

図1 DA神経伝達と統合失調症関連薬物

A) DA性シナプスの模式図。統合失調症様異常発現薬(メタンフェタミン、アンフェタミン、コカイン)、抗精神病薬およびDA代謝に作用する薬物の標的分子を示した。B) 抗精神病薬は、幻覚・妄想状態を改善するのに要する標準的な一日使用量と、D₂型DA受容体遮断力価(受容体への親和性で表してある)がほぼ正比例する(文献19より改変)。こうした相関は、アデニル酸シクラーゼと負の共役をするD₂、D₃およびD₄受容体の遮断作用に共通してみられるが、本酵素と正の共役をするD₁およびD₅受容体や、その他の神経伝達物質受容体では認められず、抗精神病作用はD₂ファミリー受容体の遮断作用を介して発揮されと考えられている。細胞内ではDARPP-32によってDA受容体とNMDA型グルタミン酸受容体(図3)のシグナルが相互作用をもつと考えられている。COMT: catechol-o-methyltransferase, DARPP-32: dopamine-and cAMP-regulated phosphoprotein of 32 kDa, DAT: dopamine transporter, DCase: aromatic L-aminoacid decarboxylase, DOPA: L-3,4-dihydroxyphenylalanine, MAO: monoamine oxidase, TH: tyrosine hydroxylase

DA作動薬を投与すると、幻覚・妄想状態が再燃することからも支持された(概念図, 図1)¹⁰⁾¹²⁾。ただし、抗精神病薬が陰性症状にはほとんど奏功しない点は、DA伝達の亢進が主に陽性症状の発現と関係し、陰性症状の発現機序を説明できないことを示唆している。

死後脳の分析においては、多くの研究グループがほぼ一致して、統合失調症における線条体D₂受容体数の増加を報告しているのに対して、PETを用いた*in vivo*の測定のひとつが、有意な差異を検出していない(D₁受容体については双方の方法とも結果が一致していない)¹⁰⁾¹²⁾。最近、シナプス間隙のDA量に影響を受けるD₂受容体リガンドを利用したPET研究が行

われ(リガンド結合はDA放出の増加により減少し、低下によって上昇する)、①少量のアンフェタミンで誘発される線条体のDA放出は、健常者より統合失調症患者の方が多く、②DA合成を一時的に阻害したときのリガンド結合の増加を指標とした基礎的なDA放出量は、統合失調症患者の方が高いことなどがわかった¹²⁾。以上の所見は、統合失調症患者の脳内DA伝達が亢進していることと矛盾しないが、ここでも、抗精神病薬の長期投与の代償的变化である可能性を完全に除外できない。

② NMDA型グルタミン酸受容体機能の低下

過剰なDA伝達では説明できない陰性症状を、陽性

症状とともに総合的に理解する手がかりとして注目されているのは、NMDA型Glu受容体遮断薬である(図2)⁸⁾⁹⁾。すなわち、①フェンサイクリジン(phenylcyclohexyl piperidine: PCP)、ケタミンをはじめとするNMDA受容体遮断薬が統合失調症様の陽性ならびに陰性症状を引き起こす(概念図)、②ケタミンは、NMDA受容体遮断作用の強い立体異性体(S体>>R体)の方が精神異常を誘発しやすい、③統合失調症患者は健常者より、NMDA受容体遮断薬に感受性が高く精神障害が生じやすい、④PCPが精神障害のみを引き起こし、麻酔作用・意識障害を示さないときの血中濃度は、NMDA受容体以外の神経伝達系には作用しない低レベルである、などの現象より、統合失調症患者ではNMDA受容体機能低下によって、陽性・陰性双方の症状が引き起こされていることが示唆される⁸⁾⁹⁾。死後脳の研究からは、NMDA受容体の結合・遺伝子を含む、さまざまなGlu伝達系の変化が報告されているが、研究者間で一致する結果または十分検証されている例は少ない¹³⁾。

③ ドーパミン-グルタミン酸相互作用の異常

PCP、ケタミンなどを急性投与した動物脳では、特に大脳皮質を中心にDA伝達が亢進する。NMDA遮断薬を反復投与すると前頭葉皮質のDA代謝がかえって低下するという報告もあるが、アンフェタミンを投与したときのDA遊離は、統合失調症患者に類似して、前頭葉皮質と線条体の双方で増強している⁸⁾⁹⁾。NMDAR1サブユニットの発現低下マウスでは、DA作動薬への感受性が上昇していることも考え合わせると、NMDA受容体機能が低下した状態では、DA伝達が亢進しやすいと推測される。したがって、一群の統合失調症では、NMDA受容体を介するGlu伝達が減弱するため、DA伝達が過剰になった結果陽性症状が出現し、DA以外の分子カスケードの異常により陰性症状が引き起こされる可能性がある(概念図)⁸⁾¹⁴⁾。この仮説は、ケタミンを健常ボランティアに投与すると、統合失調症様の精神変調がみられ、アンフェタミン誘発性のDA遊離の増加が亢進することからも支持される¹²⁾。

④ 内在性D-セリン

D-セリンは、グリシン、D-アラニンなどと同様に、NMDA受容体に対して、グリシン調節部位を刺激す

るコ・アゴニストとして作用する(図2)。さらに、われわれは抗精神病作用をもつことや、D-アミノ酸としては例外的に、脳を中心に哺乳類の組織に一生の間高い濃度を保ち、NMDA受容体R2Bサブユニットと酷似した分布(成熟期では前脳部優位)を示すことを見出し、精神機能に関与する内在性のNMDA受容体制御因子であることを提唱した¹⁴⁾。前脳部組織のD-セリンを選択的に分解すると、グリシン調節部位に結合するもう1つの内在性物質のグリシンの濃度が変化しなくとも、NMDA受容体機能が低下する¹⁴⁾。したがって、少なくとも前脳部ではD-セリンが、NMDA受容体の内在性コ・アゴニストであると考えられる¹⁴⁾。以上の所見から、統合失調症では、D-セリンのシグナル減少のためにNMDA受容体機能が低下している可能性が注目を集めている¹⁴⁾。

分子遺伝学的解析

現在までに単独の研究だけで、全ゲノム解析のレベルで統合失調症と有意な連鎖が認められた領域は、1q21-q22, 6p24-p22, 6q21-q25, 10q25-q26, 13q32-q34, 17p11-q25である⁵⁾。また、1q21-q22, 1q42, 6p24-p22, 6q21-q25, 8p22-p21, 10p15-p11, 13q32-q34, 22q11-q22の領域では、少なくとも独立した2つ以上の研究から連鎖が報告されている⁵⁾。最近の2つの大規模メタ解析を比較すると、双方から連鎖が支持されたのは8pと22qのみであり、1q, 2q, 3p, 5q, 6p, 11q, 13q, 14p, および20qはいずれか一方の研究から連鎖が示唆された⁵⁾。さらに、日本人の236家系についての新たな大規模解析では、1p21.2-p13.2, 14q11.2, 14q11.2-q13.2, および20p12.1-1p11.2と統合失調症の連鎖が検出されている¹⁵⁾。

連鎖がみられたゲノム領域から、統合失調症の感受性遺伝子として有意な関連が見出され、最も多くの研究が追認しているのはDTNBP1およびNRG1である⁵⁾。これらを含めて、関連、連鎖、患者サンプルにおける変化などの点から、注目される統合失調症感受性候補遺伝子を表2に示す⁵⁾⁶⁾。染色体異常を手がかりとした検索では、①22q11領域の欠失がみられるVCFS(velo-cardio-facial syndrome)の患者では、妄想型統合失調症と類似の精神症状が出現する頻度が高いこと、②スコットランドの家系解析から統合失調症と関連す

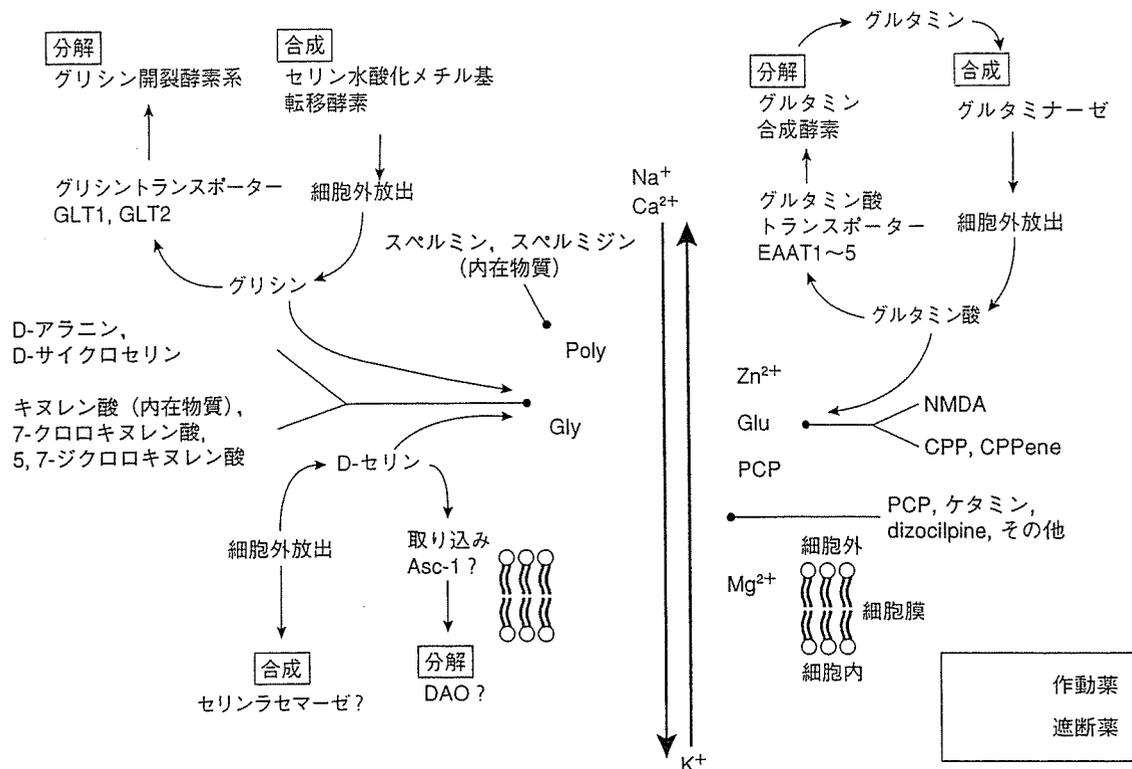


図2 NMDA 受容体および主要な内在性リガンドの代謝経路と統合失調症関連薬物

NR1 サブユニットと4種のNR2サブユニットA～Dの1種が組合わさったヘテロメリック集合体を形成するタイプのNMDA 受容体を模式的に示す。細胞外からNa⁺やCa²⁺を流入させ、細胞内からK⁺を透過させるイオンチャネルを構成しており、Glu結合部位 (Glu)、グリシン調節部位 (Gly) (概念図および本文を参照)、マグネシウムイオン結合部位 (Mg²⁺)、フェンサイクリジン結合部位 (PCP)、ポリアミン結合部位 (Poly) 等の調節部位をもつ。臨床的にPCP結合部位 (PCP、ケタミン、dizocilpine (MK801))、Glu結合部位 (CPP, CPPene) のいずれの遮断薬も統合失調症様異常を誘発することが知られている。NMDA 受容体の調節にかかわる内在性リガンドのうち、Glu、グリシンおよびD-セリンについては代謝経路の概略を図示した。後二者はコ・アゴニストとよばれ、単独では神経伝達を引き起こすことはないが、Gluが神経伝達を生じさせるにはその存在が不可欠である。このような生理機能の重要性から、GluだけでなくD-セリンやグリシンの代謝・機能の分子機構またはその制御系と統合失調症との関連が注目されている

