

30%は統合失調症を発症することから、22q11領域に発症脆弱性遺伝子が存在する可能性が示唆されている。catechol-O-methyl transferase (COMT) 遺伝子は22q11領域に存在する。COMTはドパミンなどのカテコールアミンを分解する酵素であり、前頭前野の細胞外ドパミン遊離量や認知機能の調節に関与している分子である。COMTには溶解型および膜貫通型が存在し、それぞれに酵素活性に影響する機能的多型が存在することが確認されている。溶解型についてはコドン108が、膜貫通型についてはコドン158がバリンまたはメチオニンとなる多型が存在する。メチオニン型はバリン型の25%程度の活性を有する。シナプス間隙のドパミン量が少ないと推定されるバリン型COMTを有する統合失調症患者では、作業記憶能力および前頭葉皮質の活動低下が認められる<sup>13)</sup>。

## 2) Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein of 32kDa

dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein of 32kDa (DARPP-32)はドパミン作動性神経系の細胞内情報伝達に重要な役割を果たしている分子である。DARPP-32は前頭前皮質や帯状回に高発現しており、ヒトにおいてDARPP-32の発現異常は前頭前皮質の体積減少や活動低下、作業記憶および実行機能の障害につながることを報告されている<sup>14)</sup>。統合失調症患者の死後脳解析において背外側前頭前皮質のDARPP-32の発現が減少していること<sup>15)</sup>、DARPP-32遺伝子の高頻度ハプロタイプが統合失調症と有意に関連していることが報告されている<sup>14)</sup>。興味深いことに、DARPP-32遺伝子の位置する染色体17q12領域は統合失調症の発症脆弱性遺伝子座位であることが示されている<sup>16)</sup>。

## 3) Calcineurin

calcineurinはカルシウム依存性セリン/スレオニンフォスファターゼであり、DARPP-32の脱リン酸化に関与する分子である。calcineurinの $\gamma$ サブユニットをコードするPPP3CC遺伝子の多型解析において統合失調症と相関が認められている<sup>17)</sup>。また、calcineurin KOマウスでは多動、社会性行動の低下、感覚情報処理能力

の障害およびNMDA受容体アンタゴニストに対する反応性が低下していることが報告されている<sup>18)</sup>。

## 4) Brain-derived neurotrophic factor

brain-derived neurotrophic factor (BDNF)は神経の発達、再生および生存を促進する作用を有している神経栄養因子である。BDNFは中脳辺縁系ドパミン作動性神経系の発達およびドパミンD3受容体の発現調節に重要な役割を果たしており、統合失調症の神経病態にBDNFが関与していると考えられている。メタ解析において、BDNF遺伝子C270Tの多型は統合失調症に関連していることが示されている<sup>19)</sup>。一方、BDNF遺伝子のG196AおよびVal66Metの多型については、統合失調症との関連性が認められない<sup>19)20)</sup>。

## 5) Neuregulin 1

アイスランドの統合失調症患者における全ゲノム連鎖解析からみいだされた分子としてneuregulin 1 (NRG1)およびNRG1受容体ErbB4がある。NRG1およびErbB4ヘテロKOマウスでは、感覚情報処理機構の障害および新規環境における多動を示し、これらの障害は非定型抗精神病薬のclozapineにより改善する<sup>21)</sup>。特に、NRG1プロモーター領域の遺伝的多様性が統合失調症患者に認められる前頭葉および側頭葉の活動低下、精神症状の進行と関連していることが示唆されている。前頭葉皮質の錐体神経細胞においてNRG1プロモーターの活性化は細胞表面に存在するNMDA受容体の細胞内移行を促進し、その機序としてクラスリンが関与していることが見出されている<sup>22)</sup>。また、統合失調症患者の前頭葉皮質においてNRG1刺激によるErbB4の活性化はNMDA受容体NR2Aサブユニットのチロシンリン酸化を減少させる<sup>23)</sup>。その他にもNRG1は、神経発達、神経伝達およびシナプス可塑性に関与していることが知られている。

