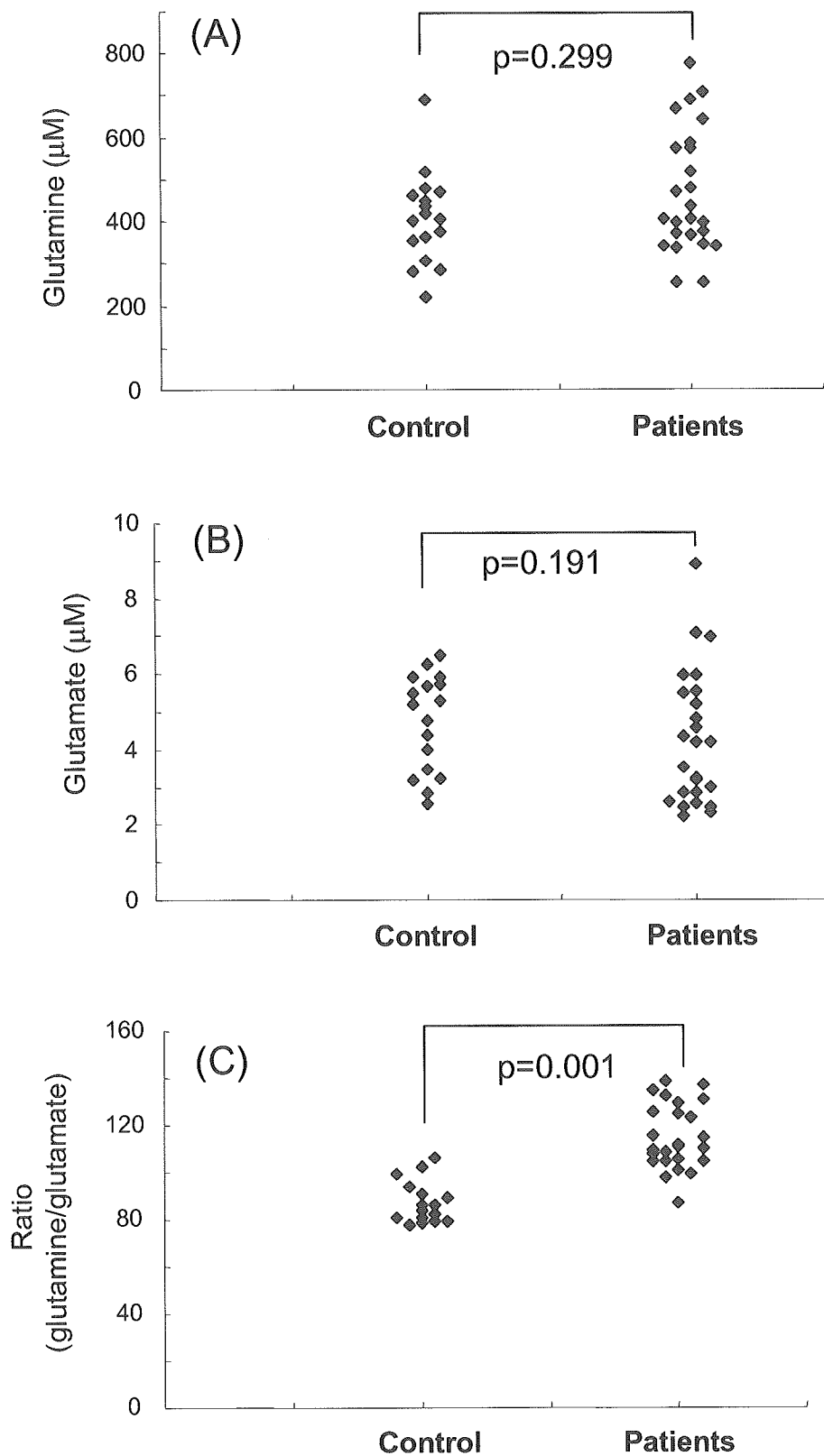


Figure 1. Levels of glutamine and glutamate, and ratio of glutamine to glutamate in CSF of normal controls, and first episode and drug naive schizophrenic patients. (A) CSF levels of glutamine in patients were not different from those of normal controls. (B) CSF levels of glutamate in patients were not different from those of normal controls. (C) Ratios of glutamine to glutamate in patients were significantly higher than those of normal controls.

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

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

研究要旨

ミッドカイン (Mdk) は、13キログルトンのレチノイン酸誘導性ヘパリン結合性成長因子であり、細胞移動、神経新生、組織修復などの多様な生物学的現象に関与している。我々は、以前に、ミッドカインノックアウト (Mdk(-/-)) マウスが、一過性に生後の海馬の発達遅延とそれに伴う、不安の増加と作業記憶の障害を示すことを報告した。今回、我々は、成体の Mdk(-/-)マウスに関して、神経化学的、行動学的異常を認めため、ここに報告する。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。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。

A. 研究目的

我々は血清中ミッドカインが未治療統合失調症において有意に低下していることを見出した。この物質が統合失調症の病態生理に基づいた生物学的マーカーとなりうるか否かについては、ミッドカインの神経伝達への関与や行動異常への関与について調べる必要がある。

さて、ミッドカインは、多機能性のレチノイン酸誘導性のヘパリン結合性成長因子であり、組織の発達や分化、生存に重要な役割を果たしている。さらに、ミッドカインは、神経栄養因子として、神経発生における移動、

神経新生、脳の損傷修復などの多様な作用が示され、また、アルツハイマー病脳や虚血脳で誘導されることが知られ、神経発達ばかりでなく、成体での脳の可塑性にも関与する可能性が示唆されている (reviewed in Muramatsu, 2002)。

我々は、以前に、ミッドカイン遺伝子を欠損したノックアウトマウス (Mdk(-/-)) を作製し、これらのマウスには、大きな肉眼的、解剖学的異常がないことを示した (Nakamura et al., 1998)。そこで、我々は、カルシウム結合タンパクをマーカーとして、さらに詳細な生後の脳の発達の解析を行ったところ、異常に遷延した calretinin の発現が、

4週齢のMdk(-/-)マウスの海馬に認められた。さらに、この幼若期のみにおいて、Mdk(-/-)マウスは、作業記憶の障害と不安の亢進を示した。

一方で、脳におけるドーパミン神経系は、運動の制御と認知の修飾に関与しており、臨床的には、それぞれ前者がパーキンソン病、後者が統合失調症、薬物依存、自閉症、注意欠陥多動性障害などの疾患との関係が示されている。以前の研究で(Kikuchi et al., 1993)、ミッドカインは、マウスの中脳ニューロンの培養細胞の生存を促進する作用を持つことが示され、ミッドカインがドーパミン系ニューロンに神経栄養因子作用を有することが示唆された。しかしながら、ミッドカイン欠損の神経病理とドーパミン系の発達の関連は、生体ではこれまで明らかにされてこなかった。神経発達の領域でのもうひとつの中心的な考えとして、神経可塑性があり、その重要因子として、グルタミン酸系に多くの研究が焦点をあててきた。我々の知る限り、ミッドカインとグルタミン酸系の関連に関する研究はこれまで、行われていない。

