

特集：D-アミノ酸制御システムのニューバイオロジー：  
Frontier Science in Amino Acid and Protein Research

## 脳の内在性 D-セリンの代謝・機能と精神神経疾患における意義

西 川 徹

D-セリンは、(i) *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体の生理的活性化に不可欠なグリシン調節部位の刺激効果をもち、(ii) 哺乳類において脳優位に含まれ、脳内分布が NMDA 受容体 R2B サブユニットと酷似している、などの特徴から、哺乳類脳の内在性 NMDA 受容体コアゴニストと考えられている。脳では、D-セリンの生合成、細胞外液への放出、取り込み、分解などの代謝過程が観察され、一群のグリアとニューロンに D-セリンが検出される。さらに、神経細胞死および種々の精神神経症状とそのモデルでは NMDA 受容体機能障害や D-セリンの影響が認められ、難治性統合失調症状の改善を目的とした D-セリンの臨床投与試験も行われている。したがって、内在性 D-セリンの分子細胞機構の研究が、統合失調症を初めとする精神神経疾患の病態解明や新しい治療法開発に貢献することが期待される。

### 1. はじめに—内在性 D-セリンの検出—

D-セリンは、他の D 型アミノ酸と同様に、哺乳類の組織には存在しないと長い間信じられてきたが、筆者が難治性の統合失調症状に対する新たな治療法を研究する過程で、脳に遊離型として多く含まれる内在性物質であることを見出した。D-セリンの生理的機能や精神神経疾患との関連を検討して行く上でも重要と考えられるため、はじめに検出の経緯を紹介する。

精神科臨床における重大な問題のひとつとして、発症率の高い統合失調症患者が薬物療法に抵抗を示す症状のために、十分な社会復帰を妨げられている現状が挙げられる<sup>1)</sup>。筆者は 1986 年頃より、フェンサイクリジン (phenacyclidine : PCP) という麻薬が、統合失調症治療薬 (抗精神病薬) で改善される陽性症状 (発症後産出されるように

見える幻覚・妄想などの症状) と、改善が見られない陰性症状 (正常な精神機能が欠如または減弱したように見える感情鈍麻、意欲減退、会話・思考の貧困などの症状) の双方と類似した統合失調症様症状を引き起こす点や<sup>1-3)</sup>、1983 年には NMDA 型グルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) の強力な遮断薬であることが発見されたこと<sup>4)</sup>に着目して、NMDA 受容体機能を促進する、難治性症状を含む統合失調症の包括的な治療戦略を考えるようになった<sup>2,3)</sup>。

そこで、NMDA 受容体調節部位のうち、細胞死や痙攣につながるグルタミン酸結合部位ではなく、こうした過剰な効果が生じにくい、グリシン結合部位を刺激する標的として選んだ<sup>2,3)</sup>。本部位に対する作動薬のグリシン、D-セリン、D-アラニンなどの中から、(i) 細菌や無脊椎動物には存在するが哺乳類では内在性物質ではないため、分解系を欠き効果が持続することが予想される、(ii) 対応する L 型は刺激作用がはるかに弱く、両者の比較により NMDA 受容体への作用が行い易い、などの点を理由に、二つの D 型アミノ酸を実験に用いた<sup>2,3)</sup>。同時に、これらは極性が高く血液脳関門の透過性が低いことを考慮し、日本油脂筑波研究所・日比野氏に親油性が高まるように脂質で修飾した化合物の合成を依頼し、*N*-myristoyl-D-serine (NMD-Ser) および *N*-myristoyl-D-alanine (NMD-Ala) が考案・供与され

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科精神行動医科学分野 (〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45)

Metabolism and functions of brain D-serine in mammals: relevance to neuropsychiatric disorders

Toru Nishikawa (Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Tokyo Medical and Dental University Graduate School, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan)

た<sup>5,6)</sup>。いずれも、脳室内 (D-セリン, D-アラニン) または腹腔内 (NMD-Ser, NMD-Ala) への投与により、難治性統合失調症モデルと考えられる、PCP 投与動物の異常行動を抑制した<sup>6-8)</sup>。この抗 PCP 作用はそれぞれの L 型ではほとんど見られず、グリシン調節部位の選択的拮抗薬で減弱したことより、NMDA 受容体グリシン調節部位の作動薬が新しい抗精神病薬として応用できる可能性が支持された<sup>6-8)</sup>。

さらに、ミリスチル化 D 型アミノ酸から、生体内で D-アミノ酸が遊離して効果を発揮する可能性を、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー (GC), GC-マススペクトロメトリー (MS) などを用いて検討したところ、定説に反し、ラットの脳では内在性の D-セリンが、一生の間、神経伝達物質に匹敵する高濃度で維持されることがわかった<sup>3,9-11)</sup>。また、脳内分布が NMDA 受容体結合能と類似し<sup>3,9,11)</sup>、抗統合失調症作用

をもつと推測されたことから、内在性の NMDA 受容体アロステリックアゴニストとして精神機能の発現・調節に重要な役割を果たす可能性を提唱した<sup>3,9,11)</sup>。

本稿では、以上の研究が端緒となって蓄積されてきた、哺乳類脳の内在性 D-セリンの代謝と機能に関する知見を概説し、精神神経疾患の病態や治療法開発における意義を探る。

2. 脳内 D-セリンの分布と代謝

脳組織においては、D-セリンの生合成、貯蔵、細胞外液への放出、取り込み、分解などの代謝過程の存在を示唆する現象が観察される (図 1)。しかし、それぞれの分子細胞機構については研究者間での不一致も多く結論に至っていない。

(1) 分布

ラット、マウス、ヒトをはじめとする哺乳類の成熟期に

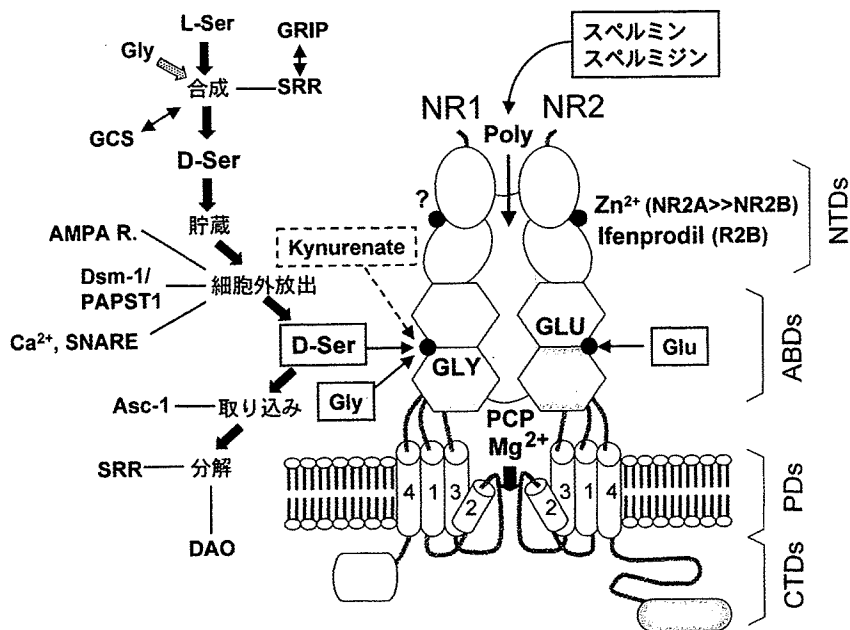


図 1 D-セリンの代謝過程と NR1/NR2 型 NMDA 受容体イオンチャネル  
D-セリンの代謝の分子機構は確立されていないため、現在推測されている過程と関連する候補分子を記載した (実線は直接の関係を示す実験データがあることを、両矢印は相互作用が示唆されることを表す)。NMDA 受容体は、細胞外から Na<sup>+</sup> や Ca<sup>2+</sup> を流入させ、細胞内から K<sup>+</sup> を透過させるイオンチャネルを構成しており、グルタミン酸結合部位 (GLU), グリシン結合部位 (GLY), マグネシウムイオン結合部位 (Mg<sup>2+</sup>), 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、種々の調節部位をもつ。NR1 サブユニット (多様なバリエーションが存在) と 4 種の NR2 サブユニット A~D の少なくとも 1 種が組み合わさったヘテロメリック集合体を形成することが示唆されており、GLY は NR1 上に、GLU は NR2 上にあると考えられている。NMDA 受容体の模式図は Paoletti & Neyton の総説 (Curr. Opin. Pharmacol. (2007) 7: 39-47) の Figure 1 を改変。

省略: ABDs, agonist binding domain (作動薬結合ドメイン); CTDs, C-terminal domains (C 末端ドメイン); GCS, glycine cleavage system (グリシン開裂酵素系); NTDs, N-terminal domains (N 末端ドメイン); PDS, pore domains (膜開口部ドメイン); SRR, serine racemase (セリンラセマーゼ);  , agonists (作動薬);  , antagonists (遮断薬)

においては、D-セリンは脳選択的分布を示し、脊髄、末梢各組織および血液中ではきわめて低濃度である（ただし尿中濃度は高い<sup>3,9,11</sup>）。脳内分布は不均一で、前脳各部位では高濃度（最も高い大脳皮質、海馬、線条体などで0.2~0.3 μmol/g 組織）、間脳、中脳では中等度から低濃度、後脳の組織は痕跡程度である<sup>3,9,11</sup>。この脳内分布は、NMDA 受容体のグルタミン酸、PCP およびグリシン各結合部位の密度分布と強い正の相関を示し、特にNMDA 受容体R2Bサブユニット(NR2B) mRNA の分布と酷似している<sup>3,11,12</sup>。

脳内D-セリンの分布は発達に伴って著しく変化する。齧歯類では、生直後には脳内にほぼ均一に分布しているが(0.1 μmol/g 程度)、生後3週頃までに成熟期のパターンに近づく<sup>9,11,13</sup>。生後変化は脳部位によって異なり、大脳新皮質のD-セリン濃度は生後21日までに成熟期のレベル(0.3 μmol/g 程度)に達するのに対し、小脳では、生後7日までに成熟期の大脳皮質と同等のレベルになった後、急速に減少する。この変化もNR2B mRNA の脳内分布の発達と一致する<sup>9,11,13</sup>。

細胞レベルでは、D-セリン様免疫反応がアストロサイトに強く、オリゴデンドロサイトや、ニューロンの細胞体、樹状突起、軸索にも見られることが報告されている<sup>12,14,15</sup>。ヒトの大脳新皮質では、白質と灰白質のD-セリン含量には差がなく、免疫組織化学的研究の結果と一致する<sup>16</sup>。また、ミクログリアにも組織化学的にD-セリンが検出されている<sup>17</sup>。しかし、各細胞間の分布差は明らかではない。

系統発生的に見ると、魚類、両生類、鳥類などの脳には極めて低い濃度しか検出できず(0.001~0.018 μmol/g)、内在性D-セリンは哺乳類の脳で特異的に高濃度に保たれていることが示唆される<sup>18</sup>。

## (2) 合成

ラットの脳では、(a)L-セリンまたはグリシンの濃度を高めるとD-セリン濃度が上昇し、D-セリン濃度を上昇させるとL-セリン濃度が選択的に増加する<sup>19</sup>、(b) [<sup>3</sup>H] L-セリンが [<sup>3</sup>H] D-セリンへ転換される<sup>20</sup>などの現象より、D-セリンをL-セリンから合成するセリンラセマーゼの存在が推定された。実際、ピリドキサル5-リン酸依存性を示しATPやMg<sup>2+</sup>で活性化される、ラット、マウスおよびヒトのセリンラセマーゼが報告されている<sup>21,22</sup>。本酵素は、免疫反応がアストロサイトおよびニューロンの双方に検出され<sup>23</sup>、その遺伝子ノックアウトマウスの脳でD-セリンがワイルドタイプの、15~10%程度まで減少するという(Coyle JJらの研究グループ、Society for Neurosci. 37<sup>th</sup> Annual Meeting (2007)の学会発表、Abstract, 576.8/K18; 森寿らの研究グループ、第81回日本薬理学会年会(2008)の発表、Abstract, J Pharmacol Sci 106, Suppl 1, 2008, 140P (P 1 I 68))。しかし、哺乳類以外の生物とは異なり、(a)ラセマーゼ活性より高いセリンデヒドラターゼ活性を有し<sup>24</sup>、