## 6) Dysbindin binding protein 1

dysbindin binding protein 1 (dysbindin)は認知機能や記憶に関与している分子であり、統合失調症患者の脳内におけるdysbindinの発現が健常者にくらべて減

少している<sup>24)</sup>。遺伝学的研究においても、*dysbindin* 遺伝子 (DTNBP1) の SNPs と統合失調症との有意な相関が示されている<sup>25)</sup>。*dysbindin* はシナプス小胞, postsynaptic density (PSD) および微小管に局在し, ドパミンおよびグルタミン酸作動性神経系の機能制御に関与している。自然変異によって *DTNBP1* 遺伝子が欠損したマウス (sandy マウス) では, 社会性行動および記憶の障害が観察される<sup>26)</sup>。また, sandy マウスではシナプス小胞の膜融合に必要な SNAP25 と結合する snapin の発現が減少し, シナプス小胞の形態学的異常と小胞の開口放出に障害が認められる<sup>26)</sup>。したがって, *dysbindin* の減少による snapin の不安定化が統合失調症で認められる神経伝達および行動の異常に関与している可能性が示唆されている。

## 7) G72

Chumakov ら<sup>27)</sup>は統合失調症との連鎖が示唆されている 13q34 染色体の 5Mb 領域について 191 個の SNPs をマーカーとして連鎖解析を行った。その結果, 統合失調症と関連する 65-kb の領域を発見し, この遺伝子領域にコードされる G72 を同定した。その後の機能解析により, G72 は D-amino acid oxidase (DAAO) を活性化作用を有していることが示された。DAAO は D-セリンなどの D-アミノ酸を酸化する酵素であり, *DAAO* KO マウスでは脳内の D-セリン濃度が上昇している<sup>28)</sup>。一方, 統合失調症患者の前頭前野背外側部では健常者に比べて G72 の発現が有意に増加していることが報告されている<sup>29)</sup>。D-セリンは NMDA 受容体の活性化作用を有していることから, G72 の発現増加に伴う D-セリンの減少が統合失調症における NMDA 受容体の機能低下に関与している可能性がある。

## 8) Proline dehydrogenase

proline dehydrogenase (*PRODH*) はプロリンを分解する酵素であり, *PRODH* 遺伝子は染色体 22q11 領域にコードされている。22q11 領域の多型解析では, *PRODH* 遺伝子 SNP のハプロタイプが有意に統合失調症と相関した。特に, このハプロタイプは統合失調症の早期発症例で多く認められた<sup>30)</sup>。また, *PRODH* 遺伝子

変異を伴う先天性高プロリン血症において, 統合失調症との関連性が示唆されている<sup>31)</sup>。*PRODH* 遺伝子 KO マウスは感覚情報処理の障害を示し, 脳内のグルタミン酸および GABA の含量が野生型マウスにくらべて減少している<sup>32)</sup>。

## 9) Regulator of G-protein signaling 4

regulator of G-protein signaling 4 (*RGS4*) は G 蛋白質共役型受容体の下流シグナルを抑制する分子であり, group 1/5 代謝型グルタミン酸受容体のシグナル伝達に関与している。連鎖解析により *RGS4* の多型と統合失調症との関連が示唆されている。統合失調症患者の前頭前野背外側部において, *RGS4* の発現が減少していることが報告されている<sup>33)</sup>。また, 実験動物では, ストレス負荷やグルココルチコイド投与によって *RGS4* の発現が変化することから, 環境因子との関連性が示唆されている<sup>34)</sup>。