る1q42.1と11q14.3の相互転座が見出され、ブレイクポイント領域にマップされるDISC1遺伝子と統合失調症の相関が報告されていることなどより、これらの領域の遺伝子またはコードタンパク質との相互作用分子の機能不全が、ある種の統合失調症を引き起こす可能性が考えられている(表2の遺伝子座を参照)⁵⁾。

以上の感受性候補遺伝子の多くが、DA、Glu伝達または双方に関係する機能をもつことは興味深い(表2)^{5) 6)}。ただし、個々の多型またはハプロタイプと統合失調症との関連は最も信頼できるレベルでもodds ratioが2.5に満たず、effect sizeが小さい。つまり、見かけの関連性である可能性も否定できない⁵⁾。

神経回路異常と神経発達障害仮説

PET, SPECT, fMRI, NIRS等の脳機能画像解析や、MRIによる脳形態学的研究にもとづいて(はじめにを参照)、統合失調症では背外側前頭前野、内側前頭葉皮質、前部帯状回、左側頭葉、視床、海馬、または小脳を含む、特定の神経回路の異常が推測されている^{1) 2) 16)}。こうした異常が、DA伝達およびNMDA受容体を介するGlu伝達の変化につながる可能性がある。動物実験で、前頭葉の神経細胞体またはDA神経終末を破壊すると、大脳皮質から線条体、側坐核、中脳腹側被蓋野などの皮質下領域に投射するGluニューロンの活動が低下し、皮質下のDA伝達が過剰になる

表2 統合失調症感受性候補遺伝子^{2) 5) 6)}

候補遺伝子	遺伝子座	関連	連鎖	死後脳の変化	脳において推測される機能
COMT ^f	22q11	+*	+	+	DA分解(図1), 認知機能
DTNBP1 [#]	6p22.3	+*	+	+	Glu放出(図2)
NRG1 [#]	8p22-p21	+*	+	+	神経発達, シナプス機能調節
RGS4 ^{f, #}	1q21-22	+*	+	+	DA受容体(図1)・代謝型Glu受容体の調節
G72 [#]	13q34	+*	+	+	D-セリン代謝(図2)
DISC1 [#]	1q42.1	+*	+	NT	膜受容体の局在化, 細胞内シグナル伝達
PRODH2 [#]	22q11	+	+	-	Glu伝達調節
ZDHHC8 [#]	22q11	+	+	NT	Glu関連の細胞内シグナル伝達
PPP3CC ^{f, #}	8p21.3	+	+	+	DA・Glu伝達相互作用
DAO [#]	12q23-q24	+	+?	NT	D-セリン代謝(図2)
CHRNA7	15q13-14	+	+?	+	アセチルコリン伝達, 認知機能
GRM3 [#]	7q21-22	+	+?	-	Glu伝達調節
AKT1 ^f	14q32.32	+	+?	+	D2型DA受容体シグナル調節(図1)
EPN4	5q33	+?	+	NT	シナプスやニューロンの小胞の輸送・安定化
CAPON [#]	1q22	+?	+	+	NMDA受容体と関連する一酸化窒素シグナル系
TAAR6 ^f	6q23.2	+?	+	NT	モノアミン代謝調節?
GABAA ^{f, #}	5q31-35	+?	+	+	抑制性GABAシナプスにおける主要な役割

右肩のfおよび#の記号は, DA(f), Glu(*), あるいは双方(f,*)に関係が深い機能をもつことを示す。*は, 統合失調症と有意な関連が独立した3つ以上の研究から報告され, その遺伝子座が統合失調症の連鎖領域にある遺伝子。?:再現性が十分確認されていない。NT:未検討。AKT1:v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1, CAPON:carboxy-terminal PDZ domain ligand of neuronal nitric oxide synthase, CHRNA7:α7 nicotinic acetylcholine receptor, COMT:catechol-O-methyltransferase, DAO:D-amino acid oxidase, DISC1:disrupted in schizophrenia 1, DTNBP1:dytrobrevin binding-protein 1, EPN4:epsin 4, G72:D-amino acid oxidase activator (DAOA), GABAA:γ-aminobutylic acid A receptor, GRM3:metabotropic glutamate receptor type 3, NRG1:neuregulin 1, PPP3CC:calcineurin Aγ catalytic subunit, PRODH2:proline dehydrogenase 2, RGS4:regulator of G-protein signalling 4, TAAR6:trace amine receptor 4, ZDHHC8:zinc finger-and Asp-His-His-Cys (DHHC) domain-containing protein 8

ことから, 統合失調症においては前頭葉皮質に投射するDAニューロンの活動低下が生じている可能性を強調する意見がある²⁾。しかし, 死後脳の前頭葉ではDAの濃度または代謝回転の低下はみられず, DA作動薬により明らかに改善する統合失調症状が確認されない点は, この仮説と一致しない。

近年, 神経回路異常の原因あるいは誘因として神経発達障害が注目されるようになった¹⁶⁾。すなわち, 疫学的研究より, 胎生期または周産期の栄養障害, 薬物使用, ウイルス感染, 神経発生過程の障害などと統合失調症の関連が指摘され, 本症の一群では, 特定の発達段階における何らかの侵襲, あるいは神経発達に重要な分子の異常が, 正常な神経回路形成を阻害していることが示唆された¹⁶⁾。神経発達障害を反映する所見として, 当初, 統合失調症患者死後脳における, ニューロンの配列, サイズ, 樹状突起分枝などの変化が注目を集めたが, その後の研究では本症に対する特異性が

疑問視されている¹⁶⁾。最近では, ①分子遺伝学的解析から統合失調症との関連が示唆されている候補遺伝子群が, 発達期を通じてシナプスの構造や機能に影響する(表2), ②死後脳でオリゴデンドロサイトまたはミエリン形成に関連した分子群の発現が変化している, ③MRIの拡散テンソル画像(diffusion tensor imaging)において, 主に神経線維からなる白質の信号異常が指摘されている, などの所見が, 統合失調症の神経回路発達障害を支持すると考えられている¹⁶⁾。

動物モデルの発展

統合失調症では, 他の精神疾患と同様に, 脳機能の異常が認められるにもかかわらず明確な神経病理学的所見を欠き, 臨床症状は言語活動にあらわれることから, 動物モデルの作製が難しい。現段階では, 統合失調症様異常を発現させるDA作動薬およびNMDA受容体遮断薬(前述)を投与した動物の行動異常が, 統

合失調症状と類似した薬理学的特徴を示すため、モデルとして広く受け入れられており、実際に治療薬の開発に重要な役割を果たしてきた⁸⁾。最近、遺伝子操作動物や、生後発達期に脳に侵襲を加えた動物も統合失調症モデルとして取り上げられるようになった。本症のモデルと判断する指標は、主に、①上記2種の統合失調症様異常発現薬への感受性亢進、②prepulse inhibitionの減弱（はじめにを参照：統合失調症において疾患特異的ではないが減弱がみられ、動物でも計測可能な生理学的指標として重視されている）、③社会的行動の異常、④認知機能障害、⑤抗精神病薬の改善作用などである¹⁶⁾。これらの異常は、Dishevelled (Dvl), NR1 サブユニット、カルシニューリン、PRODH等をはじめとした多くの遺伝子改変マウスや、新生仔期に海馬神経細胞の破壊またはサイトカイン (IL-1- β) や成長因子 (epidermal growth factor : EGF) の負荷を行ったラットで認められている¹⁶⁾。後二者は統合失調症モデルの異常行動が思春期以降に発現する点も注目されている¹⁶⁾。

新しい治療の試み

これまでに得られた、薬理的・分子遺伝学的所見を基盤に、NMDA 受容体機能促進薬^{8) 9) 17)} や $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体刺激薬¹⁸⁾ などの、統合失調症の新たな薬物療法が試みられている。前述したように、NMDA 受容体遮断薬が、統合失調症様の陰性・陽性双方の症状を誘発するため、NMDA 受容体機能を賦活すると、既存の抗精神病薬では改善しなかった陰性症状も軽快する効果が期待されている（概念図）。海外では、グリシン、I型グリシントランスポーター（前脳部に多く分布）の阻害薬、D-サイクロセリン、D-セリン、D-アラニンなどのグリシン調節部位作動薬（概念図、図2）を、既存の抗精神病薬と併用する臨床試験が進められ、抗精神病薬抵抗性の陰性症状や認知機能障害の有意な改善が報告されている（概念図）^{9) 17)}。ただし、これらの薬物は、脳への移行性、作用の選択性、あるいは副作用に問題があり、たとえば、D-セリンの取り込み阻害薬のような（図2）新規の作用機序をもつ、安全で優れた薬物の開発が望まれる。一方、 $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体の部分作動薬である3-[(2,4-dimethoxy)

benzylidene]-anabaseine を、抗精神病薬で治療中の患者に追加投与した研究では、認知機能の向上がみられたという¹⁸⁾。

今後の課題と展望

難航する統合失調症の分子病態解明を促進するため、一卵性双生児において、本症発症の不一致例が認められることにもとづいて、最近、ゲノムDNA配列の変異だけでなく、DNAのメチル化、ヒストンタンパク質の化学修飾によるクロマチンリモデリング等のエピジェネティックな遺伝子発現制御機構の異常が、統合失調症に関与する可能性が注目されるようになった⁷⁾。すでに、DNA配列の変異によるエピジェネティック制御の変化が病態に関係する疾患も見出されており、統合失調症でもエピジェネティック機構について、一卵性双生児不一致例のサンプルや死後脳における差異や、将来の治療薬の標的としての意義が検討されはじめている⁷⁾。こうした方向性は、遺伝的要因とともに環境的要因が発症に影響する精神疾患へのアプローチにとって重要であり、今後の発展が期待される。

筆者はさらに、統合失調症で障害される情報処理が、精神機能を支えるための高速性、並列性、不確定性、可塑性、長期保持性、高度な統合性などの特徴をもつことに留意した戦略が必要と考えている⁸⁾。これらの特徴は、これまでに分子機構が解明されてきた生命現象の基盤となる、直列的で初期条件によって帰結が確定するタイプの情報処理にはみられないからである。これからの統合失調症の分子異常に関する研究には、先端的な分子科学的手法をそのまま応用することだけではなく、従来の動物および患者を対象とした研究成果に立脚しながら、精神機能に特有な未知の作動原理をもつ分子機構を探索可能にする新たな視点が求められているのではないだろうか。