ミッドカインが、神経系の形成や精神機能に関与していることから、我々は、ミッドカイン・レベルの異常が神経精神障害と関与しているかどうかを検討した。そして、我々は、血清ミッドカインの異常を、アルツハイマー病では、異常増加 (Salama et al., 2005)、一方で、統合失調症では、異常減少 (Shimizu et al., 2003)となっていることを報告してきた。これらの結果は、異常なミッドカインのレベルが少なくともこれら二つの神経精神障害の病因に何らかの関与を果たしていることを示唆した。統合失調症の病因に関する分子メカニズムは、不明のままであるが、統合失調症患者の血清ミッドカインの減少は、統合失調症の病態生理のよりよい理解に貢献しており、この障害の神経病態を研究する新しい戦略を提供するであろう。

本研究では、我々は、ミッドカインがドーパミン系とグルタミン酸系の発達と維持に作用しているかどうかを明らかにするために、ミッドカイン欠損マウスにおけるドーパミン系とグルタミン酸系の神経化学的特徴を検討した。さらに、我々は、ミッドカイン欠損が統合失調症のような神経精神障害に関与する行動異常に関与しているかどうかを検討した。

B. 研究方法

動物

すべての実験は、千葉大学動物実験倫理委員会での審査承認後、そのガイドラインに沿って行われた。Mdk(-/-)マウスは、以前に作製されたものである(Nakamura et al., 1998)。ヘテロザイゴスのマウスは、C57BL/6の遺伝背景になるまで、11世代バッククロスが行われた。12時間後ごとの明暗サイクルで飼育され、摂食、飲水は自由に行われた。実験に使われたマウスは、2から4ヶ月の月齢だが、幼若期のプレパルス抑制テスト(以下PPIと略す)のためには、生後4週齢のものが使われた。Mdk(-/-)マウスは、野生型の同胞(Mdk(+/+))マウスと比較された。

薬物

Haloperidol (Dainippon Pharmaceutical Ltd, Osaka, Japan) と clozapine (Novartis Pharmaceuticals Corp., Basel, Switzerland) は、少量の酢酸に溶解後、生理食塩水に希釈された(最終酢酸濃度 0.1%)。Methamphetamine-HCl (3 mg/kg, Dainippon Pharmaceutical Ltd, Osaka, Japan) と (+)MK-801 (0.3 mg/kg, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) は、生理食塩水に溶解された。受容体結合実験のために、 $[^3\text{H}]$ SCH23390 が Amersham Biosciences Corp. (Piscataway, NJ) から購入され、 $[^3\text{H}]$ raclopride と $[^3\text{H}]$ WIN35,428 が PerkinElmer Life & Analytical Sciences, Inc. (Boston, MA) から入手された。SCH23390

と Nomifensine Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO)が購入された。 $[^3\text{H}]$ MK-801 は、American Radiolabeled Chemicals, Inc. (St. Louis, MO)から購入された。

高速液体クロマトグラフィー (High-performance liquid chromatography; HPLC)

マウスは、断頭後、線条体、海馬、前頭皮質が取り出された。重量測定後、マイナス80度に保存された。線条体のドパミン、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) および homovanillic acid (HVA) が以前の記載 (Koike et al., 2005)のように測定された。前頭皮質、海馬のアミノ酸レベルの中で、グルタミン酸、グルタミン、グリシンが以前の記載 (Hashimoto et al., 2005)のように測定された。D-セリンおよびL-セリンは、以前の記載 (Fukushima et al., 2004)のように測定された。

受容体結合実験

線条体ドパミン受容体は、以前の記載 (Ozawa et al., 2005)のように測定された。簡略には、ホモジェネイトは、室温で、90分間、0.5 nM $[^3\text{H}]$ SCH23390 (D1 受容体) あるいは 0.5 nM $[^3\text{H}]$ raclopride (D2 受容体)と反応させた。非特異的結合は、10 μM SCH23390 (D1 受容体) あるいは 10 μM haloperidol (D2 受容体)の存在下で、算定された。線条体ドパミン・トランスポーター (DAT) に関しては、Kokoshka ら (2000)の方法に従った。簡略には、ホモジェネイトは、4°C、2時間、0.5 nM $[^3\text{H}]$ WIN35,428 と反応させた。非特異的結合は、10 μM Nomifensine の存在下で、算定された。

前頭および海馬の N-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体の測定は、Foster ら (1992)の方法に従った。簡略には、ホモジェネイトは、室温で2時間3 nM $[^3\text{H}]$ MK-801 と反応させた。非特異的結合は、10 μM MK-801 の存在下で、算定された。

移所運動量の解析

移所運動量は、Scanet SV-10 (Melquest, Toyama, Japan)を用いて測定された。薬物投与前1時間と投与後2時間を10分間隔で記録された。Methamphetamine-HCl (3 mg/kg) とMK-801 (0.3 mg/kg) が10 ml/kgの容積で腹腔内投与された。

音驚愕反応とプレパルス抑制 (PPI) の測定
マウスは、音驚愕反応(ASR) について驚愕箱 (SR-LAB, San Diego Instruments, CA) を用いて Swerdlow and Geyer (1998)の方法に従って、行われた。箱の中での最初の10分間の順化期間の後、テストセッションが開始された。セッションは、6種類の試行タイプからなる。(1) パルスのみ (40-ms broadband burst)、パルスの100 ms 前に先行して、20-ms のプレパルスが (2) 4 dB, (3) 8 dB, (4) 12 dB, あるいは (5) 16 dB over the background level (65 dB) である、あるいは (6) background のみ (刺激なし)。PPI は、プレパルスによって驚愕反応が減少したパーセンテージで表される(%PPI)。PPI における抗精神病薬の効果の検討のために、haloperidol (0.1 or 0.2 mg/kg) と clozapine (1 or 3 mg/kg) が、それぞれテストの60分前、25分前に、腹腔内投与された。

オープンフィールドテストおよび新規物体テスト

オープンフィールドテストは、以前の記載 (Ozawa et al., 2005)のように行われた。オープンフィールドは、50×50×30 cm の大きさの亚克力製の箱であった。箱の床には、10 cm 四方の25個の正方形と中心の9個の正方形に入った回数とそこで過ごした時間が10分間ビデオに記録された。新規物体テストは、オープンフィールドテストの後、20分間の順化の後、同じ箱で行われた。箱には、中心に、直径9 cm の円が描かれており、その中心に、物丸くて青いカップ(4.5 cm in diameter at the closed end, 7.5 cm in diameter at the

open end, and 5 cm high)が新規物体として、置かれた。物体探索行動は、10 分間ビデオに記録され、マウスの体が直径 9 cm の円に入っている時にカウントされた。マウスが物体に接触するまでの時間と回数が測定された。