## 10) Disrupted-in-schizophrenia-1

disrupted-in-schizophrenia-1 (*DISC1*) はスコットランドにおいて統合失調症や気分障害など精神障害発生率の高い家系より発見された遺伝子である<sup>35)</sup>。この家系において精神障害を発症したヒトでは, *DISC1* の 1 番染色体長腕と 11 番染色体長腕の相互転座が認められる。染色体の転座により C 末端アミノ酸の一部が欠損した変異型 *DISC1* が産生される。ヒトの脳内における *DISC1* の発現は大脳皮質および海馬に認められる。*DISC1* は kinesin-1, NUDEL, LIS1, 14-3-3ε などの蛋白と結合することが示され, 神経突起の伸長および神経細胞の移動を制御していることが見出されている<sup>36)</sup>。変異型 *DISC1* を導入したトランスジェニックマウスにおいて, 多動, 感覚情報処理障害および意欲低下が観察されている<sup>37)</sup>。タモキシフェンによる遺伝子発現誘導システムを用いて生後 7 日目に変異型 *DISC1* を誘導させたトランスジェニックマウスでは作業記憶障害および意欲低下, 神経突起および神経伝達に障害が認められる<sup>38)</sup>。一方, 3ヵ月齢に変異型 *DISC1* を誘導させたトランスジェニックマウスではこれらの異常は認められないことから, 発達期における変異型 *DISC1* の発現が統合失調症の発症に関与していると考えられる。

### 11) $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor

統合失調症患者ではコリン作動性神経系の障害が認められる。アセチルコリンの作用する受容体にはムスカリン受容体およびニコチン受容体があり、認知機能に重要な役割を果たしている。遺伝学的研究において、 $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor 遺伝子 (*CHRNA7*) のプロモーター領域の変異が統合失調症患者に多いことが報告されている<sup>39)</sup>。*CHRNA7* 遺伝子の変異を有する統合失調症患者では事象関連電位 P50 抑制に代表される聴覚情報処理の障害が認められることから、*CHRNA7* 遺伝子変異は受容体の機能に関与していると考えられる。一方、統合失調症患者の死後脳では、ニコチン受容体の発現が減少していることが示されている<sup>40)</sup>。単一光子放射断層撮影 (single photon emission computed tomography : SPECT) を用いた研究において、皮質、視床および大脳基底核のムスカリン受容体の発現が減少していることが報告されている<sup>41)</sup>。

### 12) AKT1

phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 経路は、細胞の増殖、分化、移動、生存などを担う重要な細胞内情報伝達系の1つである。Emamianら<sup>42)</sup>は、統合失調症患者の末梢リンパ球と脳において、AKT1蛋白質とリン酸化 GSK3 $\beta$  のレベルが健常者に比べて低下していること、*AKT1* 遺伝子のハプロタイプは統合失調症と有意な相関を示すことを報告している。また、*AKT1* KO マウスでは、アンフェタミンによる感覚情報処理機構の障害効果が増大することから、AKT1 遺伝子が統合失調症に関与している可能性が示唆されている。

## 3. 新規抗精神病薬の開発

統合失調症の治療薬として、ドパミン D2 受容体拮抗作用を有する定型抗精神病薬の他、ドパミン D2 受容体拮抗作用に加えてセロトニン受容体やその他の神経伝達物質受容体に作用する非定型抗精神病薬が臨床で用いられている。定型抗精神病薬および非定型抗精神病薬は陽性・陰性症状を改善するが、これら既存の薬物で適切な治療を行っても認知障害は改善されにくいことが問題となっている。現在、神経伝達物質および受容体を標的と

して、認知障害に対する治療薬の開発が盛んに行われている。

前述したように、統合失調症の陰性症状・認知障害には中脳一皮質系ドパミン作動性神経系の機能低下が関与していると考えられており、現在臨床ではドパミン D2 受容体部分作動薬であるアリピプラゾールの使用が試みられている。一方、前頭前皮質ではドパミン D1 受容体がドパミン D2 受容体にくらべて高発現していること、ドパミン D1 受容体は作業記憶などの認知機能に関与していることから<sup>43)</sup>、ドパミン D1 受容体作動薬の開発が進められている。dihydropyridine (DAR-0100) はドパミン D1 受容体に対して高親和性を示し (IC<sub>50</sub> 10nM)、ドパミン D1 受容体を介したアデニール酸シクラーゼ活性化作用はドパミンにくらべて 70 倍の強さを有する<sup>44)</sup>。臨床研究において、DAR-01000 の単回皮下注射は認知機能に有意な改善効果は認められなかったが、投与直後から脳血流が著しく増加することが示されている<sup>45)46)</sup>。