(b)酵母のアラニンラセマーゼと比較して1000分の1程度の低いセリンラセマーゼ活性しか見られない<sup>24</sup>ことから、生理的D-セリン合成における役割についてさらに検討を要する。この他、グリシン開裂酵素の活性欠損症および阻害剤により脳内D-セリンが減少すること<sup>25</sup>や理論的反応にもとづいて、グリシン開裂酵素系、セリンヒドロキシメチル基転移酵素、ホスホセリンホスファターゼなどがD-セリン合成に関与する可能性も研究されている<sup>25,26</sup>。

## (3) 貯蔵

D-セリンをグルタルアルデヒドによってキャリアタンパク質に架橋したものを抗原として作製した抗D-セリン抗体を用いると、グリア細胞や神経細胞の細胞質に免疫反応が観察される<sup>23</sup>。これに対して、遊離型D-セリンを認識する抗体を用いた研究では、D-セリン免疫反応が小胞への集積を示唆する分布を示す<sup>23</sup>。前者の免疫染色は脳組織をグルタルアルデヒド含有固定液で処理しているが、通常固定液のみを用いる場合は固定操作中に遊離のアミノは細胞から流出すると言われており、結果の違いとの関係を検討しなければならない。

細胞の種類によって、D-セリンの貯蔵部位が異なる可能性もある。株化C6グリオーマ細胞および幼弱動物の脳組織から得た培養アストロサイトでは、少なくとも一群のD-セリンとシナプス様小胞マーカーVAMP2の免疫反応が共存することや、VAMP2を分解するテタヌス毒素によりD-セリン放出が見られなくなること<sup>27</sup>から、D-セリンを貯蔵する開口放出関連の小胞構造があると考えられる。これに対して、大脳皮質の培養ニューロンでは、D-セリン放出が小胞への取り込みを阻害するbafilomycin A1にほとんど影響されず、上述のように、D-セリンの貯蔵部位が主に細胞質であることと矛盾しない<sup>23</sup>。

## (4) 細胞外遊離

*in vivo* マイクロダイアリシス法により、自由運動下の動物の脳内細胞外液中にD-セリンが検出される。その濃度は組織中濃度と同様にNMDA受容体と高い相関を示すことから(前頭葉では約 $5 \times 10^{-6}$  M)<sup>28</sup>、本受容体グリシン調節部位に作用していることが支持される。D-セリンは古典的な神経伝達物質とは異なる機序によって細胞外へ遊離されると考えられる。すなわち、*in vivo*において、神経脱分極刺激後に細胞外液の神経伝達物質が急速に増加するのに対して、D-セリンは却って低下する<sup>28</sup>。また、神経インパルス遮断時や細胞外Ca<sup>2+</sup>を除去した条件でも細胞外液中D-セリンは減少しない<sup>28</sup>。さらに、グリア選択的な可逆性毒素のfluorocitrateがD-セリンの*in vivo*遊離を抑制する結果<sup>29</sup>は、グリア細胞の関与を示唆している。

アストロサイトおよびニューロンの培養系<sup>12,23,27</sup>や株化C6グリオーマ細胞<sup>27</sup>では、グルタミン酸、AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) または

カイニン酸によるD-セリンの細胞外への放出増加が観察されているが, *in vivo* の実験系を用いると再現されない<sup>30)</sup>. 培養アストロサイトおよびC6細胞のグルタミン酸誘発性D-セリン遊離は, 細胞内外のCa<sup>2+</sup>, およびSNARE (可溶性N-メチルマレイミド感受性因子付着タンパク質受容体) に依存し, シナプス小胞への取り込み阻害薬で抑制されることなどから, シナプス小胞内D-セリンの開口放出によると推測されている<sup>27)</sup>. 一方, 培養ニューロンのグルタミン酸受容体を介するD-セリン放出は, 細胞外のCa<sup>2+</sup>依存性は共通であるが, 細胞内のCa<sup>2+</sup>除去やシナプス小胞への取り込み阻害薬では低下しないため<sup>29)</sup>, 未知のメカニズムで細胞質から遊離される可能性がある. また, カリウムイオンによる脱分極刺激は, 培養ニューロンのD-セリン遊離を増加させるが, 培養アストロサイトのD-セリン遊離には影響しない. ASCTトランスポーターによって, L-セリン, L-アラニンなどの取り込みと交換にD-セリンが放出される現象は, 培養ニューロンでは観察されない<sup>23)</sup>.

以上の所見は, グリアとニューロンにおけるD-セリン放出の分子機構が異なることを示唆している. *in vivo* と *in vitro* の研究結果の不一致は, 後者では人工的にD-セリンを負荷した条件で実験しているため, 生理的放出に係わる細胞内プールではない部位に取り込まれたD-セリンの放出を観察していることに起因する可能性があり, さらに詳細な検討が必要である.

#### (5) 取り込み

ラット脳のホモジネート<sup>31)</sup>, 大脳皮質から得られたアストロサイト主体の培養標品<sup>12)</sup>, ラットグリオーマ由来のC6細胞<sup>32)</sup>などでは, 放射性D-セリンの取り込みが見られる. 取り込みの薬理的性質は既知のトランスポーターとは異なり, D-セリンを細胞内に輸送する未知のキャリアの存在が示唆される. これまでにD-セリンをμMのオーダーで取り込む能力をもち脳に発現する分子としては, ナトリウム依存性中性アミノ酸トランスポーターASCT1およびASCT2<sup>33)</sup>, ナトリウム非依存性中性アミノ酸トランスポーターAsc-1<sup>34,35)</sup>, プロトン依存性アミノ酸トランスポーターPAT1<sup>36)</sup>などがあげられる. このうちAsc-1<sup>34,35)</sup>は, 最もD-セリンに対する親和性が高く (IC<sub>50</sub>が10~50μM程度), 脳内に広く分布し主に前シナプス神経終末に発現している. また, ノックアウトマウスの大脳皮質および小脳のD-セリン取り込みが約3分の1以下に減少することから, 生理的なD-セリン輸送に関与する可能性が提唱されている<sup>35)</sup>.

#### (6) 分解

D-セリンを含むD型アミノ酸の分解活性をもつ哺乳類の酵素としては, D-アミノ酸酸化酵素 (D-amino acid oxidase: DAO) が知られてきた<sup>37)</sup>. 脳のDAOの分布はD-セ

リンと逆相関し, 小脳・橋・延髄などではD-セリン濃度が減少し始める生後10日前後から活性が急速に上昇する<sup>37)</sup>. 大脳皮質から培養したアストロサイトでDAO遺伝子の発現が認められるが<sup>38)</sup>, 前脳部はDAOの活性および免疫反応がきわめて低いか検出感度以下である. また, 本酵素活性を欠く突然変異マウスのD-セリン含量は, 大脳皮質においては僅かしか増加しないが小脳で著明に上昇する<sup>39)</sup>. したがって, DAOは少なくとも後脳のD-セリンを分解すると推測されるが, 前脳部におけるD-セリンシグナルの生理的な消去にはDAO以外の分子の関与を否定できない. 筆者は, DAOがD-セリン合成細胞に含まれ特徴的なD-セリンの脳内の濃度勾配を形成し<sup>9)</sup>, 前脳部では, 未知のトランスポーターや, セリンデヒドラターゼ活性をもち前脳部優位に分布するセリンラセマーゼが, 情報伝達分子としてのD-セリンを分解する可能性を検討する必要があると考えている<sup>9)</sup>.

#### (7) D-セリン動態に関連する新規分子

筆者らは, ラット大脳新皮質から, 発現がD-セリンで選択的に誘導されL-セリンでは変化しない新規転写産物*dser-1* (D-serine-responsive transcript-1)<sup>40)</sup>および*dser-2*<sup>41)</sup>を見出した. *dser-1*の一部はプロトンATPaseサブユニットをコードするM9.2遺伝子と同一性があり, D-セリンの取り込みや放出に関与する可能性がある<sup>40)</sup>. *dser-2*<sup>41)</sup>はD-セリンおよびNR2Bと酷似した脳内分布とその発達変化を示し, ゲノム遺伝子がNMDA受容体機能調節に関係するneurexin-3α遺伝子の反対鎖にマップされる点から, 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. 一方, *Xenopus* 卵母細胞の機能的クローニング系を用い, D-セリンの細胞内濃度を減少させる転写産物として検出した*dsm-1*<sup>42)</sup>, ヒト3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter 1 (PAPST1) 遺伝子のラットオルソログであることがわかった. 強制発現した卵母細胞において前負荷したD-セリンの放出を促進し, D-セリンと同様の脳内発現分布を示すことから, 細胞内外のD-セリン濃度調節に関与する可能性がある.

### 3. 脳内D-セリンの生理的機能

#### (1) グルタミン酸受容体調節

##### 1) NMDA受容体

##### i) NR1/NR2型NMDA受容体 (図1)

D-セリンは, NR1およびNR2サブユニットから構成されるNMDA受容体のグリシン結合部位を選択的に刺激し, 本受容体を介するグルタミン酸の次のような作用を促進する<sup>43)</sup>: (a) 脱分極, (b) 内向き電流, (c) Ca<sup>2+</sup>流入, (d) cGMPの産生, (e) 種々の神経伝達物質の放出, (f) 神経細胞死など. これらの作用は, グリシンおよびD-アラニンと共通しており, L型のセリンやアラニンにはほとんど

認められない立体特異性が特徴である。イオンチャネル内のフェンサイクリジン調節部位に対するリガンド結合の増加を伴うことにもとづいて、チャネルの開放頻度を増加させる結果と考えられている<sup>43)</sup>。

グリシン結合部位の刺激は、単独では興奮性後シナプス膜電位を発生しないが、グルタミン酸による十分な神経伝達が生ずるためには不可欠であることから、グリシン、D-セリン、D-アラニンなどはNMDA受容体のコアゴニストと呼ばれる<sup>9,43)</sup>。D-セリンとNR2Bの脳内分布の類似性および上述したNMDA受容体への作用の特徴は、脳内D-セリンがNR1/NR2型受容体の生理的なコアゴニストであることを示唆している。これを支持する所見として、海馬のスライスまたはニューロン・グリア混合培養系にDAOを作用させ、D-セリンのみを分解しグリシンの濃度を維持した条件では、NMDA受容体グルタミン酸結合部位刺激時の一酸化窒素合成酵素活性の上昇<sup>44)</sup>や、NMDA受容体依存的な長期増強(LTP)の誘導<sup>45)</sup>が著明に抑制される。また、*Xenopus* 卵母細胞に発現させた、NR1とNR2A~NR2Dのいずれかを組み合わせた4種のヘテロメリックNMDA受容体では、グルタミン酸が誘導する内向き電流を増強する効果はグリシンよりD-セリンの方が数倍強い<sup>46)</sup>。

一方、ラット前頭前野では、グリア型グリシントランスポーターGLYT1の選択的阻害剤投与時にNMDA受容体反応が増強されることから、内在性のグリシンもNMDA受容体調節に関与すると考えられる<sup>47)</sup>。D-セリン投与後にも同様の反応増強が認められるため、生理的状态では、NMDA受容体グリシン結合部位が飽和していない場合があると推察される<sup>47)</sup>。