社会交互作用テスト

上と同じ箱で、一對のマウスが Shi ら (2003) の記載に多少の変更を加えて行われた。同じ性で、遺伝子型、薬物投与グループが、別々に飼育された 2 匹のマウスが、箱の中央に置かれて、お互いの接触が 10 分間ビデオで記録された (Sams-Dodd, 1995)。それぞれのマウスは、実験の前日、個別に 30 分間、順化された。抗精神病薬の社会交互作用に対する効果を調べるために、マウスは、haloperidol (0.2 mg/kg) あるいは clozapine (3 mg/kg) 10 日間、毎日 1 回、亜慢性に投与された (Becker and Grecksch, 2003)。最終投与の 24 時間後に、測定が行われた。

統計解析

SPSS 12.0J software (SPSS 12.0J, Tokyo, Japan)を用いて解析された。HPLC と受容体結合実験は、Mann-Whitney U テストが使われた。移所運動量は、被験者間因子として遺伝子型を被験者内因子として時間効果を用いて、two-way ANOVA が使われた。PPI は、被験者間因子として遺伝子型を被験者内因子としてプレパルス強度を用いて、two-way ANOVA が行われた。

C. 研究結果

ミッドカインロックアウト (Mdk(-/-)) マウスは、ドパミン濃度の低下、ドパミン受容体密度の低下、覚醒剤メタアンフェタミン投与によって移所運動量の亢進不全を示した。

ミッドカイン欠損によるドパミン系への影響を検討するために、我々は、以下の実験を行った。1) 線条体におけるドパミンとその二つの代謝物 DOPAC、HVA の HPLC による測定、2) 線条体ドパミン D1 および D2

受容体および DAT の結合実験、3) ドパミン間接作用薬、覚醒剤 methamphetamine によって誘発される移所運動量。線条体ドパミン、DOPAC、および、HVA は、Mdk(-/-) マウスにおいて、有意に減少していた ($p =$ dopamine, 0.004; DOPAC, 0.045; HVA, 0.041) (Fig. 1A)。 (DOPAC+HVA)/dopamine の比で示されるようなドパミンの代謝回転には、野生型との差はなかった。ドパミン D1 と D2 受容体密度は、Mdk(-/-) マウスにおいて、有意に低かった ($p =$ D1R, 0.004; D2R, 0.016)。 DAT レベルには、差はなかった (Fig. 1B)。覚醒剤 methamphetamine 投与については、Mdk(-/-) マウスは、野生型 Mdk(+/+) にたいして、有意に異なっており、(genotype×time interaction, $p = 0.025$)、移所運動量の減少を見た (Fig. 1C)。 *Post hoc* 解析では、Mdk(-/-) マウスは、methamphetamine の投与後、20 から 40 分の間で、有意に活動性が低かった ($p < 0.05$) (Fig. 1C)。methamphetamine 投与前は、両者に差はなかった (Fig. 1C)。

Mdk(-/-) マウスは、グルタミン酸系に関しては、神経化学的にも行動実験でも正常であった。

同様に、グルタミン酸系の検討を以下のように行った。1) 前頭と海馬における NMDA 受容体に関するアミノ酸濃度の HPLC による測定、2) 前頭と海馬における NMDA 受容体密度の結合実験、3) NMDA 受容体の選択的非競合的遮断薬 MK-801 によって誘発される移所運動量。アミノ酸レベル (Fig. 1D) および NMDA 受容体密度 (Fig. 1E) は、Mdk(-/-) と Mdk(+/+) の両者に差はなかった。MK-801 による移所運動量も両者に差はなかった (Fig. 1F)。

成体 Mdk(-/-) マウスは、プレパルス抑制 (PPI) の障害を示した。

ベースラインの PPI において、遺伝子型における有意な主効果 [$F(2, 103) = 5.4$; $p < 0.01$]

がみられ、プレパルス強度に関する交互作用はみられなかった[F (6, 309) = 1.2; n.s.]. *Post hoc* 比較は、Mdk(-/-)マウスのPPIが野生型 Mdk(+/+)に比べて、有意に障害されていることが示された (Fig. 2)。驚愕反応の遺伝子型での差はなかった [F (2, 103) = 1.6; n.s.] (Table 1A)。

幼若期の Mdk(-/-)マウスは、PPI の障害を示さなかった

Mdk(-/-)マウスの PPI の障害が成熟に依存したものであるかどうかを調べるために、4週齢の幼若マウスで行われたが、有意な主効果は見られず[F (2, 85) = 0.4; n.s.]、プレパルス強度における交互作用も見られなかった[F (6, 255) = 0.4; n.s.] (Fig. 3)。さらに、驚愕反応における有意な差は見られなかった[F (2, 85) = 0.8; n.s.] (Table 1B)。

抗精神病薬は、Mdk(-/-)マウスの PPI の障害を改善させる

PPI における定型および非定型の抗精神病薬の効果を調べるために、haloperidol (0.1 or 0.2 mg/kg, i.p.) あるいは clozapine (1 or 3 mg/kg, i.p.) が、Mdk(-/-)マウスと野生型 Mdk(+/+)に投与された。vehicle 投与の両群では、ベースラインのPPIの結果と同様に、PPI の障害が Mdk(-/-)マウスにて認められた($p < 0.01$) (Fig. 4)。しかし、Mdk(-/-)マウスにおけるPPIの減少は、haloperidol あるいは clozapine 投与後は、野生型と同様のレベルに改善した (Fig. 4)。音驚愕反応においても有意な薬物治療効果が認められた [F (4, 112) = 4.1, $p < 0.01$]。 *post hoc* テストでは、3 mg/kg clozapine の前投与は、vehicle と比べて、有意に音驚愕反応を抑制していた ($p < 0.01$) (Table 2)。

Mdk(-/-)マウスは、社会交互作用の減少を示し、その減少は、クロザピンによって改善した。

Mdk(-/-)マウスは、野生型 Mdk(+/+)に比べて、有意に、より少ない頻度の接触を示した($p <$

0.01) (Fig. 5A)。社汽笛交互作用の回数の減少は、クロザピンの10日間の亜慢性投与によって、改善した (Fig. 5C)が、haloperidol では改善しなかった (Fig. 5B)。

Mdk(-/-)マウスの探索行動は正常だった。

オープンフィールドテストでは、Mdk(-/-)マウスと野生型 Mdk(+/+)の両群に有意な差はなかった (Fig. 6A)。新規物体テストでも両群に差はなかった (Fig. 6B)。

D. 考察

Mdk(-/-)マウスにおける神経化学的表現型、ドパミン機能低下とグルタミン酸系正常神経化学解析は、Mdk(-/-)マウスにおけるドパミン濃度低下とドパミンD1およびD2受容体密度の低下、DAT密度の正常を明らかにした。一方で、NMDA受容体の内因性のアゴニストであるアミノ酸とNMDA受容体密度の変化がないことも明らかにした。さらに、Mdk(-/-)マウスにおけるMethamphetamine誘発性移所運動量亢進の減少に対して、MK-801誘発性運動量亢進の正常も明らかとなった。これらの結果は、ドパミン機能低下とグルタミン酸系正常を示唆していた。