文献

- 1) Buchanan, R. W. & Carpenter, W. T. : Schizophrenia. (Sadock, B. J. & Sadock, V. A. eds.) "Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry, 8th edition" Volume 1, pp. 1329-1558, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005
- 2) Harrison, P. J. & Weinberger, D. R. : Mol. Psychiatry,

10 : 40-68, 2005

3) Gottesman, I. I. & Gould, T. D. : Am. J. Psychiatry, 160 : 636-645, 2003

4) Plomin, R. et al. : Science, 264 : 1733-1739, 1994

5) Owen, M. J. et al. : Trends Genet., 21 : 518-525, 2005

6) Gogos, J. A. & Gerber, D. J. : Trends Pharmacol. Sci., 27 : 226-233, 2006

7) Sharma, R. P. : Schizophrenia Res., 72 : 79-90, 2005

8) 西川 徹 : Molecular Medicine, 40 : 270-278, 2003

9) Javitt, D. C. : Mol. Psychiatry, 9 : 979, 984-997, 2004

10) Kapur, S. & Mamo, D. : Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, 27 : 1081-1190, 2003

11) Meltzer, H. Y. et al. : Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry, 27 : 1159-1172, 2003

12) Laruelle, M. et al. : Clin. Ther., 27 (Suppl A) : S16-24, 2005

13) Coyle, J. T. & Tsai, G. : Int. Rev. Neurobiol., 59 : 491-515, 2004

14) 西川 徹 : ファルマシア, 41 : 863-868, 2005

15) Arinami, T. et al. : Am. J. Hum. Genet., 77 : 937-944, 2005

16) Rapoport, J. L. et al. : Mol. Psychiatry, 10 : 434-449, 2005

17) Tsai, G. E. et al. : Biol. Psychiatry, 59 : 230-234, 2006

18) Olincy, A., et al. : Arch. Gen. Psychiatry, 63 : 630-638, 2006

19) Seeman, P. et al. : Nature, 261 : 717-719, 1976

参考文献

『DSM-IV-TR 精神疾患の診断・統計マニュアル 新訂版』(高橋三郎, 他/訳), 『統合失調症および他の精神病的障害』, pp. 291-333, 医学書院, 2002

『心の病気と分子生物学—生物学的精神医学の新展開—』(石浦章一, 丸山 敬/訳), pp. 188, 日経サイエンス, 1994

『精神薬理学エッセンシャルズ—神経科学的基礎と応用—』(仙波純一/訳), pp. 502, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 2002

著者プロフィール

西川 徹 : 1985年東京医科歯科大学大学院医学研究科修了。同大学医学部附属病院精神科研修医(島園安雄教授), Synthelabo-L.E.R.S.研究所(仏)ポスドク(Bernard Scatton 研究部門長), 国立精神・神経センター神経研究所の流動研究員(融 道男部長・高橋清久部長), 室長および部長等を経て, '99年より現所属・教授。統合失調症を中心に精神疾患の病因・病態の分子機構解明と新しい治療法開発をめざした研究を進めている。

羊土社の大好評臨床医学雑誌

プライマリケアと救急を中心とした総合誌

レジデントノート

月刊

月刊誌 : 毎月1日発行
B5判 定価(本体 2,000円+税)

年間購読料 年間12冊
年間購読は随時受付
定価(本体 24,000円+税)

研修医・指導医にもっとも読まれている
信頼度No.1の研修医雑誌

ベテラン医師にも
知識のアップデート, 研修医指導 etc. の目的で
ご利用いただいています。

- ✓ 基礎研究の動向を知るなら『実験医学』
- ✓ 臨床での実践には『レジデントノート』

脳の発達障害としての統合失調症

西川 徹

要約：統合失調症の発症に、遺伝的要因や胎生期や周産期の環境的要因によって、神経細胞や神経回路網の発達障害が生ずることが関与している可能性が注目され、ニューロン、グリアおよび神経回路・シナプス形成等の発達に重要な役割を果たす因子の変化と統合失調症の関連が検討されているが、未だ不明な点が多い。一方、統合失調症は神経変性疾患とは異なり、脳細胞の明らかな変性・脱落、炎症等を伴わないことから、未知の作動原理に従う脳内システムや病的過程の存在を念頭においた病因・病態へのアプローチが必要な可能性がある。そこで筆者らは、1) 統合失調症は思春期以降に発症するが、ドパミン作動薬、NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬等の統合失調症様異常発現薬が精神機能に及ぼす影響も発達に伴って変化し、小児期までは精神病状態を誘発しにくい、2) 実験動物では、陽性症状の再燃モデルと言われる覚せい剤その他のドパミン作動薬が誘導する逆耐性現象が、一定の発達段階以降に成立し、フェンサイクリジン (PCP) をはじめとする NMDA 受容体遮断薬投与後に出現する異常行動も幼若期と成熟期では明らかな差異が認められる、等の発達依存的現象に着目し、統合失調症の分子機構へのアプローチを試みている。すなわち、統合失調症の発症や再燃に関与する新たな候補遺伝子として、覚せい剤または PCP を投与した各発達段階のラットにおいて生後発達に伴って反応性が著しく変化する脳部位で、一定の発達段階以降にこれら薬物によって発現異常が生じる遺伝子群を探索した。幼若期と成熟期を比較すると、少なくとも大脳新皮質で双方の統合失調症様異常発現薬に対する反応性に著明な差が認められることを見出した。さらに、大脳新皮質から、それぞれの薬物に発達依存的応答性を示す複数の遺伝子を検

出し、構造、局在、薬理学的特性、コードタンパク等を解析することにより、統合失調症モデルにおける意義を検討した。

はじめに

統合失調症は、およそ 0.8% の高い発病危険率を示し、大部分が 15 ~ 35 才頃の人生の早期に発症する。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。特徴的な症状は、幻覚・妄想に代表される陽性症状 (発症後に産出されるように見える) と、感情の平板化、思考や会話の貧困、意欲の減退等を中心とする陰性症状 (正常な精神機能が減弱したり欠失したように見える) に分類するのが一般的である。抗精神病薬は陽性症状に対する有効性が高いが、陰性症状はほとんど改善しない。

統合失調症では、遺伝的要因や胎生期や周産期の環境的要因によって、神経細胞や神経回路網の発達障害が引き起こされ、多彩な症状の基盤となる情報処理障害が生ずる可能性が注目されている (1)。すなわち、疫学的研究においては、胎生期、周産期または生後発達期の栄養障害、薬物使用、ウイルス感染、放射線障害、神経発生過程の障害等と統合失調症の関連性が疑われている。神経発達障害を反映する所見として、当初、統合失調症患者死後脳における、ニューロンの配列、サイズ、樹状突起分枝等の変化が注目を集めたが、その後の研究では本症に対する特異性が確認されていない。最近では、1) 分子遺伝学的解析から統合失調症との関連が示唆されている候補遺伝子群が、発達期を通じてシナプスの構造や機能に影響する点や、2) 統

キーワード：統合失調症、発達依存的発症、逆耐性現象、統合失調症様異常発現薬、ストレス感受性
 東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野 (〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45)
 e-mail: tnis.psy@tmd.ac.jp 原稿受領日：2006年5月8日、会誌編集員会依頼原稿
 Title: Schizophrenia as a brain disease with postnatal development-dependent disturbances
 Author: Toru Nishikawa

合失調症患者の死後脳における, bcl-2, GSK3 β , Reelin, NCAM, Oct-6, BDNF, EGF, GAP43, Netrin-G1 and -G2, オリゴデンドロサイトまたはミエリン形成関連遺伝子などの神経発達に關与する遺伝子・タンパクの変化が重要視されている。

このような神経発達障害の観点から統合失調症の病因・病態にアプローチするため, 種々の動物モデルも考案されてきた(2,3)。このうち, a) 生後まもなく腹側海馬のニューロンを神経興奮毒で破壊またはNa⁺チャンネル遮断薬により神経伝導を一過性に阻害したラット, および b) 新生児期にEGF (epidermal growth factor) を皮下投与したラットでは, prepulse inhibitionの異常, あるいは統合失調症様異常発現薬への感受性亢進等の, 統合失調症患者でも観察される変化が思春期以降に認められるようになり, 統合失調症の発達障害モデルとしての有用性が示唆されている。

しかし, 統合失調症は神経変性疾患とは異なり, 脳細胞の明らかな変性・脱落, 炎症等を伴わないことや, 死後脳の所見は長期にわたる抗精神病薬服用の影響を除外できないことなどから, 未知の作動原理に従う脳内システムや病的過程の存在を考慮した, 本症の病因・病態への新たなアプローチも必要な可能性がある(4,5)。そこで筆者ら(4,5)は, i) 統合失調症は一般に思春期以降に発症する, ii) NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬(PCP (phencyclidine), ケタミンなど), ドパミン作動薬(amphetamine, MAP (methamphetamine))をはじめとする覚せい剤, コカインなど)などの統合失調症様異常発現薬が精神機能に及ぼす影響も発達に伴って変化し, 小児期までは成人に比べて精神病状態を誘発しにくい, iii) 統合失調症の発症や再燃のモデルである, ドパミン作動薬誘発性の逆耐性現象は一定の発達期から形成され始め, NMDA受容体遮断薬による行動異常も幼若期と成熟期では差異がある, 等の生後発達における特徴に着目して, 新しい発達神経科学的仮説を提唱し, 薬理学的モデルを活用した統合失調症に關連する脳部位や候補分子の検索を進めている。本稿では, このような試みを紹介するとともに, 統合失調症を含む精神疾患の発症および再発に密接に關与するストレスに対する応答の分子機構の発達についても触れてみたい。

1. 統合失調症の新しい発達神経科学的仮説

これまで, 薬物性の統合失調症様異常が生じ始める年齢については十分に理解されていなかったが, 発達の観点から臨床報告を見直してみると, 統合失調症と同様に思春期以降に生じ易くなることがわかる。たと

えば, PCP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にくい(6,7)。また, amphetamineを投与したときの反応は, 小児と成人では異なる(8,9)。中枢刺激薬が発達障害による小児の多動の治療に用いられる場合には, 幻覚・妄想等の精神症状や依存の出現は成人期に比べはるかに少ないが, 思春期以降は頻度が高まる(10)。このように, 統合失調症や薬物性の統合失調症様異常が発達依存的に発症する現象は, 統合失調症で特異的に障害される情報処理システムが, (1) 思春期頃に機能的成熟を遂げ, (2) 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, (3) 機能的成熟後には精神機能の調節に不可欠な役割を果たすこと, 等を示唆している(図1)(4,5)。

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っても, 思春期までは精神機能に重要な関与をしていないため, 精神症状として顕在化しないと推測される(図1)(4,5)。ところが, 統合失調症特異的システムにおいて, 機能的に成熟すべき思春期以降に異常が生ずると精神機能の発現と調節に重大な障害がもたらされ, 独特な精神症状を伴う統合失調症が発症することが予想される(図1)(4,5)。ただし, 統合失調症患者では, 発症以前からはっきりとした症状ではないが, 神経学的ソフトサインや特有の行動パターン(いわゆる病前性格)のように, 健常者とのわずかな脳機能の差異がしばしば認められることが指摘されており, 統合失調症特異的システムの発達過程の変化を反映している可能性がある(4,5)。