以上の観察結果は、D-セリンおよびグリシンの細胞外液中濃度の調節機構がNMDA受容体の生理的機能維持に極めて重要なことを示唆している。二つのアミノ酸は、脳内分布<sup>11)</sup>およびグリア毒<sup>29)</sup>やD-サイクロセリン<sup>48)</sup>投与後の細胞外液中濃度変化に著明な差異があり、NMDA受容体へのシグナルとしての異なる調節系をもつことが示唆される。

## ii) NR1/NR3型NMDA受容体

NR1/NR2型NMDA受容体と異なり、NR1とNR3AまたはNR3BのヘテロメリックNMDA受容体では、グルタミン酸やNMDAへの応答が見られず、グリシンが興奮性の反応(内向き電流)を引き起こす<sup>49)</sup>。このグリシン誘発性電流は、グルタミン酸結合部位またはPCP結合部位の拮抗薬に影響を受けないが、グリシン結合部位の選択的拮抗薬で抑制される<sup>49)</sup>。また、NR1/NR3型NMDA受容体においては、D-セリンはグリシンとは対照的に、単独ではほとんど効果を示さないが、グリシン誘発性電流を阻害し<sup>49)</sup>、NR1/NR3型NMDA受容体の内在性調節因子の候補でもあるが、コアゴニストとは言えない。

## 2) $\delta 2$ 受容体

主として小脳のプルキンエ細胞に発現するオーファン受容体の $\delta 2$ 受容体は、アミノ酸配列にもとづいてイオンチャネル型グルタミン酸受容体ファミリーに分類され、LTD(長期抑圧)の形成に関与することが報告されている。しかし、グルタミン酸作動型にチャネルを形成せず内在性のリガンドが未だ明らかになっていない。最近、D-セリンおよびグリシンが、 $\delta 2$ 受容体に結合してコンフォメーション変化を引き起こすことにより、 $\delta 2$ 受容体を不活性化することが示され、内在性調節因子の可能性が考えられるようになった<sup>50)</sup>。

### (2) グリア-ニューロン相互作用

脳内D-セリンは、その免疫反応がアストロサイト、オリゴデンドロサイトなどのグリア細胞に認められ<sup>12,14,15,17)</sup>、グリア選択的毒素によりその細胞外液中濃度が低下すること<sup>29)</sup>などから、神経修飾物質(neuromodulator)としてグリア細胞から放出される可能性がある。雌ラットの視床下部視索上核では、D-セリン免疫反応がアストロサイトに見られ、アストロサイトがグルタミン酸シナプスを取り囲む状態が、virginの時には密であるのに比較して授乳期には疎になる<sup>51)</sup>。また、virgin期の方が、ニューロンのNMDA受容体によるEPSC(excitatory postsynaptic current:興奮性シナプス後電位)やLTP(長期増強)が生じやすく、シナプス中のD-セリン濃度が高いことや、この活性化はグリシンではなくD-セリンに依存することから、実際にアストロサイトから放出されるD-セリンによってニューロンのNMDA受容体が制御されていることが示唆された<sup>51)</sup>。

一方、ニューロンが存在しない条件で培養したアストロサイト<sup>45)</sup>や、選択的に神経細胞体を破壊した前頭葉皮質(未発表データ)ではD-セリン濃度が著明に低下する。以上の知見より、脳内D-セリンはグリアとニューロンの相互作用に関与するシグナル分子として機能していると推測される。

### (3) 神経回路形成

小脳では、NMDA受容体を介するグルタミン酸伝達に依存した顆粒細胞の移動やシナプス形成が生ずる発達期に、その周囲に突起を伸ばす放射状グリア細胞であるバグマングリア内のD-セリン濃度が一過性に高まる<sup>52)</sup>。また、顆粒細胞の移動は、(i)D-セリンの選択的分解やセリンラセマーゼの阻害によって抑制され、D-セリンの添加後に回復することや、(ii)GRIP(glutamate receptor interacting protein)を過剰発現させた実験系においてはD-セリンの細胞外遊離が上昇するとともに(セリンラセマーゼおよびAMPA型グルタミン酸受容体と結合することによりAMPA受容体刺激誘導性のセリンラセマーゼ活性化が起こるといふ)、促進される。これらの現象は、発達期小脳

のD-セリンが神経回路形成に重要な役割を果たすことを示唆している<sup>53)</sup>。

#### 4. 精神神経疾患の病態と脳内D-セリン

哺乳類の内在性D-セリンは、代謝・機能とその発達変化などの特徴から、D-セリンシステムとも呼べる独自の分子細胞機構を構築していると推察される。D-セリンが、多様な高次脳機能の発現・制御に重要な役割を果たすことが知られる。NMDA受容体の生理的活動性の維持に不可欠な点は、D-セリンシステムの異常が種々の精神神経疾患に関与する可能性を示唆している。

##### (1) 統合失調症

PCPに代表されるNMDA受容体遮断薬が作用の強さに比例して統合失調症全体と類似した病像を引き起こすこととともに、統合失調症患者が健常者に比してNMDA受容体遮断薬により症状の増悪が生じやすい(精神異常惹起作用に対する感受性が亢進している)ことにもとづいて、統合失調症ではNMDA受容体を介するグルタミン酸神経伝達が低下する病態が推測されている<sup>1-3)</sup>。その原因のひとつとして、NMDA受容体の内在性コアゴニストとして作用するD-セリンシグナルが減少している可能性がある<sup>1-3)</sup>。

筆者らは統合失調症患者と非精神神経疾患患者の死後脳で前頭葉皮質および側頭葉皮質の組織中D-セリン濃度を比較したが、両群間に有意な差は認めなかった<sup>16)</sup>。しかし、統合失調症患者の死後脳では、角回、縁上回、体性感覚野、運動前野などの大脳新皮質領域でNMDA受容体グリシン調節部位の増加が観察され<sup>54)</sup>、特定の神経回路におけるD-セリンの細胞外放出が減少したための代償的变化と考えることもできる。さらに、D-セリン分解能をもつD-アミノ酸酸化酵素(DAO)とその活性化因子(DAOA:G72)、およびセリンラセマーゼの遺伝子多型やハプロタイプと統合失調症との有意な相関、あるいはタンパク質・mRNAの統合失調症死後脳における発現の変化などの報告がある<sup>55-61)</sup>。ただし、(i)双極性障害(躁うつ病)でも同様のDAOA遺伝子解析結果が得られている<sup>62)</sup>、(ii)死後脳の分析は研究者間で一致していない、(iii) Bendikovら<sup>63)</sup>は、同一の死後脳組織でD-アミノ酸酸化酵素タンパク質の増加とセリンラセマーゼタンパク質の減少を見出し、本症におけるD-セリンの合成低下と分解促進を推定しているが、D-セリン濃度には変化が見られない、などの点に注意する必要がある。血液中や脳脊髄液中のD-セリン濃度またはD・L型セリンの総量に対するD-セリン量の比の低下も報告されているが<sup>61,63,64)</sup>、アルツハイマー病患者の血液でも類似の傾向が見られ<sup>65)</sup>、疾患特異性、食事や服薬の影響をはじめ、今後の詳細な分析が待たれる。このほか、D-セリンに高い親和性を示すAsc-1トランスポーターや、筆者らが新たにクローニングした*dsr-1*、*dsr-2*、*dsm-*

*1*などの遺伝子についても統合失調症との関連が注目される。

NMDA受容体機能不全をもたらす機序については、D-セリンシステムの分子細胞機構の異常以外にも、内在性のグリシン調節部位拮抗物質キヌレン酸、グリシン代謝系、ポリアミン調節部位に作用する内在性物質、グルタミン酸代謝、NMDA受容体へのGluの作用に拮抗する*N*-acetylaspartylglutamateなどの変化も考えられ、D-セリンシステムとの相互作用の観点からも検討が必要である<sup>1,66)</sup>。

##### (2) 双極性障害(躁うつ病)

DAOAのSNPs(single nucleotide polymorphisms:一塩基多型)やハプロタイプとの関連は統合失調症だけでなく、双極性障害にも認められ、D-セリンシステムの変化が双方の精神疾患で生じている可能性がある<sup>62)</sup>。この所見は、DAOAの多型が疾患ではなく、たとえば興奮や妄想のような共通の症状群に関連することを示唆しており、さらに検討を要する。

##### (3) 非ケトース型高グリシン血症

グリシン開裂酵素系の活性が欠損または顕著に低下するために血液中グリシンが極度に上昇する非ケトース型高グリシン血症患者の死後脳では、対照群の患者に比べ、大脳皮質中のグリシン濃度が著明に増加するとともにD-セリン濃度が3分の1程度に減少している<sup>25)</sup>。ラット脳のD-セリン濃度は、大量のグリシン投与によって脳のグリシン濃度を高めると上昇する<sup>19)</sup>が、グリシン開裂酵素系の阻害作用をもつシステアミン投与後には減少する<sup>25)</sup>ことから、上記の減少は、グリシン開裂酵素系の活性欠損が原因で生ずると考えられ、本症に認められる、精神発達遅滞、けいれん発作、無呼吸発作、嗜眠などの多彩な中枢神経症状と関係する可能性がある。

##### (4) セリン欠損症候群

まれに、血液および脳脊髄液のL-セリン濃度の著明な低下とともに、小頭症、けいれん発作、精神運動発達遅滞などの重篤な神経系の障害が認められる症例が見出され、セリン欠損症候群と呼ばれている<sup>67)</sup>。L-セリンの補充療法が有効であり、L-セリン生合成系の3-phosphoglycerate dehydrogenase(3-PGDH)あるいは3-phosphoserine phosphatase(3-PSP)の活性を欠く例があることが明らかにされているが、既知のL-セリン合成酵素には異常が検出できない例も報告されている<sup>67)</sup>。本症候群患者の脳脊髄液ではD-セリン濃度が著しく減少しており、精神神経症状との関連が推察される<sup>67)</sup>。これらの所見は、ヒトの中枢神経系のD-セリンが主にL-セリンに由来することを示唆している。

##### (5) 脳虚血

一過性虚血時のウサギ梨状葉皮質では細胞外D-セリン濃度が上昇し<sup>68)</sup>、DAO処置によりD-セリンが選択的に低下したラットの海馬スライスでは、もうひとつのNMDA

受容体コアゴニストのグリシンが存在しているにもかかわらず虚血性神経細胞損傷が抑制される<sup>69,70</sup>。これらの結果は、脳血管性障害時のNMDA受容体の過剰な刺激による神経細胞損傷にD-セリンシグナルの増強が関与することを示唆している。

#### (6) 小脳失調

小脳失調にもD-セリンシグナルの異常が関与する可能性がある<sup>71,72</sup>。すなわち、(i) NMDA受容体遮断薬やNR2AおよびNR2Cサブユニット遺伝子のノックアウトによって小脳失調症状が生ずる、(ii) 小脳では成熟哺乳類のD-セリンの濃度はきわめて低いが、取り込み活性は高くDAO活性欠損によりD-セリン濃度が上昇するため、D-セリンの生合成が行われ生理的役割を果たしていると推察される。こうした可能性を支持する所見として、筆者らは薬物性あるいは遺伝性の小脳変性モデルマウスや脊髄小脳変性症患者で、D-セリンまたはD-サイクロセリンが運動失調を改善することを報告した<sup>71,72</sup>。しかし、小脳失調患者における脳内D-セリン濃度の変化や関連分子の脳内発現・ゲノム遺伝子との関連などは未解析である。