ミッドカイン欠損は、潜在的だか、不可避のドパミン機能低下を引き起こす

ミッドカインは、培養細胞 (*in vitro*) で、ドパミン神経系に対して、神経栄養因子効果を持つ (Kikuchi et al., 1993) ことが示されていた。本研究は、ミッドカインの欠損が、生体で (*in vivo*) ドパミン系の機能低下を引き起こすことを示したはじめての報告である。ミッドカインの発達における潜在的な重要性にも関わらず (Muramatsu, 2002)、作製されたMdk(-/-)マウスは、肉眼的、顕微鏡的観察で、大きな異常を認めなかった。ミッドカインの欠如した状態での脳の発達の代償機構が存在するとしても、そのような代償機構は、正常なドパミン系の発達と維持には不十分であったことが明らかとなった。ミッドカイン欠損

は、大きな神経解剖学的な異常を示すことはないが、今回の研究で示されたような明らかなドパミン機能低下を引き起こすのである。

ミッドカイン欠損にみられたドパミン機能低下は、ミッドカインを誘導するレチノイド受容体のノックアウトマウスでも見られる

ミッドカインは、レチノイン酸とレチノイド受容体の複合体によって直接誘導される(Matsubara et al., 1994)。レチノイド受容体ノックアウトマウスでも、ドパミン D1、D2 受容体が減少し、間接的ドパミンアゴニストでの移所運動量亢進の減少が認められている(Krezel et al., 1998)。このようなドパミン機能の障害は、Mdk(-/-)マウスで今回認められたものと同様であり、ミッドカインがレチノイド受容体信号を介して、ドパミン系、とくにドパミン受容体、の発達を調節している可能性が示唆された。さらに、推測にすぎないが、Mdk(-/-)マウスの線条体ドパミンレベルは、先行するドパミン受容体の減少によって、発達段階で、後天的に適応して(Oppenheim, 1991)、減少しているのかもしれない。

Mdk(-/-)マウスは精神障害に関連した行動異常を呈するが、運動障害を示さない

Mdk(-/-)マウスは、methamphetamine あるいは MK-801 の投与前のベースラインの移所運動量は、正常であった。さらに、その脳においては、神経変性に関する大きな病理変化は見られなかった。また、中脳の tyrosine hydroxylase の免疫染色は、Mdk(-/-)マウスと野生型では、差を認めなかった(data not shown)。これらの所見は、Mdk(-/-)マウスに見られるドパミン機能低下は、パーキンソン病のような運動障害を起こさず、ドパミン神経細胞の脱落変性を起こさなかったことを示している。

成体の Mdk(-/-)マウスは、PPI 障害を示したが、幼若期の Mdk(-/-)マウスは、PPI 正常であったことから、Mdk(-/-)マウスは、成熟依存性の感覚運動ゲート機構の異常を示した

ことになる。PPI テストは、ヒトとげっ歯類とで類似の方法で感覚運動ゲート機構を検討できる数少ないパラダイムのひとつである(Braff et al., 2001; Geyer et al., 2002)。PPI の異常は、統合失調症(Braff et al., 1978)や自閉性障害(McAlonan et al., 2002)を含むいくつかの神経精神障害において観察される。それゆえ、PPI は、それらの神経精神障害の実験動物も出るを研究する時の有用な手段である。Mdk(-/-)マウスは、社会相互作用の低下を示した。社会相互作用の障害もまた、統合失調症や自閉性障害の重要な症状である(American Psychiatric Association, 1994)。環境やストレス因子が神経栄養作用および社会相互作用に影響を与えていることは知られているが(Laviola et al., 2004; Pietropaolo et al., 2004)、社会相互作用の障害のメカニズムは、まだ明らかにされていない。オープンフィールドテストや新規物体テストは、不安を評価するために一般的に用いられる(File, 1985; Weiss et al., 2000)が、Mdk(-/-)マウスは、これらのテストで異常を示さなかった。これは、成体の Mdk(-/-)マウスの不安は正常レベルであることを示しており、我々の以前の報告とも一致した結果である(Nakamura et al., 1998)。

PPI は統合失調症の中間表現型(endophenotype)をあらわしていると考えられている(Brody et al., 2004)。Mdk(-/-)マウスは、統合失調症の重要な特徴である、成熟依存性の感覚運動機構の障害を示している。それゆえ、Mdk(-/-)マウスは、統合失調症の動物モデルとなりうる行動学的特徴を備えているといえる。

ドパミン機能低下は PPI 障害を引き起こしうる

Mdk(-/-)マウスは、統合失調症に関連した感覚運動ゲート機構の異常を示したが、Mdk(-/-)マウスのドパミン機能低下は、統合失調症のドパミン過剰仮説とは矛盾する。しかし、げ

っ歯類におけるドパミン機能低下がPPIの障害と関連するという別の証拠がある。DBA/2マウスは、C57BL/6マウスと比べて、先天的な感覚運動ゲート機構の障害を示し、その障害は、haloperidol や clozapine のような抗精神病薬投与で改善する(McCaughran et al., 1997; Olivier et al., 2001)。DBA/2マウスは、一方でまた、C57BL/6マウスに比べて、ドパミンが低下していることを今回、我々は確認した(Supplemental Figure)。さらに、DBA/2マウスは、線条体のドパミン D1、D2 受容体密度が減少している(Ng et al., 1994)一方で、DAT レベルは正常であり(Womer et al., 1994)、amphetamine 投与での移所運動量亢進は C57BL/6 マウスと比べて、減少している(Ventura et al., 2004)。これらの DBA/2 系マウスにおける神経化学的な異常は、PPI の異常と関係している可能性がある(Ralph and Caine, 2005)。本研究で、我々は、Mdk(-/-)マウスが、DBA/2マウスと同じような特徴を有していることを示した。それゆえ、我々は、ドパミン機能低下、特にドパミン受容体の低下が、PPI 障害に関与していると考えている。脳内ミッドカインのレベルが DBA/2 マウスにおいて変化しているかどうかを検討するようなさらなる研究が将来、必要とされであろう。

Clozapine と haloperidol は、Mdk(-/-)マウスにおける PPI の障害を改善する

我々は、clozapine と haloperidol を Mdk(-/-)マウスにおける PPI 障害に対する効果の検討に用いた。その結果、Mdk(-/-)マウスにおける PPI 障害は、clozapine でも、haloperidol でもともに改善された。両薬剤ともにドパミン系薬剤による PPI 障害を改善することが知られていることから考えて、これらの結果は、統合失調症の臨床薬理学とも一致する。Mdk(-/-)マウスは、ドパミン系モデルの文脈で有用であるように思える。