ドパミン作動薬, NMDA受容体遮断薬等の統合失調症様異常発現薬は, 上記のような統合失調症で障害される情報処理システムの変調を引き起こすと考えられる。したがって, そのシステムが完成していない思春期以前には, 統合失調症類似の精神病状態を誘発することができないことになる(図1)(4,5)。この仮説に従えば, 統合失調症で障害される脳内分子は, 思春期以降に統合失調症様異常発現薬の影響を受けるようになるはずであるが, ヒトでの探索は不可能である。このため, 統合失調症モデルとして認められている, 統合失調症様異常発現薬によって成熟期の動物に誘起される異常行動が, ヒトの精神病状態と同様に一定の発達期以降に出現する点(図1)に注目して研究を進めた(4,5)。

統合失調症様異常発現薬のうちドパミン作動薬は, 主として幻覚・妄想等の陽性症状を惹起する(2,5)。これらの薬物を単回または反復投与した実験動物では, その後休薬しても, 長期持続的にドパミン作動薬やス

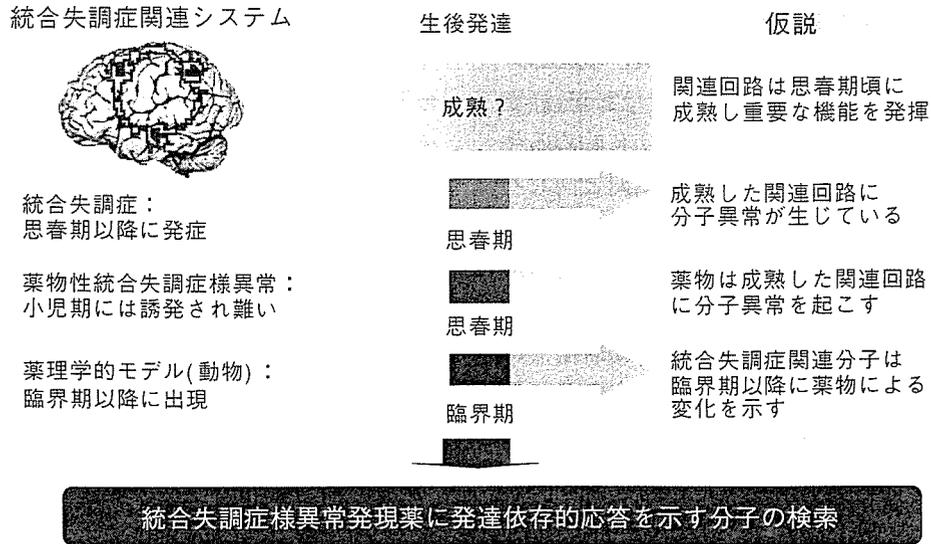


図1 統合失調症で障害される情報処理システムの発達による変化 (仮説)

トレスに対する感受性が高まって異常な行動が発現し易くなり、逆耐性現象、感受性亢進または行動感作と呼ばれる(2, 11, 12)。ヒトの覚せい剤等の乱用後にも、統合失調症との区別が難しい幻覚・妄想状態が生じやすくなる現象が見られ、一群の統合失調症患者の寛解状態では、健常者には精神異常を惹起しない程度の少量のドーパミン作動薬により陽性症状が再発することから、逆耐性現象は統合失調症や覚せい剤精神病の発症や再燃のモデルとして捉えられている。この現象は、ラットやマウスでは生後3週以降にならないと成立しない(2, 11, 12)。

一方、NMDA 受容体遮断薬を使用したヒトには、統合失調症様の陽性症状だけでなく陰性症状も出現する(2, 5)。陰性症状は陽性症状と異なり、統合失調症治療薬(抗精神病薬)が無効なため、NMDA 受容体遮断薬投与動物に見られる抗精神病薬抵抗性の異常行動は、難治性の陰性症状のモデルとして研究されている(2, 5)。PCP, dizocilpine (MK-801) 等のNMDA 受容体遮断薬投与ラットの異常行動も、生後発達時期に伴って変化することが報告されている(13, 14)。

成熟した動物では、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ことから、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(2, 5)。上記の異常行動も特定の発達期(臨界期)以降に出現することと考え合わせると、実験動物にお

いて、臨界期以降に統合失調症様異常発現薬に反応して発現または機能の変化を示すようになる遺伝子を見出せば、統合失調症で障害される分子カスケードに関連することを期待できる(図1)(4, 5)。

2. 統合失調症様異常発現薬による脳の情報処理障害の発達変化

特定の脳内情報処理システムの発達に依存した分子異常を想定する発達神経科学的仮説が成立するためには、少なくとも、実験動物の脳において、統合失調症様異常発現薬投与時の脳の活動性変化が、臨界期をはさんだ幼若期と成熟期で明らかな差異を示す脳部位が認められなければならない(4, 5)。この点を検証するため、各発達段階のラットに統合失調症様異常発現薬である、MAP または PCP を急性投与し、c-fos 遺伝子産物 c-Fos の発現を指標として、脳の活動性変化を調べた。c-fos 遺伝子は基礎的発現がきわめて少なく様々な刺激に応答して一過性に発現するため脳の活動性のマッピングに広く応用されている(12, 15, 16)。

成熟期のラットにおいて、MAP と PCP の急性投与後に発現する c-Fos の脳内分布は異なる(12, 15, 16)。これは、MAP を含むドーパミン作動薬が統合失調症様の陽性症状を引き起こすのに対して、PCP その他のNMDA 受容体遮断薬が陽性症状に加えて陰性症状類似の精神障害を誘発することから、両群の薬物が影響する情報処理システムに差があることを反映していると考えられる。

MAP 急性投与後に発現が誘導される c-Fos の分布

パターンは、逆耐性現象（前節参照）が成立しない幼若期と確実に形成される成熟期の間で、大脳新皮質や線条体において著しく異なり、梨状葉皮質、嗅結節、中隔などでは目立たないことがわかった(12, 15)。さらに、この発現パターンは、逆耐性が成立し始める生後 21 ~ 25 日頃からほぼ一定となり、成熟期と同じパターンを示した(5, 12, 15)。

PCP による c-Fos 発現のパターンも、統合失調症モデルとして応用されている異常行動が出現する成熟期と、それとは異なる行動変化が見られる幼若期では、少なくとも大脳新皮質では著明な差異が認められ、行動変化の臨界期頃に成熟期のパターンに移行した(図 2) (5, 16)。これに対して、梨状葉皮質、嗅結節、中隔などでは発達に伴う変化が目立たなかった(図 2) (5, 16)。

以上の結果は、ラットの脳において、統合失調症で障害される情報処理システムと類似の神経システムが、生後発達とともに変化して臨界期頃に成熟することを支持している。また、これらのシステムは c-Fos 発現の変化が著明な大脳新皮質あるいは線条体に存在する可能性が高いことが示唆される(4, 5)。

3. 統合失調症様異常発現薬に発達依存的応答変化を示す遺伝子

c-Fos の実験結果をもとに、RAP-PCR 法を取り入れた differential cloning を行い、統合失調症関連候補遺伝子として、ラット大脳新皮質で逆耐性現象の臨界期以降に MAP への応答を示す遺伝子を探索し、新規遺伝子 *mrt1* (MAP-responsive transcript 1) および *mrt3* を検出した。*mrt1* の解析を進めたところ(17, 18), (1) PDZ および PX ドメインをひとつずつもった 2 種類のタンパク Mrt1a および Mrt1b をコードする、(2) 成熟ラットの大脳新皮質において MAP 投与後に発現が増加するのは、脳のシナプトゾームに豊富な Mrt1b に対応する *mrt1b* mRNA であり、末梢組織優位に発現する Mrt1a に対する *mrt1a* mRNA は有意な変化が生じない、(3) *mrt1b* の MAP 応答性は、逆耐性現象が形成され始める生後 3 週以前には見られない、(4) 成熟期において、*mrt1b* mRNA はコカイン投与後にも増加するが、逆耐性を形成しないペントバルビタールや逆耐性の成立を阻害する D1 型 DA 受容体遮断薬投与後には変化しない、(5) MAP 急性投与時に D1 受容体遮断薬を前処置しておくとも *mrt1b* mRNA レベルの増加が認められなくなる、(6) MAP を反復投与し逆耐性が形成された成熟ラットでは、*mrt1b* mRNA の基礎的発現が上昇し、MAP またはコカインをチャ

レンジしても、*mrt1b* mRNA の発現は変化しない、(7) MAP 反復投与時に毎回 D1 受容体遮断薬を前処置すると、逆耐性が形成されなくなるとともに、*mrt1b* mRNA の基礎的発現の上昇も認められなくなる、等の特徴をもつことがわかった。これらの結果から、*mrt1b* mRNA は、逆耐性現象と類似した薬理学的反応性を持ち、既に逆耐性が成立した動物の脳では、逆耐性が未形成の動物のような MAP やコカインに対する応答が認められないことが明らかになった(17, 18)。したがって、*mrt1b* および Mrt1b タンパクは逆耐性の形成と維持に関与する分子カスケードの構成因子であり、統合失調症の陽性症状の病態に関係している可能性があることが示唆された(5, 17, 18)。

大脳新皮質で PCP に発達依存的応答を示す遺伝子としては、RAP-PCR 法や DNA マイクロアレイ法を用いた differential cloning により、*prt1* (PCP-responsive transcript 1)、*prt4* 等が検出された(未発表データ)。*prt1* (5, 19) は、(1) 複数の PDZ ドメインを含むシナプスタンパクをコードし、(2) 成熟期大脳新皮質の *prt1* mRNA は他の NMDA 遮断薬によって増加するが、ドパミン作動薬による有意な変化は生じない、などの特徴があり、統合失調症の陰性症状への関与が推察される。

このように、仮説上の分子であった、統合失調症様異常発現薬に対する応答が発達に伴って変化する分子が脳に存在することがわかった(5)。これらの分子は、薬理的に統合失調症状と関連することが示唆されており、統合失調症がなぜ思春期以降に発症するのか、生後発達期において統合失調症に関連する情報処理システムにどのような障害が生じているのかなどの課題を解く手がかりになると考えられる。現在さらに、検出された遺伝子の生理的機能とその病態を検討するため、神経解剖学的解析や遺伝子改変動物の作製を行うとともに、ヒト相同遺伝子について、統合失調症および他の精神疾患患者のゲノム解析を進めている。

4. ストレス応答の分子機構の発達と統合失調症

他の精神疾患と同様に、統合失調症の発症や再発にはストレスが重要な役割を果たすと考えられている。しかし、統合失調症のストレス脆弱性の分子メカニズムについては不明な部分が多い。筆者らは、逆耐性現象では統合失調症様異常発現薬だけでなくストレスへの感受性が亢進することや、逆耐性形成の発達とはパターンが異なるが、ストレス反応でも生後発達期と成熟期の間で大きな差が見られることに着目し、年齢によってストレス応答が変わる脳部位や分子についても検