#### (7) アルツハイマー病

アルツハイマー病では、過剰に蓄積するアミロイドβペプチドが、神経変性につながる興奮性アミノ酸による神経毒性や炎症に関与する可能性が検討されている。アミロイドβペプチドは、ミクログリアからのグルタミン酸およびD-セリン放出の刺激や、ミクログリア内のセリンラセマーゼmRNAの転写亢進を引き起こし、アルツハイマー病患者死後脳の海馬においてセリンラセマーゼmRNAの発現が増加していたことから、アミロイドβペプチドによるD-セリンの合成と細胞外放出の増加が神経細胞死を促進していることが示唆されている<sup>73</sup>。ただし、アルツハイマー病患者の死後脳組織中D-セリン濃度の有意な変化は認められていない<sup>16</sup>。

#### (8) 筋萎縮性側索硬化症

筋萎縮性側索硬化症(ALS: amyotrophic lateral sclerosis)で見られる運動ニューロン死は、グリアが関係する興奮性アミノ酸の神経細胞毒性によって生ずる可能性がある。最近Sasabeらは<sup>74</sup>、ALSモデルマウスでは、脊髄運動ニューロンがNMDAの毒性に対して対照群より脆弱であり、病態の進行に伴って脊髄中のD-セリンおよびセリンラセマーゼが増加することを見出した。さらに、家族性および孤発性ALS患者の脊髄中D-セリンレベルの上昇が認められた<sup>74</sup>。これらの結果から、ALS患者ではグリア細胞におけるD-セリンの過剰な産生が運動ニューロンを障害するメカニズムが提唱されている<sup>74</sup>。

#### (9) 神経因性疼痛

NMDA受容体が関係する神経因性疼痛の中樞性増感メカニズムでは、次のような所見をもとに内在性のD-セリ

ンが重要な役割を果たすと推測されている。すなわち、(i) NMDA受容体コアゴニストのD-セリンが、熱やホルマリンの刺激による痛みに対するgabapentinやS(+)-3-butyl GABAの鎮痛作用に拮抗し<sup>75</sup>、(ii) DAO活性欠損マウスではホルマリン誘発性疼痛に対する反応および脊髄のNMDA受容体を介する興奮性後シナプス電流の増強が見られ<sup>76</sup>、(iii) D-セリンを選択的に分解するDAOやグリシン調節部位の選択的遮断薬を前部帯状回に注入したラットでは、ホルマリンによる痛みの回避行動形成が抑制される<sup>77</sup>。

#### (10) 不安

D-セリンを背側中脳中心灰白質や上丘に局所注入した動物では、不安に関連した行動が引き起こされる<sup>78</sup>。この効果は、グリシンでも生じ、NMDA受容体グリシン調節部位遮断薬で拮抗されることから、特定の脳部位のD-セリンは不安の出現にも関係していると推測される<sup>78</sup>。

### 5. D-セリン代謝系を標的とした精神神経疾患治療薬の開発

前項で述べたように、様々な精神神経疾患でNMDA受容体機能の異常が疑われるため、NMDA受容体機能を調節する新規治療薬の開発が試みられている。すなわち、NMDA受容体の機能促進薬には統合失調症状、小脳失調、PTSD(外傷後ストレス障害: posttraumatic stress disorder)などに対して、活動性抑制薬には神経変性疾患や脳虚血における興奮性アミノ酸の神経細胞毒性、神経因性疼痛、病的不安などへの治療効果が期待されている。これまでの実験では、グリシン調節部位に作用するNMDA受容体の調節物質には有害な作用が少ないことが知られている。したがって、D-セリンの代謝・機能を制御する分子細胞機構を標的としてD-セリンシグナルを増強または抑制する物質は、有力な治療薬候補と考えられる。

統合失調症では、NMDA受容体機能促進薬に、抗精神病薬反応性の陽性症状とともに、難治性の陰性症状および認知機能障害の改善効果が期待できることを既に述べたが<sup>1,79</sup>、動物実験と臨床試験の双方からこの仮定を支持する結果が得られている<sup>1,79</sup>。

PCPを急性投与した統合失調症モデル動物では、D-セリン、D-アラニン、グリシンなどのNMDA受容体コアゴニストが、抗精神病薬抵抗性の異常行動を改善する<sup>2,3,6</sup>。臨床試験においては、グリシン調節部位作動薬として、グリシン、D-セリン、D-サイクロセリン、GLYT1阻害薬(サルコシン)などが用いられている<sup>79</sup>。いずれも、種々の抗精神病薬との併用療法が行われ、クロザピンが併用薬の場合を除き、抗精神病薬単独治療の患者と比べ、陰性症状や認知機能障害の改善度が高いことが報告されている<sup>79</sup>。NMDA受容体コアゴニストは、次のような実験から、抗

精神病薬を併用せず単独でも陽性症状を含む全体の異常を改善する可能性が示唆される：(i) 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ドーパミン (DA) 伝達亢進を抑制する<sup>80)</sup>、(ii) PCP を反復投与した統合失調症モデル動物に見られる、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<sup>81)</sup>。

人工的な NMDA 受容体機能不全状態によって小脳失調症状が出現することから、脊髄小脳変性症を初めとする神経疾患で生ずる小脳失調症状を、NMDA 受容体機能促進薬が改善する可能性がある<sup>79)</sup>。Kawai らと筆者らが共同で進めている D-サイクロセリンの脊髄小脳変性症患者への投与試験<sup>72)</sup>では、国際協同運動失調評価尺度 (ICARS) の低下が見られた。

さらに最近、D-サイクロセリンを用いてグリシン調節部位を刺激し、NMDA 受容体機能増強を介した新しい記憶の獲得を促進し、いわば「上書き」の効果により、PTSD、恐怖症などにおける条件づけられた恐怖を消去して治療効率を上げる試みが行われ、有意な成果が発表されている<sup>82)</sup>。

しかし、現在臨床応用可能な NMDA 受容体コアゴニストは、(i) BBB (血液脳関門) 透過性が低く大量投与が必要であり (グリシン、D-セリン、D-アラニン、グリシントランスポーター阻害薬)、(ii) 抑制性グリシン受容体にも作用するため NMDA 受容体への選択性が低い (グリシン、グリシントランスポーター阻害薬)、(iii) BBB 透過性は高いが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-サイクロセリン)、(iv) 腎臓への毒性 (D-セリン) などが問題になっている<sup>1,79)</sup>。また、直接、グリシン調節部位を刺激する薬物は合成が難しいという。そこで、D-セリン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-セリンシグナルを選択的に増強する治療薬の開発が有用と考えられる。

一方、NMDA 受容体遮断薬は、実験的には脳虚血、興奮性神経毒などによる神経細胞死、神経因性疼痛などを抑制する成績が報告されているが、臨床的試験では精神症状を引き起こす副作用が問題になる<sup>70,83)</sup>。ここでも、D-セリン特異的な合成酵素や放出機構に選択的に作用して、D-セリンシグナルの過剰を抑制する薬物の開発が望まれる。

## 6. おわりに

内在性 D-セリンは、D 型のアミノ酸であることのほか、これまで研究されてきた脳の情報伝達物質とは多くの相違点をもつことが明らかになりつつある。これらの違いが脳の D-セリンシステムへのアプローチを難しくしてお

り、研究者間の不一致を生むもとなっていると考えられる。第一には、NR1/NR2 型 NMDA 受容体のコアゴニストとして神経伝達物質とは異質な役割を果たし、神経伝達物質のように神経インパルス依存的な放出の増加や迅速なシナプス間隙からの消去が認められないことから、適切な範囲の細胞外濃度を常に維持する機構の存在が推測される。また、グリアとニューロンの双方に広く検出され、その相互作用に不可欠なことや、統合失調症状を初めとするさまざまな精神神経症状と密接に関連することが強く示唆される。したがって、脳内 D-セリンの代謝・機能の分子細胞機構が解明されることにより、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、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。そのためには、今後、従来とは異なる視点を導入した研究が必要であろう。

## 謝辞

本稿で紹介した筆者の研究は、文献欄にあげた論文 (Nishikawa T. または西川徹を著名に含むもの) の共著者の方々と共同で行ったものであり、この機会に改めて皆様に深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 西川 徹 (2006) 実験医学, 24, 2663-2671.
- 2) Nishikawa, T., Umino, A., Tanii, Y., Hashimoto, A., Hata, N., Takashima, M., Takahashi, K., & Toru, M. (1991) in *Biological Basis of Schizophrenic Disorders* (Nakazawa, T. ed.), pp. 65-76, Japan Scientific Societies Press (Tokyo) and Karger (Basel).
- 3) Nishikawa, T., Hashimoto, A., Tanii, Y., Umino, A., Kashiwa, A., Kumashiro, S., Nishijima, K., Oka, T., Shirayama, Y., & Takahashi, K. (1994) in *The Biology of Schizophrenia* (Moroji, T. & Yamamoto, K. eds.) Development of Psychiatry Series, pp. 197-207, Elsevier, Amsterdam.
- 4) Anis, N.A., Berry, S.C., Burton, N.R., & Lodge, D. (1983) *Br. J. Pharmacol.*, 79, 565-575.
- 5) 日比野英彦, 西川 徹 (2007) オレオサイエンス, 7, 456-457.
- 6) 西川 徹, 橋本篤司, 谷井靖之, 岡 高恵, 海野麻未, 白山幸彦, 柏 淳, 高橋清久 (1991) 精神薬療基金年報, 23, 213-220.
- 7) Tanii, Y., Nishikawa, T., Hashimoto, A., & Takahashi, K. (1991) *Brain Res.*, 563, 281-284.
- 8) Tanii, Y., Nishikawa, T., Hashimoto, A., & Takahashi, K. (1994) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 269, 1040-1048.
- 9) Nishikawa, T. (2005) *Biol. Pharm. Bull.*, 28, 1561-1565.
- 10) Hashimoto, A., Nishikawa, T., Hayashi, T., Fujii, N., Harada, K., Oka, T., & Takahashi, K. (1992) *FEBS Lett.*, 296, 33-36.
- 11) Hashimoto, A., Nishikawa, T., Oka, T., & Takahashi, K. (1993) *J. Neurochem.*, 60, 783-786.
- 12) Schell, M.J., Molliver, M.E., & Snyder, S.H. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 92, 3948-3952.
- 13) Hashimoto, A., Oka, T., & Nishikawa, T. (1995) *Eur. J. Neu-*