Clozapine は、Mdk(-/-)マウスにおける社会交

互作用を改善する

海馬の一過性発達遅延を有する Mdk(-/-)マウスは、clozapine 投与によって社会相互作用の障害が改善したが、haloperidol 投与ではなかった。新生仔の腹側海馬をイボテン酸で傷害した実験動物モデルは、社会行動の異常を示す(Becker and Grecksch, 2003)ことが知られている。彼らは、clozapine の亜慢性投与が海馬障害モデルの社会行動を改善するが、haloperidol はしないと報告している。これらの所見から、幼若期の海馬の発達は、成体期の社会行動の獲得に効果を示すことを示唆している。社会的な引きこもりのような統合失調症の陰性症状に対する治療効果をその抗精神病薬が有するかどうか大きな関心である。この点で、clozapine は、haloperidol のような定型抗精神病薬より優れているとされている。多くの臨床研究が、定型抗精神病薬は、陰性症状を改善しないが、非定型抗精神病薬は陰性症状を改善することを示してきた。統合失調症の臨床薬理学を考慮すると、Mdk(-/-)マウスの社会相互作用の障害が clozapine で改善されるが、haloperidol でされないという結果は、Mdk(-/-)マウスが抗精神病薬の効果を検証する統合失調症の動物モデルとなりうつことを支持する所見といえよう。

グルタミン酸系、NMDA 系の異常を認めない Mdk(-/-)マウスは、統合失調症の、特に陰性症状を説明するとされる、NMDA 系機能低下仮説に合致しない。社会相互作用に対す clozapine の作用メカニズムは、不明のままだが、あえて、clozapine が Mdk(-/-)マウスの社会相互作用を改善したという効果の説明を試みるならば、clozapine は、ドパミン活性を増加する(Oerther and Ahlenius, 2000)とされており、そのドパミン増加作用が、ドパミン機能が低下している Mdk(-/-)マウスのドパミン機能を改善して、社会相互作用の障害の改善にいたると考えることもできる。

E. 結語

本研究では、(1) ミッドカイン欠損が成体のマウス脳に、ドパミン機能低下を起こすこと、(2) Mdk(-/-)マウスは、また、成熟依存性の感覚運動ゲート機構の障害を示し、その障害は、抗精神病薬によって、改善すること、(3) 社会相互作用の障害を示し、その障害は、clozapine によって改善するが、haloperidol ではしないことを示した。さらに、我々は、ドパミン機能低下が、統合失調症の中間表現型である PPI の異常と関連する可能性を示した。統合失調症は、単一の疾患というよりもむしろひとつの臨床的な症候群であるとするならば、その症候群の中で特異な疾患を同定することは、症候群の理解をさらに深め、より特異的な治療法を開発する上でたいへんな利点となる(Kirkpatrick et al., 2001)。Mdk(-/-)マウスは、統合失調症の動物モデルに合致する行動異常を示す一方で、抗精神病薬の反応性の検証にも有効と考えられた。それゆえ、Mdk(-/-)マウスの神経化学的な特徴は統合失調症のドパミン過剰仮説や NMDA 低下仮説には合致しないが、少なくとも部分的には、ミッドカインの機能不全は統合失調症の病態に関与していることが予想される。ミッドカインがドパミン系の発達および感覚運動ゲート機構や社会行動を制御する神経回路の構築にどのように影響を与えているかと解明するために、更なる研究が必要とされるであろう。

引用文献

American Psychiatric Association (1994) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Ed., Washington, D. C., American Psychiatric Press.

Becker A, Grecksch G (2003) Haloperidol and clozapine affect social behaviour in rats postnatally lesioned in the ventral hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav* 76:1-8.

Braff D, Stone C, Callaway E, Geyer M, Glick I, Bali L (1978) Prestimulus effects on human startle reflex in normals and schizophrenics. *Psychophysiology* 15:339-343.

Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR (2001) Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology (Berl)* 156:234-258.

Brody SA, Dulawa SC, Conquet F, Geyer MA (2004) Assessment of a prepulse inhibition deficit in a mutant mouse lacking mGlu5 receptors. *Mol Psychiatry* 9:35-41.

File SE (1985) Models of anxiety. *Br J Clin Pract Suppl* 38:15-20.

Foster AC, Kemp JA, Leeson PD, Grimwood S, Donald AE, Marshall GR, Priestley T, Smith JD, Carling RW (1992) Kynurenic acid analogues with improved affinity and selectivity for the glycine site on the N-methyl-D-aspartate receptor from rat brain. *Mol Pharmacol* 41:914-922.

Fukushima T, Kawai J, Imai K, Toyooka T (2004) Simultaneous determination of D- and L-serine in rat brain microdialysis sample using a column-switching HPLC with fluorimetric detection. *Biomed Chromatogr* 18:813-819.

Geyer MA, McIlwain KL, Paylor R (2002) Mouse genetic models for prepulse inhibition: an early review. *Mol Psychiatry* 7:1039-1053.

Hashimoto K, Engberg G, Shimizu E, Nordin C, Lindstrom LH, Iyo M (2005) Elevated glutamine/glutamate ratio in cerebrospinal fluid of first episode and drug naive schizophrenic patients. *BMC Psychiatry* 5:6.

- Kikuchi S, Muramatsu H, Muramatsu T, Kim SU (1993) Midkine, a novel neurotrophic factor, promotes survival of mesencephalic neurons in culture. *Neurosci Lett* 160:9-12.
- Kirkpatrick B, Buchanan RW, Ross DE, Carpenter WT, Jr. (2001) A separate disease within the syndrome of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 58:165-171.
- Koike K, Hashimoto K, Fukami G, Okamura N, Zhang L, Ohgake S, Koizumi H, Matsuzawa D, Kawamura N, Shimizu E, Iyo M (2005) The immunophilin ligand FK506 protects against methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity in mouse striatum. *Neuropharmacology* 48:391-397.
- Kokoshka JM, Fleckenstein AE, Wilkins DG, Hanson GR (2000) Age-dependent differential responses of monoaminergic systems to high doses of methamphetamine. *J Neurochem* 75:2095-2102.
- Krezel W, Ghyselinck N, Samad TA, Dupe V, Kastner P, Borrelli E, Chambon P (1998) Impaired locomotion and dopamine signaling in retinoid receptor mutant mice. *Science* 279:863-867.
- Laviola G, Adriani W, Rea M, Aloe L, Alleva E (2004) Social withdrawal, neophobia, and stereotyped behavior in developing rats exposed to neonatal asphyxia. *Psychopharmacology (Berl)* 175:196-205.
- Matsubara S, Take M, Pedraza C, Muramatsu T (1994) Mapping and characterization of a retinoic acid-responsive enhancer of midkine, a novel heparin-binding growth/differentiation factor with neurotrophic activity. *J Biochem (Tokyo)* 115:1088-1096.
- McAlonan GM, Daly E, Kumari V, Critchley HD, van Amelsvoort T, Suckling J, Simmons A, Sigmundsson T, Greenwood K, Russell A, Schmitz N, Happe F, Howlin P, Murphy DG (2002) Brain anatomy and sensorimotor gating in Asperger's syndrome. *Brain* 125:1594-1606.
- McCaughran J, Jr., Mahjubi E, Decena E, Hitzemann R (1997) Genetics, haloperidol-induced catalepsy and haloperidol-induced changes in acoustic startle and prepulse inhibition. *Psychopharmacology (Berl)* 134:131-139.
- Muramatsu T (2002) Midkine and pleiotrophin: two related proteins involved in development, survival, inflammation and tumorigenesis. *J Biochem (Tokyo)* 132:359-371.
- Nakamura E, Kadomatsu K, Yuasa S, Muramatsu H, Mamiya T, Nabeshima T, Fan QW, Ishiguro K, Igakura T, Matsubara S, Kaname T, Horiba M, Saito H, Muramatsu T (1998) Disruption of the midkine gene (Mdk) resulted in altered expression of a calcium binding protein in the hippocampus of infant mice and their abnormal behaviour. *Genes Cells* 3:811-822.
- Ng GY, O'Dowd BF, George SR (1994) Genotypic differences in brain dopamine receptor function in the DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains. *Eur J Pharmacol* 269:349-364.
- Oerther S, Ahlenius S (2000) Atypical antipsychotics and dopamine D(1) receptor agonism: an in vivo experimental study using core temperature measurements in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 292:731-736.
- Olivier B, Leahy C, Mullen T, Paylor R, Groppi VE, Sarnyai Z, Brunner D (2001)