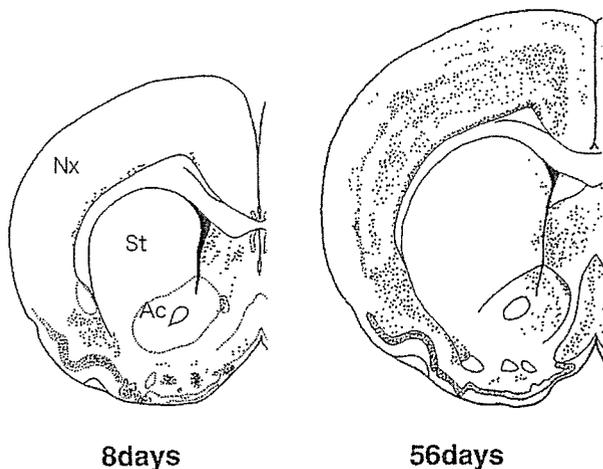


図2 生後8日と56日におけるPCP投与後のc-Fos発現の分布(模式図)
黒点はc-Fos陽性細胞核を示す。図の脳切片は、線条体(St)、大脳新皮質(Nx)、側坐核(Ac)を含む前脳部の前額断

討を行っている。すなわち、全身的ストレス負荷後の副腎皮質ステロイドの上昇は、ラットにおいて生後2日から14日頃まで極めて低く、この期間は「ストレス低反応期(stress hyporesponsive period)」と呼ばれている(20)。

実験では、ストレスラーとして不安惹起性のベンゾジアゼピン受容体逆アゴニストFG-7142(N-methyl- β -carboline-3-carboxamide)を使用した(20)。その理由は、FG-7142が、1) コルチコステロンの血中濃度を増加させる、2) 前頭葉皮質選択的にドーパミン代謝を亢進させる、3) 脳内ノルアドレナリン遊離を促進する等の、全身的ストレスと共通の効果を引き起こし、拘束をはじめとする物理的ストレスと比較して、投与量を変えることによってストレス強度をより正確に調節できる点が優れているからである(20)。FG-7142投与ラットの脳内各部位におけるc-fos遺伝子産物c-Fosの発現を調べたところ(20,21)、ストレス低反応期中の生後8日齢と成熟期の生後56日齢の間で、その分布パターンが、大脳旧皮質、視床室傍核、扁桃体中心核等をはじめとして両時期間で差が目立たない部位と、大脳新皮質、中隔外側部、外側手綱核、扁桃体内側核等のほか、著明に変化する部位があることがわかった。特に、大脳新皮質(isocortex)のc-Fos様免疫反応は、成熟ラットにおいてII~IV層の広い範囲で強く認められたのに比し、幼若ラットではきわめて少なくVI層にほぼ限局している特徴があった(21)。これらの結果は、ストレス応答に関与する情報処理システムが、統合失調症様異常発現薬に反応

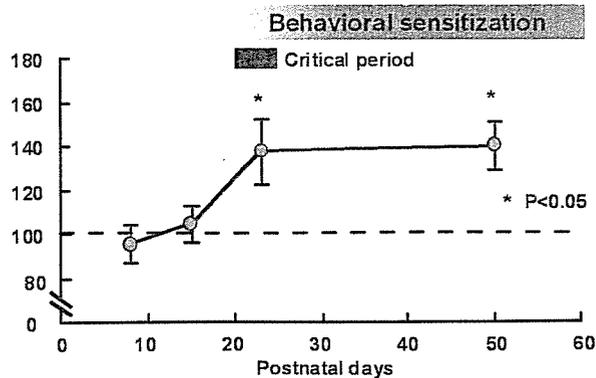


図3 生後発達にともなうMAP投与後のmrt1 mRNAの発現の変化
逆耐性現象(behavioral sensitization)の臨界期(critical period)との関係を示す

する情報処理システムのように年齢に伴って変化し、成熟する臨界期をもつことを示唆している(20,21)。また、ストレスと統合失調症様異常発現薬の発達期による影響の差異が、共通して大脳新皮質で最も大きいことから、双方のシステムが大脳新皮質において相互作用をもつ可能性がある。

さらに、大脳新皮質より、FG-7142による発現誘導が生後8日には見られないのに対し、生後56日に著明に認められる遺伝子群が検出され、その中には成熟期に拘束ストレス、yohimbine等のストレスラーにも応答するものが見出された。これらの遺伝子は、上述した大脳新皮質のストレス関連情報処理システム内の分子カスケードを構築すると推測され、mrt1, prt1を初めとする統合失調症様異常発現薬に年齢依存的応答を示す遺伝子との関連性に興味を持たれる。

おわりに

統合失調症様異常発現薬やストレスに対して、一定の発達期(臨界期)以降に成熟期型の応答を獲得する脳部位と遺伝子が存在することは、筆者が提唱した統合失調症の新しい発達神経科学的仮説を支持していると考えられる(図1)。今後は、これら遺伝子のゲノム構造的および神経解剖学的特徴、発達依存的発現制御機構、相互作用等を検討することにより、統合失調症の病因・病態と年齢依存的発症やストレス脆弱性の神経回路・分子メカニズムへのアプローチを試みたい。

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科学分野において、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，海野*，柏*，山本*，梶井*，平岡，戸田，佐藤，藤山，村岡*，黒田*；東京医科歯科大学 (*を含む)，石井，櫻井，伊藤，金子，竹林。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。

文 献

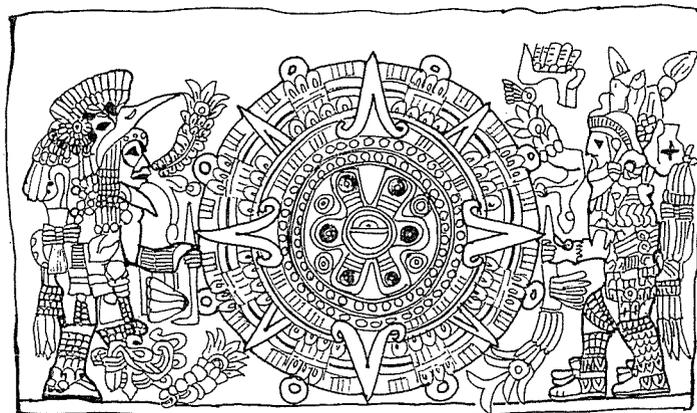
- 1) Rapoport JL, et al. Mol Psychiatry. 2005;10:434-449.
- 2) 西川 徹. Mol Medicine. 2003;40:270-278.
- 3) Futamura T, et al. Mol Psychiatry. 2003;8:19-29. Erratum in: Mol Psychiatry. 2003;8:565.
- 4) 西川 徹, 他. 精神科治療学. 1997;12:617-623.
- 5) 西川 徹. Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 星和書店; 2004. p. 48.
- 6) Reich DL, et al. Can J Anaesth. 1989;36:186-197.
- 7) White PF, et al. Anesthesiology. 1982;56:119-136.
- 8) Rapoport JL, et al. Arch Gen Psychiatry. 1980;37:966-943.
- 9) Rapoport JL, et al. Science. 1978;199:560-562.
- 10) Griffith JD. Drug addiction II. Springer-Verlag, Berlin; 1977. p. 277-291.
- 11) Fujiwara Y, et al. Psychopharmacol. 1987;91:316-319.
- 12) Nishikawa T, et al. In neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders. Excerpta Medica, Ltd; 1993. p. 53-62.
- 13) Scalzo FM, et al. Neurotoxicology. 1994;15:191-200.
- 14) Scalzo FM, et al. Neurotoxicol Teratol. 1992;14:7-14.
- 15) Umino A, et al. Neurochem Int. 1995;26:85-90.
- 16) Sato D, et al. Neurosci Lett. 1997;239:21-24.
- 17) Kajii Y, et al. Mol Psychiatry. 2003;8:434-444.
- 18) Fujiyama K, et al. Synapse. 2003;49:143-149.
- 19) 平岡秀一, 他. 精神薬療研究年報. 2000;32:17-3221.
- 20) Nishikawa T, et al. PTSD: Brain mechanisms and clinical implications. Springer-Verlag Tokyo, Inc; 2006. p. 3-11.
- 21) Kurumaji A, et al. J Neural Tranm. 2003;110:1161-1168.

著者プロフィール

西川 徹 (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，教授。

◇ 1985年東京医科歯科大学大学院医学研究科修了，医学博士。同大学医学部附属病院精神科研修医，Synthelabo-L.E.R.S. 研究所（フランス）ポストドクトラルフェロー，国立精神・神経センター神経研究所，室長および部長等を経て，'99年より現職。統合失調症を中心に精神疾患の病因・病態の分子機構に関する研究を行っている。最近の著書としては，「Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—。東京，星和書店，2004，p48。」がある。



X.H

太陽の石（アステカ文明）

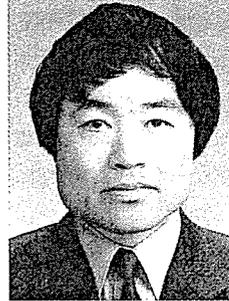
アシル化アミノ酸の行動薬理学的評価
 —脂質による高次脳機能異常改善作用の機序を中心に—
 Behavioral Pharmacological Studies on N-Acyl Amino Acids
 — Focus on Ameliorating Effects of Disturbed Higher
 Brain Functions —

日比野英彦

日本油脂株式会社食品事業部
 〒150-6019 東京都渋谷区恵比寿 4-20-3

Hidehiko HIBINO

Functional Foods Division
 NOF CORPORATION 20-5 Ebisu,
 4-Chome, Shibuya-ku, Tokyo, 150-6019
 JAPAN



西川 徹

東京医科歯科大学大学院
 精神行動医学分野
 〒113-8519 文京区湯島 1-5-45

Toru NISHIKAWA

Section of Psychiatry and Behavioral
 Sciences, Tokyo Medical and Dental
 University Graduate School
 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo
 113-8519, JAPAN

論文要旨：D-セリン，D-アラニン等のアミノ酸は，記憶・学習を初めとする高次脳機能に関与するN-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）型グルタミン酸受容体の刺激を介して精神神経障害を改善することが期待されている。しかし，血液脳関門通過性が低く，末梢投与により臨床効果を得るためには極めて高い用量を必要とする。この難点を克服する試みとして，D-セリンに脂溶性を賦与し，その血液脳関門通過性を行動薬理学的に評価した。腹腔内投与したアシル化D-セリンは，NMDA受容体阻害剤誘発性の統合失調症モデルである中枢性の異常行動を抑制した。この抑制効果は，D-セリンが選択的に作用する本受容体アロステリック調節部位の拮抗薬を脳室内に注入することにより減弱した。以上の結果から，アシル化D-セリンが血液脳関門を通過して脳内のNMDA受容体機能を賦活することが支持され，脂溶性を高めたアミノ酸が精神神経疾患の治療に有用な可能性が推測された。

Abstract: Because N-Methyl-D-aspartate (NMDA) type glutamate receptor has been considered to be involved in the higher brain functions such as learning and memory, facilitating effects of glycine, D-serine and D-alanine on the NMDA receptor-mediated transmission are expected to ameliorate a variety of neuropsychiatric disorders. However, the low ability of these polar amino acids to cross through the blood-brain barrier (BBB) would be a serious disadvantage in their systemic administration for the clinical application. Indeed, extremely large doses of glycine and D-serine have been reported to be required to attenuate schizophrenic symptoms. To overcome this disadvantage through increasing the fat solubility of D-serine, the authors designed and synthesized N-acyl D-serine and evaluated its permeability of the BBB by testing in the rat the effects of the N-acyl compound on abnormal behavior induced by a potent NMDA antagonist schizophrenomimetic, phencyclidine, which is thought to be a model of schizophrenia. Intraperitoneal injection of the N-acyl D-serine attenuated the phencyclidine-induced abnormal behavior and this attenuation was diminished by intraventricular application of a selective antagonist for the glycine modulatory site of the NMDA receptor at which D-serine acts as a selective agonist. These data support the BBB permeability of the acyl D-serine and suggest that certain fat soluble amino acids could be useful for the treatment of neuropsychiatric disorders.