- roschi.*, 7, 1657-1663.
- 14) Wako, K., Ma, N., Shiroyama, T., & Semba, R. (1995) *Neurosci. Lett.*, 185, 171-174.
  - 15) Yasuda, E., Ma, N., Semba, R. (2001) *Neurosci. Lett.*, 299, 162-164.
  - 16) Kumashiro, S., Hashimoto, A., & Nishikawa, T. (1995) *Brain Res.*, 681, 117-125.
  - 17) Williams, S.M., Diaz, C.M., Macnab, L.T., Sullivan, R.K., & Pow, D.V. (2006) *Glia.*, 53, 401-411.
  - 18) Nagata, Y., Horiike, K., Maeda, T. (1994) *Brain Res.*, 634, 291-295.
  - 19) Takahashi, K., Hayashi, F., & Nishikawa, T. (1997) *J. Neurochem.*, 69, 1286-1290.
  - 20) Dunlop, D.S. & Neidle, A. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 235, 26-30.
  - 21) Wolosker, H., Sheth, K.N., Takahashi, M., Mothet, J.P., Brady, R.O. Jr., Ferris, C.D., & Snyder, S.H. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 96, 721-725.
  - 22) De Miranda, J., Panizzutti, R., Foltyn, V.N., Wolosker, H. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 14542-14547.
  - 23) Kartvelishvily, E., Shleper, M., Balan, L., Dumin, E., & Wolosker, H. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 14151-14162.
  - 24) Yoshimura, T. & Esaki, N. (2003) *J. Biosci. Bioeng.*, 96, 103-109.
  - 25) Iwama, H., Takahashi, K., Kure, S., Hayashi, F., Narisawa, K., Tada, K., Mizoguchi, M., Takashima, S., Tomita, U., & Nishikawa, T. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 231, 793-796.
  - 26) Wood, P.L., Hawkinson, J.E., & Goodnough, D.B. (1996) *J. Neurochem.*, 67, 1485-1490.
  - 27) Mothet, J.P., Pollegioni, L., Ouanounou, G., Martineau, M., Fossier, P., & Baux, G. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 5606-5611.
  - 28) Hashimoto, A., Oka, T., & Nishikawa, T. (1995) *Neurosci.*, 66, 635-643.
  - 29) Kanematsu, S., Ishii, S., Umino, A., Fujihira, T., Kashiwa, A., Yamamoto, N., Kurumaji, A., & Nishikawa, T. (2006) *J. Neural. Transm.*, 113, 1717-1721.
  - 30) Hashimoto, A., Kanda, J., & Oka, T. (2000) *Brain Res. Bull.*, 53, 347-351.
  - 31) Yamamoto, N., Tomita, U., Umino, A., & Nishikawa, T. (2001) *Synapse*, 14, 284-286.
  - 32) Hayashi, F., Takahashi, K., & Nishikawa, T. (1997) *Neurosci. Lett.*, 239, 85-88.
  - 33) Dun, Y., Mysona, B., Itagaki, S., Martin-Studdard, A., Ganapathy, V., & Smith, S.B. (2007) *Exp. Eye Res.*, 84, 191-199.
  - 34) Fukasawa, Y., Segawa, H., Kim, J.Y., Chairoungdua, A., Kim, D.K., Matsuo, H., Cha, S.H., Endou, H., & Kanai, Y. (2000) *J. Biol. Chem.*, 275, 9690-9698.
  - 35) Rutter, A.R., Fradley, R.L., Garrett, E.M., Chapman, K.L., Lawrence, J.M., Rosahl, T.W., & Patel, S. (2007) *Eur. J. Neurosci.*, 25, 1757-1766.
  - 36) Metzner, L., Kottra, G., Neubert, K., Daniel, H., & Brandsch, M. (2005) *FASEB J.*, 19, 1468-1473.
  - 37) Weimar, W.R. & Neims, A.H. (1977) *J. Neurochem.*, 29, 649-556.
  - 38) Urai, Y., Jinnouchi, O., Kwak, K.T., Suzue, A., Nagahiro, S., & Fukui, K. (2002) *Neurosci. Lett.*, 324, 101-104.
  - 39) Hashimoto, A., Nishikawa, T., Konno, R., Niwa, A., Yasumura, Y., Oka, T., & Takahashi, K. (1993) *Neurosci. Lett.*, 152, 33-36.
  - 40) Tsuchida, H., Yamamoto, N., Kajii, Y., Umino, A., & Nishikawa, T. (2001) *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 280, 1189-1196.
  - 41) Taniguchi, G., Yamamoto, N., Tsuchida, H., Umino, A., Shimazu, D., Sakurai, S., Takebayashi, H., & Nishikawa, T. (2005) *J. Neurochem.*, 95, 1541-1549.
  - 42) Shimazu, D., Yamamoto, N., Umino, A., Ishii, S., Sakurai, S., & Nishikawa, T. (2006) *J. Neurochem.*, 96, 30-42., 2006.
  - 43) Danysz, W. & Parsons, A.C. (1998) *Pharmacol. Rev.*, 50, 597-664; Kemp, J.A. & McKernan, R.M. (2002) *Nat. Neurosci.*, 5 Suppl., 1039-1042.
  - 44) Mothet, J.P., Parent, A.T., Wolosker, H., Brady, R.O. Jr., Linden, D.J., Ferris, C.D., Rogawski, M.A., & Snyder, S.H. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 97, 4926-4931.
  - 45) Yang, Y., Ge, W., Chen, Y., Zhang, Z., Shen, W., Wu, C., Poo, M., & Duan, S. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, 15194-15199.
  - 46) Matsui, T., Sekiguchi, M., Hashimoto, A., Tomita, U., Nishikawa, T., & Wada, K. (1995) *J. Neurochem.*, 65, 454-458.
  - 47) Chen, L., Muhlhauser, M., & Yang, C.R. (2003) *J. Neurophysiol.*, 89, 691-703.
  - 48) Fujihira, T., Kanematsu, S., Umino, A., Yamamoto, N., & Nishikawa, T. (2007) *Neurochem. Int.*, 51 (2-4), 233-236.
  - 49) Chatterton, J.E., Awobuluyi, M., Premkumar, L.S., Takahashi, H., Talantova, M., Shin, Y., Cui, J., Tu, S., Sevarino, K.A., Nakanishi, N., Tong, G., Lipton, S.A., & Zhang, D. (2002) *Nature*, 415, 793-798.
  - 50) Naur, P., Hansen, K.B., Kristensen, A.S., Dravid, S.M., Pickering, D.S., Olsen, L., Vestergaard, B., Egebjerg, J., Gajhede, M., Traynelis, S.F., & Kastrop, J.S. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 104, 14116-14121.
  - 51) Panatier, A., Theodosis, D.T., Mothet, J.P., Touquet, B., Pollegioni, L., Poulain, D.A., & Oliet, S.H. (2006) *Cell.*, 125, 775-784.
  - 52) Schell, M.J., Brady, R.O. Jr., Molliver, M.E., & Snyder, S.H. (1997) *J. Neurosci.*, 17, 1604-1615.
  - 53) Kim, P.M., Aizawa, H., Kim, P.S., Huang, A.S., Wickramasinghe, S.R., Kashani, A.H., Barrow, R.K., Haganir, R.L., Ghosh, A., & Snyder, S.H. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 2105-2110.
  - 54) Ishimaru, M., Kurumaji, A., & Toru, M. (1994) *Biol. Psychiatry*, 35, 84-95.
  - 55) Chumakov, I. Blumenfeld, M., Guerassimenko, O., et al. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99, 13675-13680.
  - 56) Goltsov, A.Y., Loseva, J.G., Andreeva, T.V., et al. (2006) *Mol. Psychiatry*, 11, 325-326.
  - 57) Li, D. & He, L. (2007) *Genetics*, 175, 917-922.
  - 58) Morita, Y., Ujike, H., Tanaka, Y., et al. (2007) *Biol. Psychiatry*, 61, 1200-1203.
  - 59) Steffek, A.E., Haroutunian, V., & Meador-Woodruff, J.H. (2006) *Neuroreport*, 17, 1181-1185.
  - 60) Verrall, L., Walker, M., Rawlings, N., et al. (2007) *Eur. J. Neurosci.*, 26, 1657-1669.
  - 61) Bendikov, I., Nadri, C., Amar, S., Panizzutti, R., De Miranda, J., Wolosker, H., & Agam, G. (2007) *Schizophr. Res.*, 90, 41-51.
  - 62) Detera-Wadleigh, S.D. & McMahon, F.J. (2006) *Biol. Psychiatry*, 60, 106-114.
  - 63) Hashimoto, K., Fukushima, T., Shimizu, E. et al. (2003) *Arch. Gen. Psychiatry*, 60, 572-576.
  - 64) Hashimoto, K., Engberg, G., Shimizu, E., Nordin, C., Lindström, L.H., & Iyo, M. (2005) *Biol. Psychiatry*, 29, 767-769.

- 65) Hashimoto, K. Fukushima, T., Shimizu, E. et al. (2004) *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 28, 385-388.
- 66) Coyle, J.T. & Tsai, G. (2004) *Int. Rev. Neurobiol.*, 59, 491-515.
- 67) Fuchs, S.A., Dorland, L., de Sain-van, der Velden, M.G., Hendriks, M., Klomp, L.W., Berger, R., & de Koning, T.J. (2006) *Ann. Neurol.*, 60, 476-480.
- 68) Gauchy, C., Nairn, A.C., Glowinski, J., & Prémont, J. (2002) *Neuroscience*, 114, 859-867.
- 69) Katsuki, H. Nonaka, M., Shirakawa, H., Kume, T., & Akaike, A. (2004) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311, 836-844.
- 70) Shleper, M., Kartvelishvily, E., Wolosker, H. (2005) *J. Neurosci.*, 25, 9413-9417.
- 71) Saigoh, K., Matsui, K., Takahashi, K., Nishikawa, T., & Wada, K. (1998) *Brain Res.*, 808 (1), 42-47.
- 72) Ogawa, M., Shigeto, H., Yamamoto, T., Oya, Y., Wada, K., Nishikawa, T., & Kawai, M. (2003) *J. Neurol. Sci.*, 210, 53-56.
- 73) Wu, S., Basile, A.S., & Barger, S.W. (2007) *Curr. Alzheimer Res.*, 4, 243-251.
- 74) Sasabe, J., Chiba, T., Yamada, M., Okamoto, K., Nishimoto, I., Matsuoka, M., & Aiso, S. (2007) *EMBO J.*, 26, 4149-4159.
- 75) Singh, L., Field, M.J., Ferris, P., Hunter, J.C., Oles, R.J., Williams, R.G., & Woodruff, G.N. (1996) *Psychopharmacology (Berl.)*, 127, 1-9.
- 76) Wake, K., Yamazaki, H., Hanzawa, S., Konno, R., Sakio, H., Niwa, A., & Hori, Y. (2001) *Neurosci. Lett.*, 297, 25-28.
- 77) Ren, W.H., Guo, J.D., Cao, H., Wang, H., Wang, P.F., Sha, H., Ji, R.R., Zhao, Z.Q., & Zhang, Y.Q. (2006) *J. Neurochem.*, 96, 1636-1647. Erratum in: *J. Neurochem.*, 2006, 98: 1344.
- 78) Santos, P., Bittencourt, A.S., Schenberg, L.C., & Carobrez, A.P. (2006) *Neuropharmacology*, 51, 203-212.
- 79) 山本直樹, 黒田安計, 西川 徹 (2007) 統合失調症の治療—臨床と基礎—(佐藤, 丹羽, 井上編), pp. 38-54, 朝倉書店, 東京.
- 80) Umino, A., Takahashi, K., & Nishikawa, T. (1998) *Br. J. Pharmacol.*, 124, 377-385.
- 81) Javitt, D.C., Balla, A., Burch, S., Suckow, R., Xie, S., & Ser-shen, H. (2004) *Neuropsychopharmacology*, 29, 300-307.
- 82) Heresco-Levy, U., Kremer, I., Javitt, D.C., Goichman, R., Reshef, A., Blanaru, M., & Cohen, T. (2002) *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 5, 301-307.
- 83) Guindon, J., Walczak, J.S., & Beaulieu, P. (2007) *Drugs*, 67, 2121-2133.