コリン作動性神経系は注意、記憶、情報処理速度および感覚情報処理などの能力に関係しており、統合失調症患者ではこれらの機能に障害が認められる。azabicyclic aryl amide を基本骨格とした新規  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor ( $\alpha 7$  nAChR) 作動薬として PHA-709829 が開発されている。PHA-709829 は  $\alpha 7$  nAChR に対して高い親和性 (Ki 3.4nM) と中枢移行性 (脳/血漿濃度比 1.5) を示す。PHA-709829 はアンフェタミンを投与したラットに認められる聴覚情報処理の障害を改善する<sup>47)</sup>。一方、Olinicyら<sup>48)</sup>は天然アルカロイド anabaseine の誘導体である 3-(2,4-dimethoxybenzylidene) anabaseine (DMXB-A) を開発した。DMXB-A は  $\alpha 7$  nAChR 部分作動薬であり、統合失調症患者を対象とした臨床試験では認知機能および事象関連電位 P50 抑制の障害に対して有意な改善効果が認められている。最近報告された第二相臨床試験において、DMXB-A はプラセボと比較して陰性症状を有意に改善するが、認知機能に対しては DMXB-A とプラセボとのあいだに有意な差は認められなかった<sup>49)</sup>。しかし、DMXB-A は服薬前のベースラインと比較して注意・覚醒、作業記憶および言語学習を改善する。

NMDA 受容体は神経伝達物質としてのグルタミン酸

結合部位の他に、グリシン結合部位が存在する。グリシン結合部位を刺激しても、グリシン単独では神経伝達を生じさせる効果はないが、グルタミン酸結合部位にアゴニストが結合するのに必須であり、チャンネル開口頻度を上昇させて神経伝達を促進する。実験動物において、グリシン結合部位のアゴニストである D-serine は PCP による異常行動を抑制する。また、D-serine および D-cycloserine は統合失調症患者の陰性症状および認知障害を改善することが報告されている<sup>50)51)</sup>。一方、グリシントランスポーターを阻害することにより、間接的に細胞外のグリシン濃度を増加させる試みもなされている。統合失調症患者において、グリシントランスポーター阻害薬である sarcosine は陽性症状、陰性症状および認知障害を改善することが報告されている<sup>51)</sup>。

実験動物において Group 2/3 代謝型グルタミン酸受容体アゴニスト (LY404039) が PCP によって惹起される異常行動を抑制する。LY404039 はバイオアベイラビリティが低いことから、経口投与可能な LY404039 のプロドラッグである LY2140023 が開発されている<sup>51)</sup>。臨床試験において、LY2140023 は非定型抗精神病薬のオランザピンとほぼ同程度の改善効果を示し、オランザピンに認められるプロラクチンの上昇、錐体外路系の障害や体重増加などの副作用は認められない<sup>52)</sup>。したがって、LY2140023 は有効性および安全性を備えた新規抗精神病薬となる可能性が高い。

## おわりに

これまでに、統合失調症の発症脆弱性に関与することが示唆されている遺伝子が数多く報告されている。本稿では主要な遺伝子について概説し、その内容を表 1 にまとめた。統合失調症の病態は複雑であり、いまだ病因の解明には至っていないのが現状である。しかし、統合失調症の発症に関与している脆弱性遺伝子が同定され、その機能が徐々に明らかになりつつある。現在のところ、神経伝達物質受容体を中心に新しい抗精神病薬の開発が進められ、有力な化合物も見出されている。今後、統合失調症の発症脆弱性遺伝子もしくは遺伝子産物を創薬ターゲットとした分子標的治療薬の開発が期待される。