連絡者：日比野英彦
 E-mail: hidehiko_hibino@nof.co.jp

Key words: N-methyl-D-aspartate receptor, brain blood barrier, D-serine, N-acyl amino acid, behavioural pharmacology, glycine modulatory site, neuropsychiatric disorders

1 はじめに

記憶の形成は神経細胞間の情報伝達効率が密になることから始まる。神経細胞間の情報伝達は神経伝達物質が担う。神経細胞は神経伝達物質の放出と受容で情報を交換している。反復刺激を受けて情報伝達を制御する膜物質の構造変化や量の増加が記憶を形成すると考えられている。脳への短時間で高頻度の刺激で誘導される誘発電位の長期増強 (long-term potentiation ; LTP) はシナプス連結部の効率を持続的に増加する, そのため, この現象は記憶や学習のシナプスモデルとして認められて来た。記憶の形成を促進する刺激がプレシナプス (前神経細胞) に到着すると, プレシナプスの神経終末のシナプス小胞からグルタミン酸がシナプス間隙に放出され, このグルタミン酸はポストシナプス (後神経細胞) の細胞膜上にあるグルタミン酸受容体と結合し, 記憶の形成を促進する刺激は伝達される¹⁾。

著者らはアミノ酸, とくに中枢領域での薬理作用が期待されるセリン, アラニンに親油性を付与して脳血液関門通過性の可能性からそのアシル化物に注目した。脳血液関門通過をグルタミン酸受容体の一種である N-メチル-D-アスパラギン酸受容体に関与する薬剤に対する動物の行動を計測することにより評価した。この受容体の活性化は記憶や学習の形成を促進することから, 天然由来の脂質でも同様な評価が得られれば, その脂質は

中枢機能賦活に適した物質であると位置付けられる。本総説では, 中枢機能賦活脂質の開発を目的に推進した研究内容のうち, 行動薬理学による評価を中心に述べる。

2 神経伝達物質となるアミノ酸の補給

2.1 神経伝達物質²⁾

神経伝達物質は, 「一つの神経が興奮すると軸索の末端からその神経に特有の化学物質をシナプス間隙に放出する, 他の神経の樹状突起側にはその化学物質のみを認識するタンパク質から構成される受容体が存在し, 化学物質と結合すると化学反応を起こして神経興奮を伝える」このような性質をもっている。神経伝達物質には, タンパク質の構成成分であるアミノ酸を原料に神経細胞が合成するモノアミン, 脳内アミン, アセチルコリンなどのアミン類, 直接伝達物質として作用するアスパラギン酸, グルタミン酸, γ -アミノ酪酸などのアミノ酸類, アミノ酸が数種類結合したオリゴペプチド類, さらにプリン類がある (Table 1)²⁾。神経伝達物質の材料となる必須アミノ酸にはノルアドレナリンの原料であるフェニルアラニン, セロトニンの原料であるトリプトファン, コリンの原料であるメチオニンがあり, 神経伝達物質の作用を持つ非必須アミノ酸にはアスパラギン酸とグルタミン酸がありモノアミンの原料になるチロシンとアセチルコリン合成に関与するセリンがある。とくに, セリンは後述する興奮性受容体の神経調節物質である。

Table 1 神経伝達物質の種類

神経伝達物質			
アミノ酸	GABA (γ -アミノ酪酸) アスパラギン酸 グルタミン酸, セリン グリシン タウリン	ペプチド	エンケファリン モチリン ニューロメジン (A, B, C) ニューロペプチド Y ニューロテンシン オキシトシン ソマトスタチン サブスタンス P THR (甲状腺刺激ホルモン刺激ホルモン) LHRH (黄体形成ホルモン刺激ホルモン) VIP (血管作動性腸管ポリペプチド) バゾプレッシン
アミン	ドーパミン ノルアドレナリン アドレナリン セロトニン メラトニン ヒスタミン アセチルコリン		
ペプチド	アンギオテンシン カルノシン コレシストキニン エンドルフィン	プリン	アデニン AMP ADP ATP

中川八郎, 脳の栄養, p.51, 共立出版, 1988

2.2 神経伝達物質の材料の輸送³⁾

神経伝達物質の材料となるアミノ酸が不足しても、直接の前駆体となるアミノ酸が不足しても、神経伝達物質は欠乏してしまうので伝達作用に支障が起こる可能性がある。そのため、脳で不足したアミノ酸の内、必須アミノ酸を食餌性に、非必須アミノ酸を食餌性や体内合成して脳内に取り込んでいる。脳の神経細胞は、密着結合と呼ばれる様式で接合している内皮細胞によって構築されている脳内の毛細血管にある脳血液関門 (BBB) から必要な物質のみを選択的に輸送している。毛細血管上皮細胞の外側の神経細胞側を星状神経膠細胞が取り巻いている。この神経膠細胞の細胞質膜にも特定の物質のみを通過させる輸送系をもっているの、神経細胞は内皮細胞の関門と膠細胞の輸送系と合わせて二重の関門が存在する。細胞の膜は二重構造となり、外側も内側もリン脂質から構成されているので、脂溶性の低い物質や帯電物質は通過出来ない。無機イオンであればイオンチャンネルやポンプ、グルコースやアミノ酸などの物質ではそれに特有の輸送体が膜内に存在するもののみが通過できる。

2.3 アミノ酸の補給⁴⁾

血管内皮細胞を簡単に通過し得ない物質にも輸送体が存在すれば細胞膜内に入り得る。アミノ酸の輸送体には大きくアラニンを代表とする A 系, ロイシンを代表とする L 系, 酸性アミノ酸を代表とするジカルボン酸系, 塩基性アミノ酸系の 4 種類が存在する。実際に脳の神経細胞には全ての系の輸送体が存在する。BBB を構成する血管壁の脳細胞膜には中性アミノ酸の輸送体は A 系, L 系, アラニン・セリン・システインの ASC 系が存在するが、内皮細胞膜では 1 種類の輸送体が、脳細胞膜にある 3 種類の輸送系で運送するすべてのアミノ酸に対応している (Fig. 1)⁴⁾。

本総説で対象としているセリンやアラニンなどの短鎖中性アミノ酸は BBB で同じ輸送体に運ばれて細胞膜を

通過し、脳細胞膜にある A 系と ASC 系によって脳細胞に取り込まれていると推定される。

しかし、BBB は一つの輸送体しか存在しないため、セリンやアラニンも他のアミノ酸と競合するので、例え、BBB の外から与えて血中濃度を高めても、他のアミノ酸濃度によっては取り込まれない。血中の中性アミノ酸では分岐鎖アミノ酸の濃度が高いため、これらのアミノ酸の濃度を低下させないと脳内のセリンやアラニンを増加させることは難しいとも考えられる⁵⁾。

3 N-メチル-D-アスパラギン酸受容体⁶⁾

グルタミン酸受容体は学習と記憶に関与し、特に、記憶の基礎過程と考えられている LTP の発現には N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体の賦活が必要である。

このグルタミン酸受容体は、電気生理学および分子生物学的研究から、イオンチャンネル型受容体と代謝調節型受容体の 2 つに大別され、イオンチャンネル型受容体はさらに作動薬に対する受容体親和性の違いから、NMDA 受容体, α -アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチルイソキサゾール-4-プロピオン酸 (AMPA) 受容体およびカイニン酸受容体の 3 つのサブタイプに分類される。

遺伝子ノックアウト法、行動学、電気生理学、形態学の統合的適用により、NMDA 型グルタミン酸受容体などの分子が記憶・学習に重要であることが示されている。NMDA は神経系のグルタミン酸受容体のアゴニストであり、D-アスパラギン酸は神経内分泌や内分泌系の調節作用を有すると考えられている。プレシナプスから放出された中枢神経系の伝達物質であるグルタミン酸に対して、最初、反応するのは受容体で、AMPA 受容体がグルタミン酸に反応することで活性化されナトリウムイオンを開放するのでポストシナプス膜を脱分極 (興奮性ポストシナプス電位 excitatory postsynaptic potential ; EPSP) させる。この EPSP が刺激となり通常は遮蔽されている NMDA 受容体チャンネルのマグネシウムイオンが外れ、NMDA 受容体が活性化される。その結果、細胞内にカルシウムイオンが流入し、カルシウム・カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II あるいはプロテインキナーゼ C が活性化され、最終的には LTP が形成される。AMPA 受容体による EPSP の頻度が多いと NMDA 受容体が活性化されて AMPA 受容体のリン酸化現象を促進させる。AMPA 受容体はリン酸化されることで感受性がアップする。これが海馬や大脳皮質で起こる LTP のメカニズムである。

NMDA 受容体は、細胞外からナトリウムイオンやカルシウムイオンを流入させ、細胞内からカリウムイオン

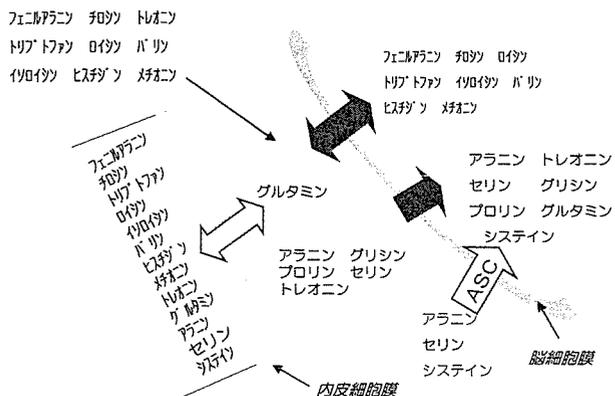


Fig. 1 血液・脳関門におけるアミノ酸の輸送
W.M. Pardridge, *Physiool., Rev.*, 63. 1481-535 (1983)

を通過させるイオンチャンネルを構成しており、グルタミン酸結合部位 (Glu) の他にグリシン結合部位 (Gly), マグネシウムイオン結合部位 (Mg^{2+}), フェンサイクリジン結合部位 (PCP), ポリアミン結合部位 (Poly) などの種々の調節部位を持っている (Fig. 2)⁶⁾。この調節部位は基質と立体構造を異にする物質によって受容体活性を調節する部位 (アロステリック調節部位: allosteric modulatory site) であり, この部位に選択的に結合する化合物として, D 体アミノ酸が知られている。また, 生物体内, とくに高等動物体内に含まれているアミノ酸