The DBA/2J strain and prepulse inhibition of startle: a model system to test antipsychotics? *Psychopharmacology (Berl)* 156:284-290.

Oppenheim RW (1991) Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14:453-501.

Ozawa K, Hashimoto K, Kishimoto T, Shimizu E, Ishikura H, Iyo M (2005) Immune Activation During Pregnancy in Mice Leads to Dopaminergic Hyperfunction and Cognitive Impairment in the Offspring: A Neurodevelopmental Animal Model of Schizophrenia. *Biol Psychiatry*.

Pietropaolo S, Branchi I, Cirulli F, Chiarotti F, Aloe L, Alleva E (2004) Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory activity and aggressive behaviour in mice: social versus physical enrichment. *Physiol Behav* 81:443-453.

Ralph RJ, Caine SB (2005) Dopamine D1 and D2 agonist effects on prepulse inhibition and locomotion: comparison of Sprague-Dawley rats to Swiss-Webster, 129X1/SvJ, C57BL/6J, and DBA/2J mice. *J Pharmacol Exp Ther* 312:733-741.

Salama RH, Muramatsu H, Shimizu E, Hashimoto K, Ohgake S, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Shinoda N, Okada S, Iyo M, Muramatsu T (2005) Increased midkine levels in sera from patients with Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29:611-616.

Sams-Dodd F (1995) Distinct effects of d-amphetamine and phencyclidine on the social behaviour of rats. *Behav Pharmacol* 6:55-65.

Shi L, Fatemi SH, Sidwell RW,

Patterson PH (2003) Maternal influenza infection causes marked behavioral and pharmacological changes in the offspring. *J Neurosci* 23:297-302.

Shimizu E, Hashimoto K, Salama RH, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Muramatsu H, Muramatsu T, Iyo M (2003) Two clusters of serum midkine levels in drug-naive patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 344:95-98.

Swerdlow NR, Geyer MA (1998) Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24:285-301.

Ventura R, Alcaro A, Cabib S, Conversi D, Mandolesi L, Puglisi-Allegra S (2004) Dopamine in the medial prefrontal cortex controls genotype-dependent effects of amphetamine on mesoaccumbens dopamine release and locomotion.

Neuropsychopharmacology 29:72-80.

Weiss SM, Lightowler S, Stanhope KJ, Kennett GA, Dourish CT (2000) Measurement of anxiety in transgenic mice. *Rev Neurosci* 11:59-74.

Womer DE, Jones BC, Erwin VG (1994) Characterization of dopamine transporter and locomotor effects of cocaine, GBR 12909, epidepride, and SCH 23390 in C57BL and DBA mice. *Pharmacol Biochem Behav* 48:327-335.

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shimizu E, Hashimoto K, Salama RH, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Muramatsu H,

Muramatsu T, Iyo M. Two clusters of serum midkine levels in drug-naive patients with schizophrenia. *Neurosci Lett.*, 344, 95-98, 2003.

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.

2. 学会発表

1. 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.

2. 大掛真太郎、清水栄司、橋本謙二、岡村齊恵、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。

3. 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。

Table 1. Acoustic startle reactivity of Mdk mice at baseline

	Mdk(+/+)	Mdk(+/-)	Mdk(-/-)
(A) Adult	81.7 ± 4.7	78.1 ± 7.7	66.7 ± 8.1
(B) Prepubertal	52.4 ± 5.1	45.6 ± 3.0	46.6 ± 4.6

Acoustic startle reactivities (ASR) at baseline did not differ significantly according to genotype in either adult or prepubertal Mdk mice. Values represent the mean ASR (arbitrary unit) ± SEM.