## 薬物依存における薬物再使用危険度評価尺度の開発と候補治療薬の探索

研究分担者：池田和隆<sup>1</sup>

研究協力者：大谷保和<sup>1</sup>、原口彩子<sup>1</sup>、西澤大輔<sup>1</sup>、小林大輔<sup>1</sup>、笠井慎也<sup>1</sup>、高松幸雄<sup>1</sup>、林田眞和<sup>2</sup>、妹尾栄一<sup>3</sup>、曾良一郎<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> 東京都精神医学総合研究所・分子精神医学研究チーム、<sup>2</sup> 埼玉医科大学国際医療センター麻酔科、<sup>3</sup> 東京都精神医学総合研究所・嗜癮行動研究チーム、<sup>4</sup> 東北大学大学院医学研究科精神神経生物学分野)

### [研究要旨]

本研究では、薬物依存における薬物再使用リスクを客観的な指標によって評価するシステムを構築すると同時に、モデル動物を用いて薬物依存治療薬を探索し、最終的にこれらを組み合わせて、治療薬の開発・評価ならびに治療プログラムの改善を目指している。今年度は、依存治療のために入院した患者を対象に、前年度までに開発した再飲酒リスク評価尺度ARRS(Alcohol Relapse Risk Scale)を複数回実施し、再飲酒に関わる認知のゆがみや行動の問題の変化と処方薬との関連を検討した。抗うつ薬投与がARRS合計得点と逆相関するなど、処方薬とARRSのスコアとの間の関連が見出された。また、研究分担者が標準化した尺度であるASI(Addiction Severity Index)日本語版(ASI-J)とSRRS(Stimulant Relapse Risk Scale)の法務機関への導入を前年度より引き続き推進しており、共同作成した法務省版SRRSの試行版は700例以上の薬物事犯受刑者で実施された。基礎研究では、モルヒネなどオピオイドに対する感受性と遺伝子多型との関連を検討し、ミューオピオイド受容体、G蛋白質活性化型内向き整流性カリウムチャネルおよびATP結合カセットB1トランスポーターの遺伝子多型が関連することを見出した。

### A. 研究目的

薬物乱用は、乱用者本人の精神を蝕むだけでなく、乱用者による通り魔などの凶悪事件の引き金や、暴力団の資金源となるなど、多くの犯罪の温床となっており、極めて深刻な社会問題と言える。日本における2002年新受刑者(31,355人)の中で、覚せい剤取締法違反者が、全体の21.6%(6,774人)を占めていることから、問題の大きさが窺える。また覚せい剤取締法違反者の半数は再犯者であり、覚せい剤乱用者の更正がいかに困難かを

示している。このように深刻な社会問題と化している薬物乱用に対して、行政・医療・研究・司法などが一体となって緊急に対策をとる必要がある。

しかしながら、日本において薬物依存症をターゲットとした治療には、①臨床評価を行う評価系の確立が不十分であるため、依存患者の重症度の診断・評価が担当医師の臨床経験のみに基づいて行われることが多く、統一的な評価に基づいた研究が進んでいない②依存症への薬物治療は覚せい剤精神病に伴う幻覚・妄想を抑制するものが中

心であり、薬物依存の依存自体をターゲットにした薬物治療法が確立されていないという問題があった。

このような状況において、本研究では、基礎研究・臨床研究を組み合わせる形で研究を進めている。臨床研究としては、依存症重症度を評価する尺度や薬物再使用リスクを測定する尺度など、薬物依存症患者の状態評価に必要なシステムの開発および標準化を行い、このシステムを用いて依存症患者の状態を多面的・定量的に把握できるようにする(①)。一方基礎研究としては、薬物依存の基礎的なメカニズムを、遺伝子欠損マウスなどを用いた先端的な手法によって解明し(②)、この研究で得られた知見から、再使用を抑制する治療薬の候補をリストアップし、候補薬の治療効果を動物を用いて検討する(③)。その後最終的に、基礎研究と臨床研究の成果を組み合わせる新たな研究を行う。具体的には、依存症患者を対象として、依存症評価システムを用いた新候補治療薬の効果検討を行い、治療・再発予防プログラムの改善を目指す(④)。以上が本研究の大目的である。

今年度は、上述の研究フローのうち、依存重症度評価尺度としての再飲酒リスク評価尺度ARRS(Alcohol Relapse Risk Scale)が、依存症患者の個人内変動を捉え、処方されている治療薬の効果を検討する上で有用であるか否かを明らかにすることを具体的な目的とした。また、基礎研究では、モルヒネやヘロインに代表されるオピオイドに対する感受性の遺伝子メカニズムの解明を目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 臨床研究

対象患者は、成増厚生病院で入院治療を受けたアルコール依存症患者 124 名。男性 106 名、女性 18 名。平均年齢は  $51.8 \pm 11.2$  歳。ARRS に①1 回

目・2 回目・3 回目いずれも回答している者は 17 名、②1 回目・2 回目のみ回答は 42 名、③1 回目・3 回目のみ回答は 25 名。

ARRS および再飲酒にかかわる変数(ビジュアルアナログスケール(VAS: 現在および過去 2 週間)、ストレスイベントの有無、自己愛性格傾向(NPI: Narcissistic Personality Index)など)を測定する調査を入院患者に数回にわたって(2 回~3 回: 入院 2 週間後・入院 1 か月半・入院 2 ヶ月後の退院面接時)継続的に実施した。

再使用と関連する可能性のある変数(ARRS および下位尺度、VAS による渴望感、抑うつ、状態不安)を従属変数とし、経時的な解析が可能なサンプル(上記①、②、③)を用い、各回での従属変数への回答、および各処方薬の処方の有無(セルシン・ワイパックス、抗不安剤、抗うつ剤、睡眠剤、抗精神病薬、抗酒剤)の 2 要因を独立変数とする Mixed-ANOVA を実施した。

サンプル①、②、③の処方人数を表 1 に示す。

	① (17)	② (42)	③ (25)
セルシン・ ワイパックス	15	34	21
抗不安薬	1	3	2
抗うつ薬	2	9	3
睡眠剤	12	27	18
抗精神病薬	1	5	1
抗酒剤	5	15	10

### 2. 基礎研究

オピオイドシステム関連遺伝子の多型がオピオイド感受性と関連するという作業仮説を立てて、次の 3 つの具体的な目標を定めて研究を進めた。

1) オピオイドシステム関連遺伝子の多型の同

定と、それらの特徴の解明

2) オピオイド感受性個人差をより正確に評価できる条件の構築と、表現型データおよびゲノム DNA の収集

3) 遺伝子多型と表現型データとの関連解明

以下に具体的解明方法を記す。

1) オピオイドシステム関連遺伝子の多型の同定と、それらの特徴の解明

ミューオピオイド受容体および G タンパク質活性型内向き整流性カリウム(GIRK)チャネルサブユニット遺伝子について、翻訳領域、非翻訳領域、プロモーター領域における多型を重点的に同定した。同定には、健常者約 50 名の遺伝子塩基配列解析を行った。次に、これらの多型に関して、連鎖不平衡解析を行い、多型の特徴を明らかにし、以下の相関解析を行う際の多型を選定した。

ATP 結合カセット B1 トランスポーター (ABCB1) は、オピオイドの薬物動態において重要な役割を果たしている分子である。この遺伝子については、今までに表現型との関連が報告されている T1236C、G2677T/A、C3435T の 3 つの多型を選定した。

2) オピオイド感受性個人差をより正確に評価できる条件の設定と、表現型データおよびゲノム DNA の収集

2-1. 健常者鎮痛：下顎骨切り術におけるオピオイド鎮痛薬（フェンタニル）による導入の前後で、痛覚テストを行い、健常者の鎮痛薬感受性を定量化した。

2-2. 術後鎮痛：下顎骨切り術または開腹手術を受ける患者に対して、患者自らが鎮痛薬を投与できるポンプ（PCA ポンプ）を用いることで、より適切に術後痛を取り除くとともに、オピオイド感受性個人差を正確に定量化した。

3) 遺伝子多型と表現型データとの関連解明

上記の被験者より血液または口腔粘膜を採取し、ゲノム DNA を精製した。上記 1 で選定された遺伝子多型を解析し、上記 2 で収集した表現型データとの関連を統計学的に解析した。

（倫理面への配慮）

研究の実施にあたっては、厚生労働・文部科学・経済産業省合同の「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した。下記の項目の倫理的配慮を適切に行うために、研究実施計画書を作成し、東京都精神医学総合研究所、東京大学医学部、東邦大学医学部、東京歯科大学、かずさ DNA 研究所、麻布大学、東北大学医学部、広島国際大学、国立がんセンターの各倫理委員会の承認を受け、研究を進めた。

1) 試料等は匿名化し、個人情報機関の外部に持ち出すことを原則として禁止した。

2) 文書にて研究の目的および方法を十分に説明し了解を得た後、提供者の自由意思に基づき書面によるインフォームド・コンセントを得て試料等の提供を受けた。

3) 遺伝カウンセリングの体制を必要に応じて用意した。

4) 研究状況の定期報告・実地調査、半数以上の外部委員で構成される倫理審査委員会での研究計画の事前審査を行った。

## C. 研究結果

### 1. 臨床研究

I. ARRSおよびVASのスコアと処方薬との関連解析（全サンプルの解析）

① サンプル 1（1 回目・2 回目・3 回目いずれも回答 17 名）

・ARRS 平均：経時変化×抗不安剤の交互作用が有意傾向 ( $p<.10$ )、抗酒剤の主効果 ( $p<.05$ ) が有意。

・ARRS 刺激脆弱性：経時変化×抗不安剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )。

- ・ARRS 感情的問題：抗酒剤の主効果 ( $p<.05$ ) が有意傾向。
- ・ARRS 衝動性：有意な効果なし。
- ・ARRS 酒害認識不足：有意な効果なし。
- ・ARRS ポジティブ期待：有意な効果なし。
- ・VAS (現在)：経時変化×抗酒剤の交互作用が有意傾向 ( $p<.10$ )。
- ・VAS (2週間)：有意な効果なし。

② サンプル2 (1回目・2回目のみ回答 42名)

- ・ARRS 平均：経時変化×セルシンの交互作用が有意 ( $p<.05$ )。セルシン投与群はスコアが下がり、非投与群は上がる傾向。
- ・ARRS 刺激脆弱性：有意な効果なし。
- ・ARRS 感情的問題：有意な効果なし。
- ・ARRS 衝動性：有意な効果なし。
- ・ARRS 酒害認識不足：経時変化×セルシン、経時変化×睡眠剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )。セルシン投与群は横ばい、非投与群はスコアが上昇する傾向。睡眠剤投与群はスコアが上昇、非投与群は変化なし。
- ・ARRS ポジティブ期待：経時変化×抗酒剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )、経時変化×セルシンの交互作用・抗不安剤の主効果が有意傾向 ( $p<.10$ )。抗酒剤投与群はスコアが低下、非投与群は変化なし。セルシンについても同様の傾向。
- ・VAS (現在)：有意な効果なし。
- ・VAS (2週間)：有意な効果なし。

③ サンプル3 (1回目・3回目のみ回答 25名)

- ・ARRS 平均：経時変化×抗酒剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )。抗酒剤投与群はスコアが低下、非投与群はほぼ変化なし。
- ・ARRS 刺激脆弱性：経時変化×抗不安剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )。抗不安剤投与群はスコアが上昇、非投与群は低下。
- ・ARRS 感情的問題：経時変化×抗酒剤の交互作用が有意傾向 ( $p<.10$ )。抗酒剤投与群はスコアが横ばい、非投与群はやや上昇する傾向。

- ・ARRS 衝動性：経時変化×抗酒剤の交互作用が有意 ( $p<.05$ )、セルシンの主効果が有意傾向 ( $p<.10$ )。抗酒剤投与群はスコアが低下、非投与群はほぼ横ばい。
  - ・ARRS 酒害認識不足：有意な効果なし。
  - ・ARRS ポジティブ期待：経時変化×抗酒剤の交互作用・抗精神病薬の主効果が有意傾向 ( $p<.10$ )。抗酒剤投与群は低下傾向、非投与群は上昇傾向。
  - ・VAS (現在)：抗酒剤の主効果が有意傾向 ( $p<.10$ )。
  - ・VAS (2週間)：抗酒剤の主効果が有意傾向 ( $p<.10$ )。
- II. ARRS スコアと処方薬、ストレスイベントおよびNPIとの関連解析 (①、②サンプルの1回目と2回目のデータのみの解析) (表2)
- ・抗うつ薬非投与群と比べて抗うつ薬投与群では、有意にARRSスコアが低かった。
  - ・抗酒剤非投与群と比べて抗酒剤投与群では、有意にARRSスコアが低かった。
  - ・ストレスイベントがあった場合、その後のARRSスコアが有意に高かった。
  - ・自己愛性格傾向の優越感の面のスコアが高い場合、および自己愛性格傾向の自己主張性の面のスコアが高い場合、ARRSスコアが有意に低かった。