## 文 献

- 1) Schultz SH, North SW, Shields CG : Schizophrenia : a review. *Am Fam Physician* 75 : 1821-1829, 2007
- 2) Glatt SJ, Faraone SV, Tsuang MT : Meta analysis identifies an association between the dopamine D2 receptor gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 8 : 911-915, 2003
- 3) Lawford BR, Young RM, Swagell CD *et al* : The C/C genotype of the C957T polymorphism of the dopamine D2 receptor is associated with schizophrenia. *Schizophr Res* 73 : 31-37, 2005
- 4) Jönsson EG, Flyckt L, Burgert E *et al* : Dopamine D3 receptor gene Ser9Gly variant and schizophrenia : association study and meta-analysis. *Psychiatr Genet* 13 : 1-12, 2003
- 5) Champion D, d'Amato T, Bastard C *et al* : Genetic study of dopamine D1, D2, and D4 receptors in schizophrenia. *Psychiatry Res* 51 : 215-230, 1994
- 6) Nudmamud-Thanoi S, Piyabhan P, Harte MK *et al* : Deficits of neuronal glutamatergic markers in the caudate nucleus in schizophrenia. *J Neural Transm Suppl* : 281-285, 2007
- 7) Deng X, Shibata H, Ninomiya H *et al* : Association study of polymorphisms in the excitatory amino acid transporter 2 gene (SLC1A2) with schizophrenia. *BMC Psychiatry* 4 : 21, 2004
- 8) Deng X, Shibata H, Takeuchi N *et al* : Association study of polymorphisms in the glutamate transporter genes SLC1A1, SLC1A3, and SLC1A6 with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 144B : 271-278, 2007
- 9) Zhao X, Li H, Shi Y *et al* : Significant association between the genetic variations in the 5' end of the Nmethyl-D-aspartate receptor subunit gene GRIN1 and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59 : 747-753, 2006
- 10) Li D, He L : Association study between the NMDA receptor 2B subunit gene (GRIN2B) and schizophrenia : a HuGE review and meta-analysis. *Genet Med* 9 : 4-8, 2007
- 11) Steen RG, Mull C, McClure R *et al* : Brain volume in first-episode schizophrenia : systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry* 188 : 510-518, 2006
- 12) Dean K, Murray RM : Environmental risk factors for psychosis. *Dialogues Clin Neurosci* 7 : 69-80, 2005
- 13) Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS *et al* : Effect of

- COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98** : 6917-6922, 2001
- 14) Meyer-Lindenberg A, Straub RE, Lipska BK *et al* : Genetic evidence implicating DARPP-32 in human frontostriatal structure, function, and cognition. *J Clin Invest* **117** : 672-682, 2007
  - 15) Albert KA, Hemmings HC Jr, Adamo AI *et al* : Evidence for decreased DARPP-32 in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **59** : 705-712, 2002
  - 16) Cardno AG, Holmans PA, Rees MI *et al* : A genomewide linkage study of age at onset in schizophrenia. *Am J Med Genet* **105** : 439-445, 2001
  - 17) Gerber DJ, Hall D, Miyakawa T *et al* : Evidence for association of schizophrenia with genetic variation in the 8p21.3 gene, PPP3CC, encoding the calcineurin gamma subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100** : 8993-8998, 2003
  - 18) Miyakawa T, Leiter LM, Gerber DJ *et al* : Conditional calcineurin knockout mice exhibit multiple abnormal behaviors related to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100** : 8987-8992, 2003
  - 19) Zintzaras E : Brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and schizophrenia : a meta-analysis. *Psychiatr Genet* **17** : 69-75, 2007
  - 20) Kanazawa T, Glatt SJ, Kia-Keating B *et al* : Meta-analysis reveals no association of the Val66Met polymorphism of brain-derived neurotrophic factor with either schizophrenia or bipolar disorder. *Psychiatr Genet* **17** : 165-170, 2007
  - 21) Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V *et al* : Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71** : 877-892, 2002
  - 22) Gu Z, Jiang Q, Fu AK *et al* : Regulation of NMDA receptors by neuregulin signalling in prefrontal cortex. *J Neurosci* **25** : 4974-4984, 2005
  - 23) Hahn CG, Wang HY, Cho DS *et al* : Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Nature Med* **12** : 824-828, 2006
  - 24) Weickert CS, Straub RE, McClintock BW *et al* : Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. *Arch Gen Psychiatry* **61** : 544-555, 2004
  - 25) Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ *et al* : Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Human Genetics* **71** : 337-348, 2002
  - 26) Feng YQ, Zhou ZY, He X *et al* : Dysbindin deficiency in sandy mice causes reduction of snapin and displays behaviors related to schizophrenia. *Schizophr Res*, in press
  - 27) Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O *et al* : Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99** : 13675-13680, 2002
  - 28) Hashimoto A, Nishikawa T, Konno R *et al* : Free d-serine, d-aspartate and d-alanine in central nervous system and serum in mutant mice lacking d-amino acid oxidase. *Neurosci Lett* **152** : 33-36, 1993
  - 29) Korostishevsky M, Kaganovich M, Cholostoy A *et al* : Is the G72/G30 locus associated with schizophrenia? single nucleotide polymorphisms, haplotypes, and gene expression analysis. *Biol Psychiatry* **56** : 169-176, 2004
  - 30) Liu H, Heath SC, Sobin C *et al* : Genetic variation at the 22q11.1, PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99** : 3717-3722, 2002
  - 31) Jacquet H, Raux G, Thibaut F *et al* : PRODH mutations and hyperprolinemia in a subset of schizophrenic patients. *Hum Mol Genet* **11** : 2243-2249, 2002
  - 32) Gogos JA, Santha M, Takacs Z *et al* : The gene encoding proline dehydrogenase modulates sensorimotor gating in mice. *Nat Genet* **21** : 434-439, 1999
  - 33) Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD *et al* : Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Mol Psychiatry* **6** : 293-301, 2001
  - 34) Ni YG, Gold SJ, Iredale PA *et al* : Region-specific regulation of RGS4 (Regulator of G-protein-signaling protein type 4) in brain by stress and glucocorticoids : in vivo and in vitro studies. *J Neurosci* **19** : 3674-3680, 1999
  - 35) Blackwood DH, Fordyce A, Walker MT *et al* : Schizophrenia and affective disorders-cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes : clinical and P300 findings in a family. *Am J Hum Genet* **69** : 428-433, 2001
  - 36) Taya S, Shinoda T, Tsuboi D *et al* : DISC1 regulates the transport of the NUDEL/LIS1/14-3-3 $\epsilon$  complex through kinesin-1. *J Neurosci* **27** : 15-26, 2007
  - 37) Hikida T, Jaaro-Peled H, Seshadri S *et al* : Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104** : 14501-14506, 2007
  - 38) Li W, Zhou Y, Jentsch JD *et al* : Specific developmental

- disruption of disrupted-in-schizophrenia-1 function results in schizophrenia-related phenotypes in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104** : 18280-18285, 2007
- 39) Leonard S, Gault J, Hopkins J *et al* : Association of promoter variants in the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit gene with an inhibitory deficit found in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **59** : 1085-1096, 2002
- 40) Freedman R, Hall M, Adler LE *et al* : Evidence in postmortem brain tissue for decreased numbers of hippocampal nicotinic receptors in schizophrenia. *Biol Psychiatry* **38** : 22-33, 1995
- 41) Raedler TJ, Knable MB, Jones DW *et al* : In vivo determination of muscarinic acetylcholine receptor availability in schizophrenia. *Am J Psychiatry* **160** : 118-127, 2003
- 42) Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ *et al* : Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3beta signaling in schizophrenia. *Nat Genet* **36** : 131-137, 2004
- 43) Nagai T, Takuma K, Kamei H *et al* : Dopamine D1 receptors regulate protein synthesis-dependent long-term recognition memory via extracellular signal-regulated kinase 1/2 in the prefrontal cortex. *Learn Mem* **14** : 117-125, 2007
- 44) Mottola DM, Brewster WK, Cook LL *et al* : Dihydraxidine, a novel full efficacy D1 dopamine receptor agonist. *J Pharmacol Exp Ther* **262** : 383-393, 1992
- 45) George MS, Molnar CE, Grenesko EL *et al* : A single 20 mg dose of dihydraxidine (DAR-0100), a full dopamine D1 agonist, is safe and tolerated in patients with schizophrenia. *Schizophr Res* **93** : 42-50, 2007
- 46) Mu Q, Johnson K, Morgan PS *et al* : A single 20 mg dose of the full D1 dopamine agonist dihydraxidine (DAR-0100) increases prefrontal perfusion in schizophrenia. *Schizophr Res* **94** : 332-341, 2007
- 47) Acker BA, Jacobsen EJ, Rogers BN *et al* : Discovery of N-[(3R, 5R)-1-azabicyclo [3.2.1] oct-3-yl] furo [2,3-c] pyridine-5-carboxamide as an agonist of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor : In vitro and in vivo activity. *Bioorg Med Chem Lett* **18** : 3611-3615, 2008
- 48) Olincy A, Harris JG, Johnson LL *et al* : Proof-of-concept trial of an alpha7 nicotinic agonist in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* **63** : 630-638, 2006
- 49) Freedman R, Olincy A, Buchanan RW *et al* : Initial phase 2 trial of a nicotinic agonist in schizophrenia. *Am J Psychiatry* **165** : 1040-1047, 2008
- 50) Heresco-Levy U, Javitt DC : Comparative effects of glycine and D-cycloserine on persistent negative symptoms in schizophrenia : a retrospective analysis. *Schizophr Res* **66** : 89-96, 2004
- 51) Lane HY, Chang YC, Liu YC *et al* : Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia : a randomized, doubleblind, placebo-controlled study. *Arch Gen Psychiatry* **62** : 1196-1204, 2005
- 52) Patil ST, Zhang L, Martenyi F *et al* : Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia : a randomized Phase 2 clinical trial. *Nat Med* **13** : 1102-1107, 2007