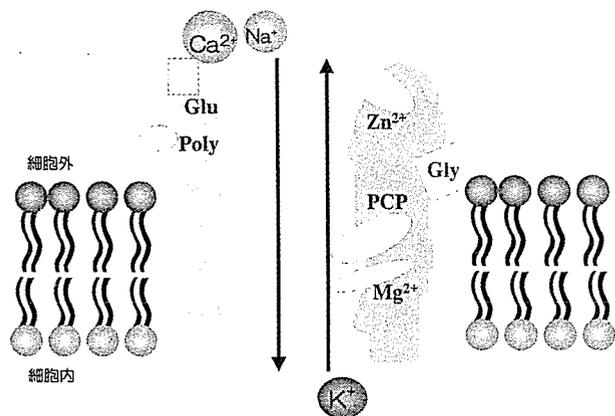


Fig. 2 NMDA 受容体イオンチャンネル模式図

は L 型のみというのが常識であったが, D 型アミノ酸が予想以上に高濃度に存在することが明らかになっている⁶⁾。哺乳類の脳神経系では, D 型アミノ酸がグルタミン酸受容体の神経調節物質として働いていると考えられている。特に, セリンは脳選択的に集積し, 脊髄, 末梢各組織および血液中ではさきわめて低濃度である。脳内セリンの分布も不均一で, 前脳各部位では高濃度であり, 間脳, 中脳では中等度から低濃度である。この脳内分布は, NMDA 受容体のグルタミン酸, PCP およびグリシン (Fig. 3A) の各結合部位の密度分布と強い正の相関を示している (Fig. 3B)⁶⁾。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, 細胞外への放出系, 取り込み機構, 分解系などが存在すると推定される。細胞外液中の D-セリンは, 少なくともグルタミン酸受容体のシナプスにおいて 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定される高親和性結合部位が検出されるが, 分子の実体と局在は不明である。グルタミン酸はグリア細胞の非 NMDA 型受容体を介して D-セリンの放出を促進するという説がある⁶⁾。D-セリンの生合成および分解の経路はアストロサイト以外にも存在する可能性がある (Fig. 4)⁶⁾。NMDA 受

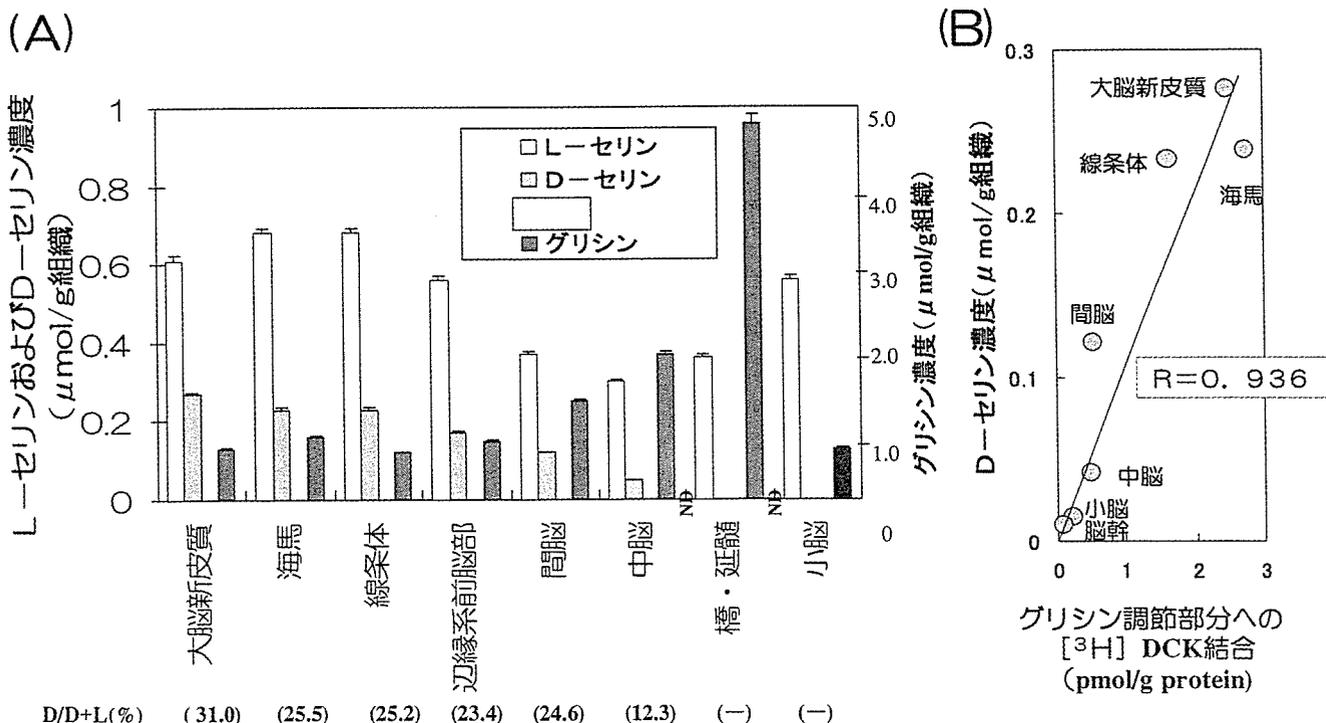


Fig. 3 脳内 D-セリン分布

A: 成熟ラット脳各部位における L-セリン, D-セリンおよびグリシンの組織中濃度の比較, ND は検出感度以下を示す。
 B: 脳各部位の D-セリン濃度と, NMDA 受容体グリシン調節部位密度 [グリシン調節部位の選択的遮断薬 5,7 ジハイドロオキシキヌレン酸(DKC)により標識] との関係。相関係数(r)は 1 に近く, 両者が酷似した分布をしていることがわかる。
 文献 6)より改変

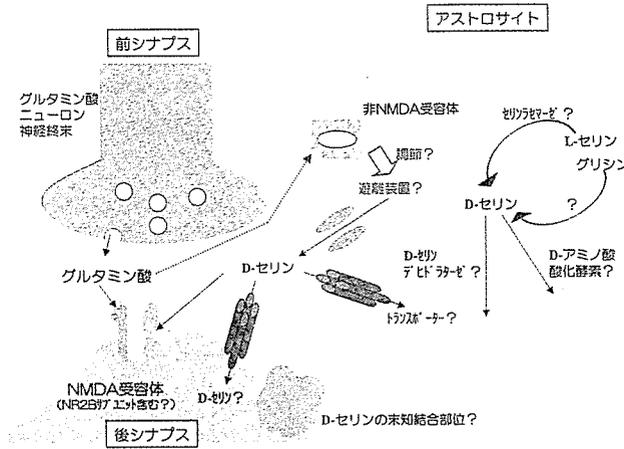


Fig. 4 脳内 D-セリン動態の模式図 (仮説) 文献 6)より改変

容体関連の受容体活性化剤, グリシン結合部位活性化剤, グリシン結合部位拮抗剤, NMDA 受容体遮断剤の化学構造を Fig. 5 に示した。

4 評価系としての NMDA 受容体

PCP は NMDA 受容体と共役するイオンチャンネル内の特異的結合部位 (PCP 結合部位) に作用して NMDA 受容体を介する神経伝達を非競合的に阻害する⁷⁾。このように PCP 結合部位のアゴニストは NMDA 受容体機能の遮断作用により動物に異常行動を引き起こす⁸⁾。一方, NMDA 受容体は Fig. 4 で述べたようにアロステリック調節部位の一つであるグリシン結合部位 (ストリキニーネ非感受性) を持ち, その部位の作動薬 (アゴニスト) は PCP の様な阻害剤とは反対に NMDA 受容体機能を促進するため, 抗 PCP 作用を示し動物の異常行動を抑制することが期待される。このアゴニストの候補にグリシン, アラニン, セリンがある⁸⁾。

そこで本総説では, PCP によって引き起こされる動物の異常行動を指標として, アロステリック作動薬のアミ

ノ酸及びそのアシル化物 (脂溶性の脂肪酸誘導体) の抑制効果によって脳内へのこれらの物質の取込みを評価した。

5 N-アシルアミノ酸の合成 (D-セリンの例)

従来, アミノ酸の脂肪酸誘導体の合成には脂肪酸クロライド法が採用されていた。脂肪酸クロライド法はアミノ酸をアルコールでエステル化し, そのエステルと脂肪酸クロライド等の活性化カルボン酸とを有機溶媒中で反応させた後, エステル結合を加水分解する方法であり, 経済性にも優れていた。しかし, 脂肪酸クロライド法では, 中間生成物であるアミノ酸エステルを充分精製しても, 加水分解後には種々の副産物の生成が認められる。また, D 体アミノ酸の場合, ラセミ化の可能性が大きい。同時に目的物の純度低下の原因となる微量不純物の混入も問題となる。そこで, 合成にはアミノ酸と活性化脂肪酸とを水中で反応させることにより, 加水分解を必要としない方法を採用した。

合成目的としたアミノ酸の脂肪酸誘導体は N-ミリストイル-D-セリン (NMD-Ser) と N-ミリストイル-L-セリン, N-ミリストイル-D-アラニン (NMD-Ala) および N-ミリストイル-L-アラニンであり, NMD-Ser と NMD-Ala の化学構造を (Fig. 6) に示した。

DSP (4-Hydroxyphenyl dimethyl sulfonium methyl sulfate) 法を用いてアミノ酸として D-セリン, 活性化脂肪酸としてミリストイル DSP を使用した NMD-Ser の場合の合成 (Fig. 7) と精製について下記に示した。

フラスコに DSP, ミリスチン酸及びアセトニトリルを計量し 35~40℃ で攪拌して完全に溶解させる。60℃ に加温したジシクロヘキシル尿素 (DCC) をアセトニトリルでフラスコに洗い込み, 35~40℃ で 2~5 時間緩く攪拌し, さらに室温で 12 時間続行する。反応液を 25℃ で

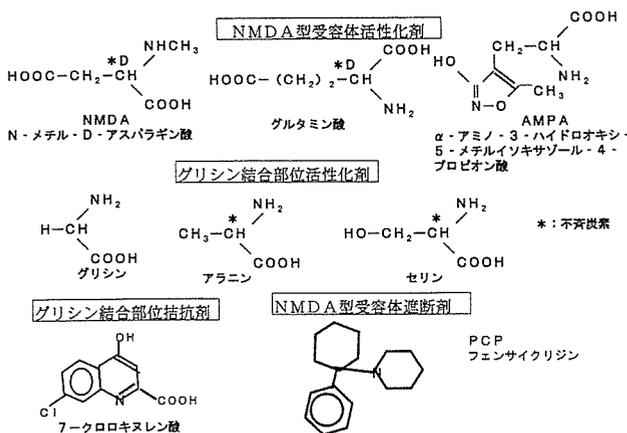


Fig. 5 NMDA 受容体関連化合物

与の5分前に腹腔内注射した)におけるドーパミン量の減衰を検討した。ドーパミンは電気化学検出器付き HPLC によって分離定量した。蛋白質は Lowry 法に従って測定した。

6.1.2 行動の評価

行動観察は PCP (10 mg/kg) をラットの腹腔内投与し、その10分後より開始し90分後まで20分毎に Sturgeon らの尺度を改変した6段階スコアに従って評価した¹²⁾。