表2：ARRSスコアの経時変化と処方薬、ストレス、自己愛との関連

①抗うつ剤・抗酒剤投与・非投与群のARRSスコアの推移		
	ARRS平均 1回目	ARRS平均 2回目
抗うつ薬非投与群	1.752	1.681
抗うつ薬投与群	1.288	1.416
抗酒剤非投与群	1.6574	1.6307
抗酒剤投与群	1.5698	1.5695

②ストレス・自己愛人格とARRSの相関係数		
	ARRS平均 1回目	ARRS平均 2回目
ストレスイベント1回目	0.327	0.406
ストレスイベント2回目	-0.008	0.424
NPI優越感	-0.419	-0.389
NPI自己主張性	-0.395	-0.306

\*赤字は $p<.05$ で有意  
1回目=入院2週間、2回目=入院1か月半

## 2. 基礎研究

ミューオピオイド受容体遺伝子では5つのタグSNP、GIRKチャネルサブユニットではGIRK2のプロモーター領域およびエクソン領域にそれぞれ1つのタグSNP、GIRK3ではアミノ酸置換を伴う多型を同定した。

オピオイド感受性個人差の評価条件の設定では、術後鎮痛に影響する診療データを抽出した。また、下顎骨切り術におけるプロトコルを確立し、本研究を行う上で理想的な診療データが得られる体制を整えた。具体的なプロトコルは以下の通りである。下顎骨切り手術を受ける患者において、導入時のオピオイド投与の前後に痛み感受性試験を行う。痛み感受性試験は、氷水に指をつけて、痛みを感じるまでの時間を測定する。手術後は、患者が自分自身でオピオイド鎮痛薬を投与することができるPCA (Patient Controlled Analgesia)ポンプによって鎮痛を行う。術後、3時間後と24時間後に、Visual Analog Scales (VASs)を用いてモルヒネ鎮痛効果の評価を行うと共に、嘔気、眠気、呼吸抑制などのオピオイドの副作用の重度を調査する。このプロトコルを用いることで、健常者におけるオピオイド鎮痛効果を定量的に測定することができる。また、患者への負担および医療関係者への過度の負担をさけることができ、効率的かつ的確に鎮痛薬作用強度を評価するシステムが確立した。

ゲノムと診療データのセットの収集では、術後鎮痛に関して、350例以上を収集した。また、健常者でのオピオイド感受性データに関しては、250例以上を収集した。

遺伝子多型と表現型データとの関連解析では、ミューオピオイド受容体、GIRKチャネル、およびABCB1に関して、遺伝子多型とオピオイド感受性との間の関連を見出した。

ミューオピオイド受容体に関しては、5つのタ

グSNPの内、A118G多型がG/G型の患者群は、そうでない遺伝子型の患者群と比べて有意に鎮痛薬投与量が多いことが見出された(図1)。また、5つのタグSNPのハプロタイプ解析により、ハプロタイプと鎮痛薬感受性が関連することが明らかとなった。

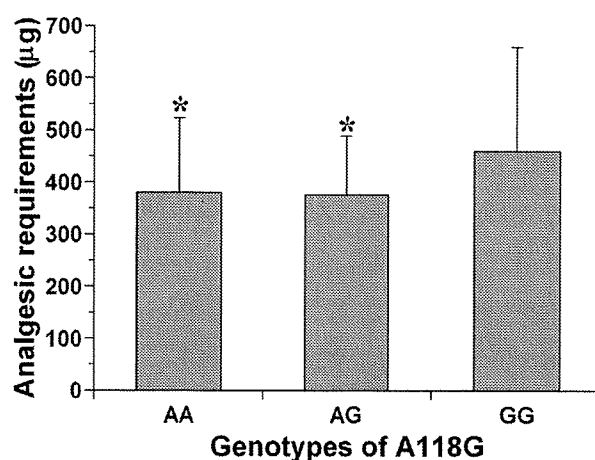


図1: ミューオピオイド受容体遺伝子A118G多型の遺伝子型による必要鎮痛薬量の違い

GIRKチャネルに関しては、GIRK2遺伝子多型とオピオイド感受性との間に関連がある可能性を見出した。具体的には、A1032G多型がA/A型の人とはそうでないA/G型またはG/G型の人と比べて約2倍オピオイド鎮痛薬の投与回数と投与量が必要であったことが明らかとなった。さらに、この多型とG-1250A多型とを組み合わせると、より顕著な差が見出された。A1032G多型がA/A型でG-1250A多型がG/G型の方は、そうでない遺伝子型の人と比べて、4倍以上の鎮痛薬投与回数と投与量が必要であった。

ABCB1遺伝子に関しては、T1236C多型がC/Cの遺伝子型を有する患者群は、C/TまたはT/Tの遺伝子型を有する患者群と比較して、術後24時間における鎮痛薬投与必要回数が有意に少なかった(P = 0.039)。G2677T/A、C3435Tの2つの多型に関しては、臨床データとの有意な関連は見出されなかった。

に回答しない可能性が考えられた。

## D. 考察

### 1. 臨床研究

- ・処方分布から、セルシン・ワイパックス、睡眠薬は大部分、抗酒剤は半分程度処方されており、一方抗うつ剤・抗精神病薬・抗不安薬は処方されたケースが少なく、前3つが治療上基本投与され、後3つは症状に応じて処方されていたと考えられる。
- ・ARRS・VAS・STAI・CES-D など全ての再発リスク関連変数に関して、治療による経時的変化は見られなかった。①入院時は環境が一定のためこれらの心理的変数も安定しやすい②入院時から初回調査までの2週間の間に何らかの変化が生じていた③尺度がうまく問題を測定できていない（否認など正直にデータに答えていない）などの可能性が考えられる。
- ・処方薬の効果については、抗酒剤・セルシン・ワイパックスに関してはリスク認知を低下させる方向で機能していた一方（特に抗酒剤の効果が顕著）、抗不安剤・抗精神病薬・睡眠剤はリスク認知を高める方向で機能していた。ただし処方薬の主効果（特定の薬を飲んでいる群と飲んでいない群に時系列にかかわらず一貫して差がある）もいくつか認められており、薬を飲んだからリスク認知が下がったのか、もともとリスク認知が低く治療動機づけの高い患者さんが結果的にきちんと薬を飲んでいただけだったのか、因果の方向性は不明。また、抗不安剤・精神病薬については服薬している患者数がかなり少ないので、結果の解釈に慎重になる必要がある。
- ・入院2週間後と1ヵ月半後のデータのみを分析すると、抗うつ薬投与群と抗酒剤投与群は再飲酒リスクが低く、ストレスイベントがあると再飲酒リスクが高まっていた（図2）。自己愛性格の自己主張性が強いとARRSスコアが低く正直

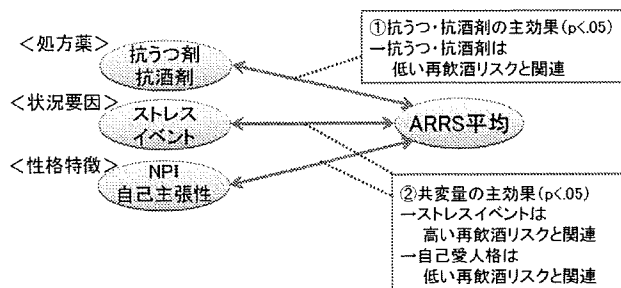


図2：ARRS スコアと処方薬、ストレス、自己愛との関連模式図

・方法、結果には示していないが、本研究では研究分担者らが標準化した尺度であるASI(Addiction Severity Index)日本語版(ASI-J)とSRRS(Stimulant Relapse Risk Scale)の法務機関への導入を前年度より引き続き推進している。法務省と連携して開発した法務省版SRRSの試行版は、700例以上の薬物事犯受刑者で実施された。今後、これらのデータを解析することで、従来研究がほとんどなされていなかった日本の受刑者における薬物依存重症度を明らかにすることができるかと期待される。また、法務省版SRRSは近い将来、刑務所における標準ツールとして用いられる予定であり、受刑者の薬物に対する認知や行動の問題を把握しながら薬物乱用防止教育プログラムを実施できるようになり、再犯率の低下に繋がる可能性がある。

### 2. 基礎研究

#### <遺伝子多型の同定>

100箇所を超えるミューオピオイド受容体遺伝子多型から、5つのタグSNPを選定できたことで、今後効率的にミューオピオイド受容体遺伝子多型解析を進めることが出来る。GIRK 遺伝子多型はデータベース上に情報があるものの、論文報告が無く、連鎖不平衡ブロックの情報なども知られていなかった。今回、解析すべきSNPを同定する



ことが出来たので、今後効率的に多型解析を進めることが可能となった。

#### <新規プロトコルの作成>

本研究によって、健常者に対するオピオイド感受性を定量的に測定する方法が確立した。癌性疼痛や手術による痛みは、痛み自体が同じではないので、正確なオピオイド感受性を測定することは不可能である。健常者に一定の痛みを与えて、オピオイドの効果を測定することは、この観点から理想的である。しかし、オピオイドの多くは麻薬であり、健常者に投与することは倫理的にもきわめて難しい。今回確立したプロトコルでは、下顎骨切り手術という健常者が受ける形成外科手術を対象とすることで、健常者におけるオピオイド感受性の測定がはじめて可能になった。また、患者が痛いときに自分でオピオイド鎮痛薬を投与できる PCA ポンプを導入することで、より良い疼痛治療ができるとともに、定量的にオピオイド感受性を測定することが可能になった。今回のプロトコルの確立により、オピオイド感受性の個人差をより正確に評価することができるようになった。

#### <遺伝子多型と診療データとの関連解析>

今回、200 例以上の疼痛治療患者において遺伝子多型と鎮痛効果との関連が解析され、オピオイド受容体、GIRK、ABCB1 に関して、その遺伝子多型がオピオイド感受性と関連することが見出された。これは、今後のテーラーメイド医療を行う上で基盤となる知見である。

## E. 結論

ARRS の縦断実施により、抗うつ薬と抗酒剤が再飲酒リスクを低め、ストレスイベントが再飲酒リスクを高める可能性が示された。また、自己愛性格の自己主張性が強い患者は ARRS スコアが低めになるように回答することから、再飲酒リスクを予測する際に注意が必要であると考えられる。

ARRS は、再飲酒リスクの個人内変動を捉える上でも薬効評価においても有用であることが示された。

オピオイドシステム関連遺伝子に関して、解析すべき多型を選定した。DNA と表現型のセットの収集は、オピオイドを投与された患者が累計 350 例以上、痛み検査に協力した健常者が累計 250 例以上となり、順調に進んだ。また、ミューオピオイド受容体、GIRK チャネル、ABCB1 の遺伝子多型が、オピオイド感受性と関連することを見出した。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### (1)原著

1. Koide T, Catanesi CI, Nishi A, Shiroishi T, Kasai S, Ikeda K, Takahashi A.: Systematic mapping of pain-related QTL using consomic mouse strains: Advantage of using wild-derived strains. **Brain Res J** in press.
2. Ogai Y, Yamashita M, Endo K, Haraguchi A, Ishibashi Y, Kurokawa T, Muratake T, Suga R, Hori T, Umeno M, Asukai N, Senoo E, Ikeda K.: Application of the relapse risk scale to alcohol-dependent individuals in Japan: comparison with stimulant abusers. **Drug Alcohol Depend** 101:20-26, 2009.
3. Kobayashi T, Hirai H, Iino M, Fuse I, Mitsumura K, Washiyama K, Kasai S, Ikeda K.: Inhibitory effects of the antiepileptic drug ethosuximide on G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. **Neuropharmacology** 56:499-506, 2009.
4. Hayashida M, Nagashima M, Satoh Y, Katoh R, Tagami M, Ide S, Kasai S, Nishizawa D, Ogai Y, Hasegawa J, Komatsu H, Sora I, Fukuda K, Koga H, Hanaoka K, Ikeda K.: Analgesic requirements

after major abdominal surgery are associated with *OPRM1* gene polymorphism genotype and haplotype. **Pharmacogenomics** 9(11):1605-1616, 2008.