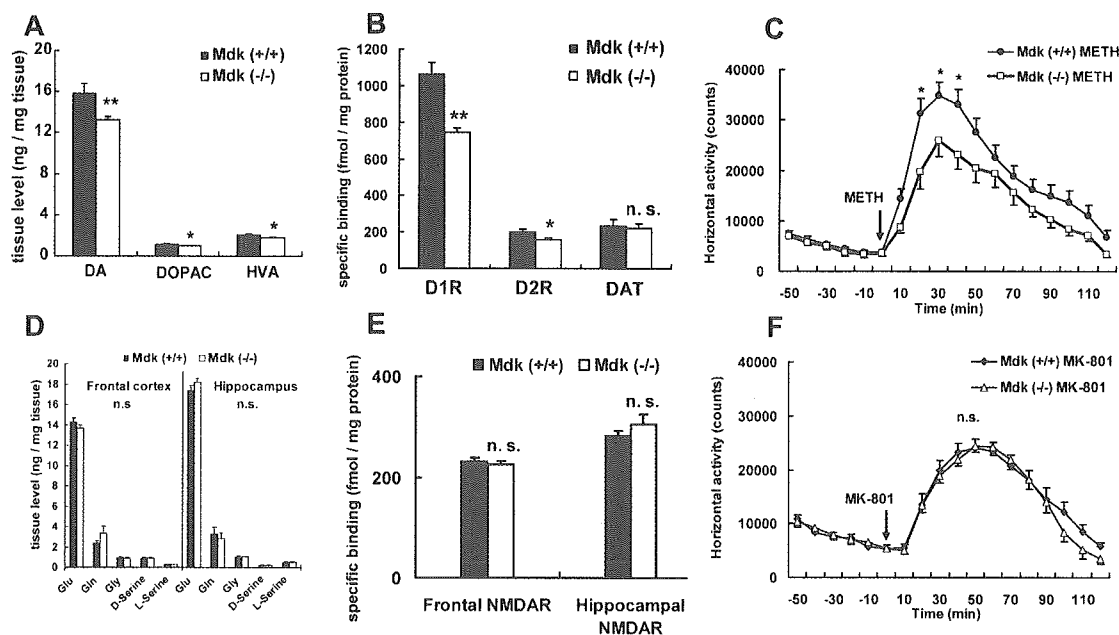


Figure 1. Neurochemical and behavioral characteristics of dopaminergic and NMDA systems. (A) The striatal levels of dopamine (DA) and two metabolites were significantly decreased in Mdk(-/-) mice ($n = \text{Mdk}(+/+), 10; \text{Mdk}(-/-), 10$). (B) The striatal dopamine D1 and D2 receptor (D1R and D2R, respectively) densities decreased significantly in Mdk(-/-) mice ($n = \text{Mdk}(+/+), 6; \text{Mdk}(-/-), 6$). The striatal levels of DAT in Mdk(-/-) mice was comparable to that in Mdk(+/+) mice ($n = \text{Mdk}(+/+), 10; \text{Mdk}(-/-), 9$). (C) An arrow indicates the time of methamphetamine (METH) administration (3 mg/kg). Counts represent the total number of infrared-beam breaks per 10-min interval. Mdk(-/-) mice ($n = 17$) were hypoactive compared with Mdk(+/+) mice ($n = 34$) after they had been administered with methamphetamine (genotype×time interaction, $p < 0.025$). * $p < 0.05$: Post hoc comparison at each time point. (D) No significant changes were observed in the levels of frontal and hippocampal amino

acids that are endogenous agonists for NMDA receptors, (E) nor were there any changes in the density of NMDA receptors ($n = \text{Mdk}(+/+), 6; \text{Mdk}(-/-), 6$). (F) There were comparable levels of activity before and after the administration of MK-801 (0.3 mg/kg) ($n = \text{Mdk}(+/+), 17; \text{Mdk}(-/-), 7$). Values represent mean \pm SEM. (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)

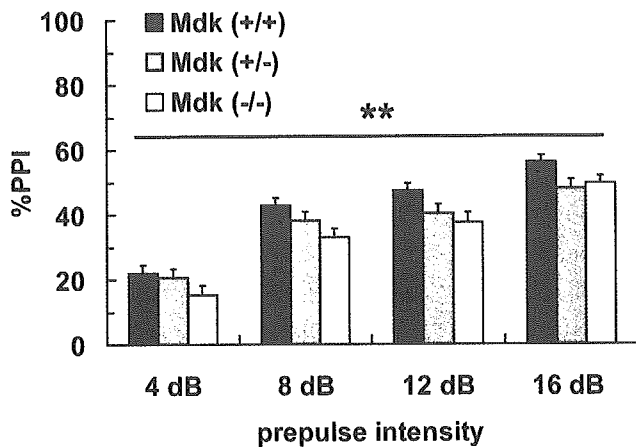


Figure 2. Baseline PPI for adult Mdk mice. PPI was significantly disrupted in the Mdk(-/-)mice, compared to Mdk(+/+)mice ($p = 0.013$) in post hoc ANOVAs. There was no significant interaction between genotype and prepulse intensity ($n = \text{Mdk}(+/+), 50; \text{Mdk}(+/-), 23; \text{Mdk}(-/-), 33$). Values represent mean %PPI \pm SEM.

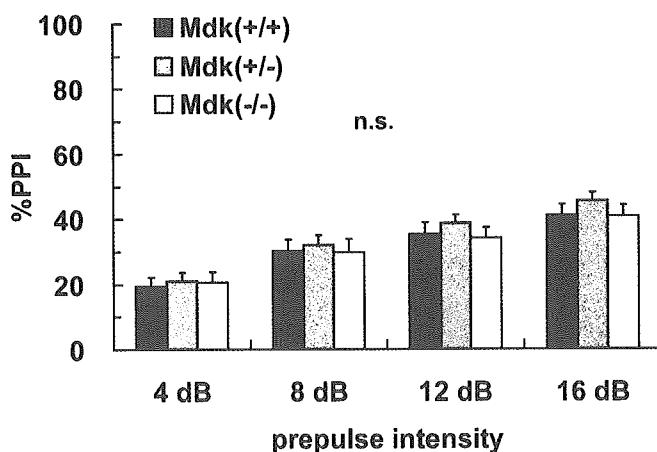


Figure 3. Baseline PPI for prepubertal Mdk mice (4 weeks old). There was no significant genotype effect, nor was there any interaction between genotype and prepulse intensity ($n = \text{Mdk}(+/+), 22; \text{Mdk}(+/-), 46; \text{Mdk}(-/-), 20$). Values represent mean %PPI \pm SEM.

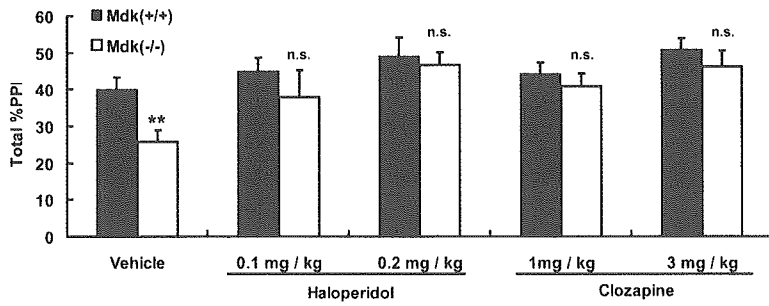


Figure 4. Antipsychotic effects on PPI. For the purpose of presentation, the data were collapsed across prepulse intensity. PPI was significantly decreased in Mdk(-/-) mice treated with vehicle (** $p < 0.01$). This significant reduction in Mdk(-/-) was ameliorated to the wild-type level with either haloperidol or clozapine (n = PPI with vehicle, 16 Mdk(+/+) and 11 Mdk(-/-) mice; PPI with haloperidol 0.1 mg/kg, 11 Mdk(+/+) and 11 Mdk(-/-) mice; PPI with haloperidol 0.2 mg/kg, 9 Mdk(+/+) and 7 Mdk(-/-) mice; PPI with clozapine 1 mg/kg, 18 Mdk(+/+) and 11 Mdk(-/-) mice; clozapine 3 mg/kg, 15 Mdk(+/+) and 8 Mdk(-/-) mice). Values represent mean total %PPI \pm SEM.