行動評価尺度は移所運動と常同行動で行った。移所運動 (11×12 cm のマス目を横切る回数を参考に用いる)、0: 通常と変わりなく、少ししか場所を変えないかほとんど動かない、1: ケージの限局した部位を間歇的に低頻度で動く、2: 小範囲を間歇的に低～中程度の頻度で動く、3: 小範囲を持続的に、かつ中程度～高い頻度で動く、4: 広範囲を間歇的に、低～中程度の頻度で動く、5: 広範囲を絶え間なく、かつ中程度以上の頻度で動く: 常同行動、0: 常同行動は認められない、1: 移所運動, sniffing (くんと臭い嗅ぎ), grooming (毛繕い) などが対象群よりも多い、2: 時々 sniffing, head weaving (頭を左右に振る), rearing (後ろ足で立つ), turning (旋回) が見られる、3: 中程度の頻度で sniffing, head weaving, rearing, turning, backpeddling (後退り) が出現する、4: turning, backpeddling, sniffing, head weaving などが持続的に出現する、5: ギクシャクした四肢、頭部、頸部の動きが認められる。

移所運動量の評価はスコアだけでなく行動測定装置による自動測定によっても行った。すなわち、ラットを一匹ずつプラスチックケージに入れ (21×37 cm), MK-ANIMEX (室町機械社製) を用いて移所運動量を測定した。各処置群間の比較は、90分間の累積スコアあるいは移所運動量の合計について行った。PCP 投与群では、移所運動量の増加、常同行動および運動失調などの異常行動が認められた。

実験結果の統計学的解析には、Kruskal-Wallis test (行動評価スコアおよび不等分散になる生化学的結果の比較) あるいは一元分散分析 (等分散のデータ) に基づく、多量比較法 (Duncan 型検定) を用いた。

6.1.3 抑制試験結果⁹⁾

① アミノ酸の側脳室投与

PCP の腹腔内投与後に発現する異常行動に対するアラニンとセリンの影響を測定した。PCP 投与10分前に D-アラニンを脳室内に投与しておく、PCP による移所運動量の増加、常同行動の出現は用量依存的に抑制された。D-セリンを脳室内に投与しておく、D-アラニンと同様に PCP による常同行動の増加を抑制したがその

拮抗作用は D-アラニンよりも弱かった。

D-セリン単独投与による異常行動の発現は認められなかったが、L-セリンは 100 μg / 匹より多量に注入すると動物に痙攣を誘発した。それ以下の用量を注入しても、PCP による移所運動量の増加や常同行動に対する抑制効果はほとんど認められなかった。PCP 投与後に見られる運動失調は、L-アラニン、D-アラニンおよび L-セリンによって改善されたが、D-セリンの効果は有意ではなかった (Fig. 8)。

L-アラニンは PCP による常同行動惹起作用をやや抑制する傾向を認めたが、その拮抗作用は D-アラニンよりも弱く立体異性体による差が明らかであった。L-アラニンは、PCP による移所運動量の増加にはほとんど影響しなかった。また、D-および L-アラニンが運動失調を改善する作用を比較すると、D 体の方が強い傾向があった (Fig. 9)。生理食塩水、L-アラニンおよび D-アラニンの単独投与では常同行動のスコアは 0 であった。

L-セリンの痙攣誘発作用を除いて、これらのアミノ酸の単独投与による異常行動の発現、移所運動量の増加や常同行動および運動失調などはみられなかった。

アロステリック作動薬である D-アラニンまたは D-セリンを脳室内に注入すると、全身的に投与した PCP によって引き起こされる前頭葉皮質のドーパミン伝達促進や常同行動の発現を抑制されることが明らかになった。PCP が前頭葉皮質のドーパミン代謝を賦活する効果は、主に PCP の NMDA 受容体遮断作用によることが示唆されている。

D-アラニンは NMDA 受容体複合体内のグリシン結合部位に作用して、NMDA 受容体を介する興奮性アミノ酸伝達を増強することから、D-アラニンが PCP の前頭葉皮質ドーパミン代謝促進作用に拮抗する事実は、以上の考え方を支持する。この拮抗作用は L 体よりも D 体の方がはるかに強力であり、NMDA 受容体のアロステリック調節部位 (ストリキニーネ非感受性グリシン結合部位) に対する親和性の立体特異性と一致した¹³⁾。

② アシル化アミノ酸の腹腔内投与

アシル化アミノ酸の腹腔内投与、すなわち、BBB の外からの投与により誘導される中枢機能の観察により本誘導体の脳内への到達を間接的に確認する¹¹⁾。

NMD-Ala および NMD-Ser を PCP 投与10分前に腹腔内注射させたラットでは、PCP によって引き起こされる移所運動量の増加や常同行動が、これらの誘導体の用量依存的に抑制された。NMD-Ser 200 mg/kg 投与群ではほぼ完全に常同行動の発現が抑制された (Fig. 10)。

また、PCP による運動失調も両誘導体で改善されることが観察された。PCP を投与しないラットに NMD-Ser

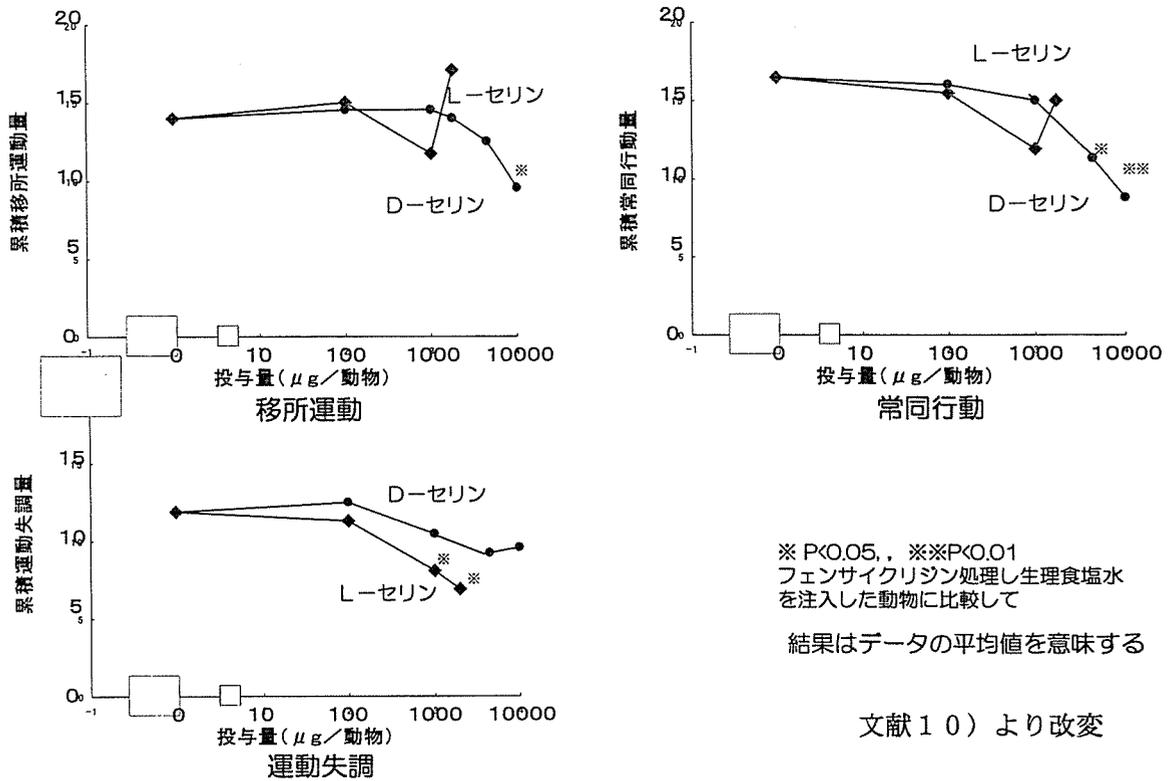


Fig. 8 フェンサイクリジンで異常行動を誘発させたラットの側脳室中へD- およびL-セリンを注入した効果

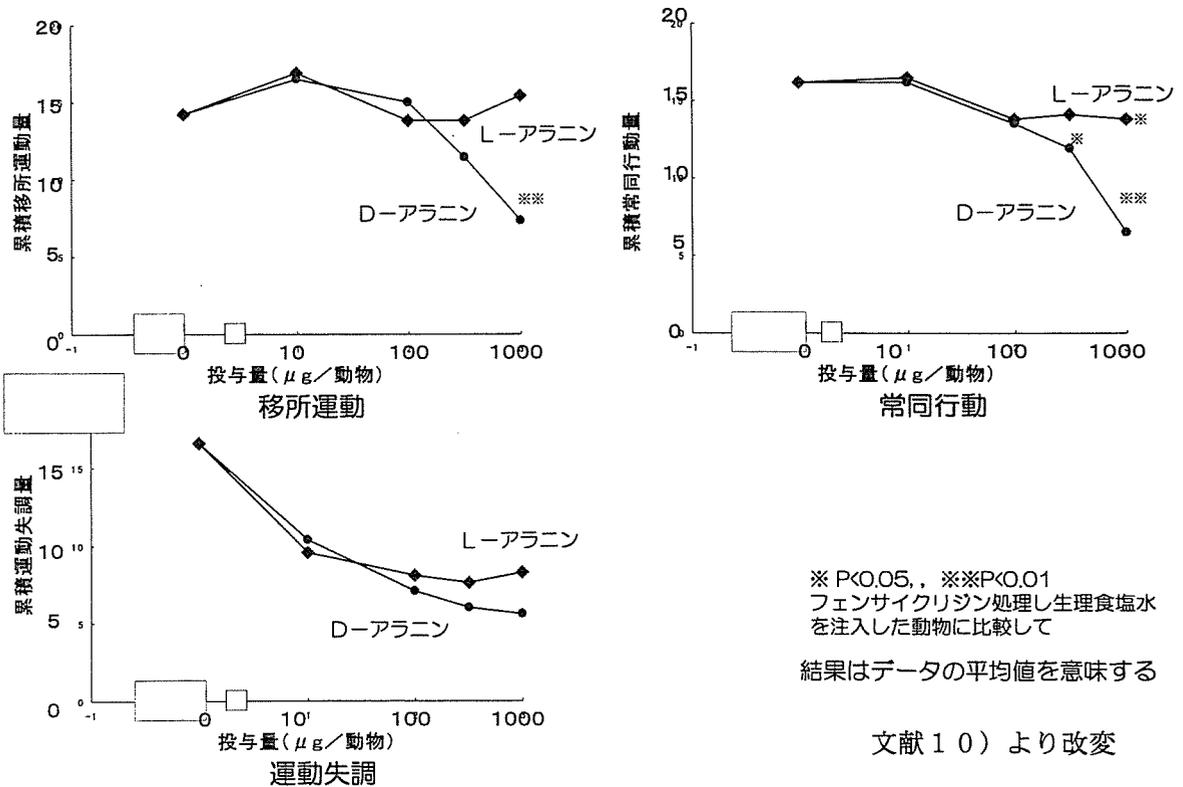


Fig. 9 フェンサイクリジンで異常行動を誘発させたラットの側脳室中へD- およびL-アラニンを注入した効果