5. 青木淳, 池田和隆, 大谷保和, 岩橋和彦: セロトニントランスポーター3'非翻訳領域(5-HTT 3' UTR)遺伝子多型と痛覚閾値およびパーソナリティとの関連研究. **精神医学** 50(8):819-825, 2008.
6. Shigeta Y, Kasai S, Han W, Hata H, Nishi A, Takamatsu Y, Hagino Y, Yamamoto H, Koide T, Shiroishi T, Kasai K, Tsunashima K, Kato N, Ikeda K.: Association of morphine-induced antinociception with variations in the 5' flanking and 3' untranslated regions of the mu opioid receptor gene in 10 inbred mouse strains. **Pharmacogenet Genomics** 18(11):927-936, 2008.
7. Ide S, Minami M, Ishihara K, Uhl GR, Satoh M, Sora I, Ikeda K.: Abolished thermal and mechanical antinociception but retained visceral chemical antinociception induced by butorphanol in mu-opioid receptor knockout mice. **Neuropharmacology** 54:1182-1188, 2008.

## (2)著書

1. Nishizawa D, Hayashida M, Nagashima M, Koga H, Ikeda K.: Genetic polymorphisms and human sensitivity to opioid analgesics. In: *Methods in Molecular Biology* (Arpad Szallasi, ed), The humana press Inc, Totowa, in press.
2. Koide T, Catanesi CI, Nishi A, Shiroishi T, Kasai S, Ikeda K, Takahashi A.: Advantage of using wild-derived mouse strains for a variety of pain-related studies: Genetic diversity and new genetic tools. In: *Acute Pain* (Columbus F, ed), Nova Science Publishers, New York, in press.
3. Kobayashi D, Nishizawa D, Kasai S, Hasegawa J, Nagashima M, Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Hayashida M, Fukuda K, Ikeda K.: Association between analgesic requirements after major abdominal surgery and polymorphisms of the opioid metabolism-related gene *ABCB1*. In: *Acute Pain* (Columbus F, ed), Nova Science Publishers, New York, in press.
4. Nishizawa D, Kobayashi T, Ikeda K.: Potassium channels. In: *Peripheral receptor targets for analgesia: novel approaches to pain treatment* (Brian E. Cairns, ed), John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, in press.
5. 池田和隆: 快情動と依存. In: シリーズ脳科学 ⑥, 精神の脳科学(甘利俊一監修, 加藤忠史編), pp71-100. 東京大学出版会, 東京, 2008.

## (3)総説

1. 曾良一郎, 猪狩もえ, 池田和隆: 薬物依存とメチルフェニデート. **精神神経学雑誌** 110:941-945, 2008.
2. 小林大輔, 笠井慎也, 池田和隆: 鎮痛薬感受性個人差の遺伝的因子. **Anesthesia 21 Century** 10(3-32):4-12, 2008.
3. 笠井慎也, 池田和隆, 下山直人: がん性疼痛患者におけるオピオイドの作用, 副作用に関する遺伝子解析. **ペインクリニック** 29:S439-S449, 2008.
4. 笠井慎也, 池田和隆: 鎮痛薬感受性個人差の遺伝子メカニズム. **LiSA** 15[別冊'08]:96-105, 2008.
5. 井手聡一郎, 笠井慎也, 池田和隆: 医療用麻薬の鎮痛効果の個人差. **神経精神薬理学雑誌** 28:43-48, 2008.
6. Kasai S, Hayashida M, Sora I, Ikeda K.: Candidate gene polymorphisms predicting individual sensitivity to opioids. **Naunyn**

Schmiedebergs Arch Pharmacol 377:269-281, 2008.

## 2. 学会発表

### (1)特別講演、シンポジウム

1. 大谷保和, 池田和隆: 薬物依存における再使用リスク評価尺度の開発と応用. [ポスター発表]. 財団法人東京都医学研究機構第8回研究交流フォーラム, フィオーレ東京, 東京 [2009/01/21].
2. 山本秀子, 池田和隆: 遺伝子発現変化解析による薬物依存治療薬の探索. [ポスター発表]. 財団法人東京都医学研究機構第8回研究交流フォーラム, フィオーレ東京, 東京 [2009/01/21].
3. 高松幸雄, 池田和隆: 行動科学的解析による薬物依存治療薬の探索. [ポスター発表]. 財団法人東京都医学研究機構第8回研究交流フォーラム, フィオーレ東京, 東京 [2009/01/21].
4. 池田和隆: 薬物依存治療薬の探索と再使用リスク評価尺度の開発 [講演]. 財団法人東京都医学研究機構第8回研究交流フォーラム, フィオーレ東京, 東京 [2009/01/21].
5. 池田和隆: 【6】抗てんかん薬エトスクシמידによる GIRK チャンネルの抑制効果 [座長] 第17回新潟分子神経病理研究会, 新潟大学脳研究所, 新潟 [2008/12/06].
6. 池田和隆: 心の分子メカニズムの研究法 [講義] 大学院特論II, 東京大学大学院, 東京 [2008/12/01].
7. 池田和隆: 鎮痛薬感受性の個人差 [講演]. 第37回精神研シンポジウム「緩和医療研究の動向ーがんの痛みをやわらげるー」, 津田ホール, 東京 [2008/10/20].
8. 池田和隆: 脳内の報酬系ー行動生理学の最新の研究成果をふまえてー [講義] 「脳の生理学」特別講義, 玉川大学, 町田 [2008/05/21].

### (2)国際学会

1. Yamamoto H, Yasumoto S, Tamura K, Hasegawa R, Ikeda K, Yamamoto T.: Inhibition of vesicular monoamine transporter 2 by selective serotonin reuptake inhibitors. The Society for Neuroscience 2008, Washington DC, USA [2008/11/18].
2. Yamamoto H, Hasegawa R, Imai K, Kamegaya E, Hagino Y, Yamamoto T, Mishina M, Koga H, Ikeda K.: Phencyclidine-induced gene expressions were altered in the striatum of NMDA receptor epsilon 4 subunit knockout mice. Frontiers in Addiction Research: 2008 NIDA Mini-Convention, Washington DC, USA [2008/11/14].
3. Nishizawa D, Hasegawa J, Kasai S, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Iwata N, Sora I, Higuchi S, Ikeda K.: Association of *GIRK3* gene polymorphisms with methamphetamine and alcohol dependence. The American Society of Human Genetics 58th Annual Meeting, Philadelphia, USA [2008/11/12].

### (3)一般学会

1. 池田和隆: 快・不快情動発現制御の神経回路機構. 平成19年度実施事業に係る日米科学技術協力事業「脳研究」分野 研究成果報告会, 東京 [2008/12/11].
2. 池田和隆: 鎮痛薬感受性個人差の遺伝子メカニズム: マウスからヒトへ. 第17回新潟分子神経病理研究会, 新潟 [2008/12/06].
3. 池田和隆, 西澤大輔: 喫煙及び肺がんに関連する遺伝子多型の網羅的探索とオピオイド系遺伝子の重点解析. 特定研究「遺伝子多型と喫煙ー肺がんを中心としてー」事前検討会, 東京 [2008/12/05].

4. 池田和隆, 高松幸雄, 萩野洋子, 山本秀子, 曾良一郎: モデル動物を用いた ADHD の病態メカニズムの研究. 平成 20 年度 精神・神経疾患研究委託費 発達障害関連研究班 合同シンポジウム, 小平 [2008/11/23].
5. 池田和隆, 高松幸雄, 萩野洋子, 山本秀子, 曾良一郎: 発達障害モデル動物の行動薬理解析による病態解明と治療薬の開発. 厚生労働省 精神・神経疾患研究委託費 18 指-3 「発達障害の病態解明に基づいた治療法の開発に関する研究」 班会議, 小平 [2008/11/22].
6. Han W, Takamatsu Y, Endo S, Shirao T, Kojima N, Ikeda K.: ICER 遺伝子欠損マウスおよび ICER 遺伝子異常発現させたマウスにおけるメタンフェミン依存作用に関する研究. 研究交流会 首都大バイオコンファレンス 2008, 八王子 [2008/10/23].
7. 池田和隆, 西澤大輔, 笠井慎也, 林田眞和: 鎮痛薬感受性個人差の遺伝子メカニズムの臨床応用. 第 2 回日本緩和医療薬学会年会, 横浜 [2008/10/19].
8. 池田和隆: 都精神研における薬物依存研究. 精神疾患の分子神経生物学的研究のためのワークショップ-米国・日本の研究教育機関における研究の取り組み-, 東京 [2008/10/10].
9. Nishizawa D, Hasegawa J, Kasai S, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Iwata N, Sora I, Higuchi S, Ikeda K.: GIRK チャネル遺伝子 *GIRK3* の遺伝子多型とメタンフェタミン依存症及びアルコール依存症との関連. 第 18 回日本臨床精神神経薬理学会・第 38 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京 [2008/10/02].
10. 池田和隆, 高松幸雄, 萩野洋子, 曾良一郎: メチルフェニデートの精神神経系に及ぼす影響. 第 18 回日本臨床精神神経薬理学会・第 38 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京 [2008/10/02].
11. Han W, Takamatsu Y, Endo S, Shirao T, Kojima N, Ikeda K.: Inhibitory role of inducible cAMP early repressor (ICER) in methamphetamine-induced locomotor sensitization: a study in ICER knockout and ICER I overexpressing mice. 第 18 回日本臨床精神神経薬理学会・第 38 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京 [2008/10/02].
12. 高松幸雄, 萩野洋子, 山本秀子, 曾良一郎, 池田和隆: ドーパミントランスポーター欠損マウスの注意と学習に対する methylphenidate の効果. 第 18 回日本臨床精神神経薬理学会・第 38 回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京 [2008/10/01].
13. 妹尾栄一, 大谷保和, 大原美知子, 原口彩子, 池田和隆: 性差の観点からみた日本の薬物乱用者の特徴. 平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 横浜 [2008/09/18].
14. 堀達, 原口彩子, 大谷保和, 妹尾栄一, 小宮山徳太郎, 池田和隆: Relapse Risk Index を用いたアルコール依存症の薬物療法の検討. 平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 横浜 [2008/09/18].
15. Yamamoto H, Takamatsu Y, Imai K, Kamegaya E, Hagino Y, Watanabe M, Yamamoto T, Sora I, Koga H, Ikeda K.: Mop reduction during long-term methamphetamine withdrawal was restored by chronic post-treatment with fluoxetine. 平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 横浜 [2008/09/17].
16. Yamamoto H, Hasegawa R, Imai K, Kamegaya E, Hagino Y, Yamamoto T, Mishina M, Koga H, Ikeda K.: Genetic ablation of nmda receptor epsilon 4 subunit affects phencyclidine-induced gene expressions in the striatum. 平成 20 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 横浜 [2008/09/17].