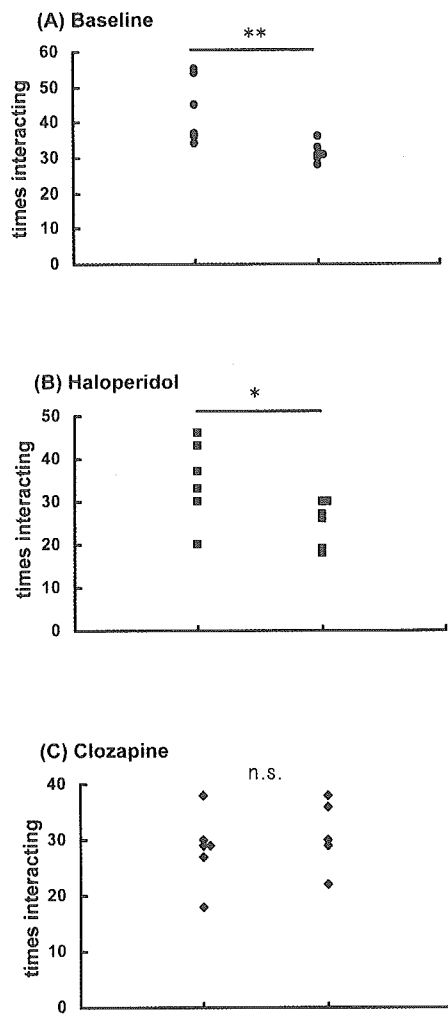


Figure 5. Social interaction test in Mdk mice. (A) The number of interactions was significantly decreased at baseline in Mdk(-/-) mice (**p < 0.01). (B) The reduction in Mdk(-/-) mice in the number of interaction was still significant with subchronic haloperidol treatment (*p < 0.05), (C) but subchronic clozapine treatment reversed this reduction in Mdk(-/-) mice to the wild-type level (n = baseline, 6 pairs of each genotype; haloperidol, 6 pairs of each genotype; clozapine, 6 pairs of Mdk(+/) and 5 pairs of Mdk(-/))

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

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

研究要旨

目的：慢性統合失調症患者における後部帯状回、海馬においての変化の有無とそれら変化と認知機能の関係を明らかにする。

方法：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。

結果：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。

結語：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。

A. 研究目的

統合失調症の生物学的マーカー開発において、脳内の機能変化と統合失調症に特徴的な認知機能障害などの神経心理学的変化の関係を見出すことは重要と考えられる。

さて、認知機能障害は初発および慢性の統合失調症患者において重要な特徴である。統合失調症の認知機能障害はよく調べられているが (Bilder et al., 1992; Goldberg et al., 1993)、その障害の生物学的な基盤に関しては不明な点が多い。統合失調症患者における認知機能障害と神経化

学的な変化の関係について研究がなされている。

海馬は統合失調症における認知機能障害に関して興味をもたれている領域であり、数多く研究されている。Weise ら (2001) は、統合失調症の記憶障害には前頭前野と、学習と記憶に関係する海馬、視床、小脳の3つの領域との異常な連絡が関係していると述べている。

プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー (1H MRS) により非侵襲的に脳の内因性物質の代謝物を測定することが可能である。未治療の統合失調症患者における神経代謝物の研究では

神経細胞数の指標である N-acetylaspartate (NAA) が海馬領域で減少していることが報告されている。一方、治療中の患者では異常はないとされている (Fannot et al., 2003)。ところで統合失調症初発時の作業記憶の欠損は海馬の NAA と関係していることが報告されている。しかしながら、治療中の慢性統合失調症患者における広範な認知機能障害にどの脳領域が関与しているかは未だ不明である。また健常者では加齢に伴い認知機能が低下することが知られている。統合失調症では認知機能は 10-20 年かけて低下するが、これは神経変性などを反映したものであるかもしれない。しかしながら、健常者や統合失調症患者における認知機能の低下に関与する生物学的なことは依然わかっていない。NMDA 受容体の機能低下は統合失調症の病理において重要であると考えられている。また、統合失調症の認知機能低下においても NMDA 受容体機能の障害が関与していると思われる。NMDA 受容体アンタゴニストである PCP や MK801 は人や動物に精神病症状や認知機能障害を起こすことが知られている。我々は、NMDA 受容体アンタゴニストはラット脳の後部帯状回に一過性の神経病理学的変化を引き起こすことを報告した。しかしながら、我々の知る限り、後部帯状回の代

謝変化と認知機能の関係について統合失調症で調べた報告はない。

NMDA 受容体アンタゴニストを用いた統合失調症同むつモデルでの神経病理学的変化に基づいて、我々は、内側側頭葉よりうも後部帯状回の代謝異常が統合失調症の認知機能障害に重要な役割を果たしていると言説している (Hashimoto et al., 2000)。この仮説を確かめるために、統合失調症における認知機能障害の解剖学および化学的基盤について MRS を用いて、後部帯状回、両側の内側側頭葉の代謝を調べるとともに、認知機能を調べた。

B. 研究方法

被験者

被験者は全員右利きであった。統合失調症患者は 19 人であり、年齢は平均 40.4 (SD : 13.1) 歳であり、11 人が男性、8 人が女性であった。健常者は 22 人であり、年齢は平均 35.2 (SD : 12.9) 歳で 13 人が男性、7 人が女性であった。両群で年齢および性別に有意さはなかった。すべての被験者は DSM-IV (American Psychiatric Association, 1994) により診断した。健常者は精神障害および身体疾患に罹患しておらず、統合失調症患者も他の精神障害および身体疾患には罹患していなかった。すべての患者が向精神薬による治療を受けていた。10 名の

患者は一種類の非定型抗精神病薬のみを内服しており、1名は一種類の定型抗精神病薬のみを内服していた。他の8名は複数の種類の抗精神病薬を服用していた。

認知機能検査

言語記憶は Wechsler Memory Scale 改訂版 (WMS-R) の Logical Memory I と II、視覚空間記憶は WMS-R の視覚再生 I と II を用いて評価した。

言語流暢性は letter fluency test and the category fluency test により評価した。精神運動速度、注意は Trail Making Test (TMT; Reitan and Wolfson, 1985) を用いて検査した。

1H-MRS 検査

1.5 テスラ MRI にて検査を行った。関心領域 (ROI) は左右の海馬と後部帯状回とした。

統計解析

データは平均 \pm SD で表記し、Statview と SPSS を用いて解析を行った。The Fisher's exact test と Student's t-test、および non-parametric Mann-Whitney U-test を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

(倫理的配慮)

千葉大学大学院医学研究院の倫理委員会の承認を得て行い、すべての被

験者から書面による説明同意を得てから検査を行った。

C. 研究結果

患者群および健常者群の間に年齢および性別で有意な差はなかった (Table 1)。健常者に比べて患者群ではすべての認知機能検査において有意な欠損を認めた (Fig.1)。

MRS で測定された後部帯状回の NAA/Cr は統合失調症群で 2.07 ± 0.28 であり、健常者群の 2.30 ± 0.38 に比べて有意に低下していた ($P = 0.038$, t-test; Fig.2)。一方、左右の海馬 NAA/Cr ではいずれも両群間に有意な差は認めなかった。

全被験者の後部帯状回 NAA/Cr は言語記憶スコアと有意な正の相関を認めた (Fig.3)。また、後部帯状回 NAA/Cho は患者群で言語記憶と有意な正の相関が見られたが、健常者では見られなかった。一方、全被験者を対象とした場合、後部帯状回の NAA/Cr は年齢と有意な負の相関が見られ、健常者においても同様であったが、統合失調症患者では有意な相関は見られなかった (Fig.4)。

抗精神病薬をクロールプロマジン換算した用量は右内側側頭葉の NAA/Cr と有意な正の相関 ($\text{minus}0.472$, $p = 0.041$) を認めたが、左内側側頭葉の Cho/Cr は負の相