## 特集

## 動物行動からみた精神障害モデル

## 統合失調症モデル動物に認められる行動異常

安藤 雄<sup>1</sup>, 野田 幸裕<sup>1</sup>, 毛利 彰宏<sup>2</sup>, 鍋島 俊隆<sup>2</sup><sup>1</sup>名城大学大学院薬学研究科病態解析学 I<sup>2</sup>名城大学学術フロンティア推進事業比較認知科学研究所・大学院薬学研究科薬品作用学教室

## 1. はじめに

統合失調症は、主に思春期以降に発症する慢性・進行性の精神疾患であり、幻覚や妄想などの陽性症状、感情の平板化や意欲低下などの陰性症状に加え、注意力、記憶保持や実行機能の低下などの認知障害といった多彩な精神症状を呈する。新たな治療戦略を考えるためには臨床研究に加え、適切な病態モデル動物を用いた神経機能障害の解明や新規治療薬の有効性の評価を行なうための基礎研究が必要である。これまでに集積されてきた臨床および基礎研究における知見から、統合失調症の病態に関していくつかの仮説（ドパミン過剰仮説、グルタミン酸低下仮説、神経発達障害仮説）が提唱されている。それぞれの仮説に基づき、その病態を反映したモデル動物の作製が試みられている（表1<sup>1-4</sup>）。一方、統合失調症の病因には遺伝的要因が関与していることが家系研究、双生児研究、養子研究などから示唆されており、統合失調症の候補遺伝子を改変させたモデル動物も作製されている（表2, 3<sup>5</sup>）。一般に、モデル動物が具備すべき要件として、ヒトと動物において行動上認められる表面的な症状の類似性があるかの「表面妥当性 (face validity)」, 神経学的所見, 病理学的所見などの病態の一部を適切に反映しているかどうかの「構成概念妥当性 (construct validity)」, 動物での薬物反応性がヒトの病的状態での改善効

果を反映しているか否かの「予測妥当性 (predictive validity)」が挙げられる。本稿では、紙面の都合上、これまでに報告されてきた統合失調症モデル動物に認められる行動異常に焦点を絞って紹介する。なお、各行動実験の詳細な結果に関しては、文献1~4で確認して頂きたい。

2. ドパミン作動性神経系機能亢進モデル (表1<sup>1-4</sup>)

クロルプロマジンやハロペリドールなどの第一世代抗精神病薬がドパミンD<sub>2</sub>受容体拮抗作用を示し、その拮抗作用と抗精神病薬としての臨床力価がよく相関すること、中脳辺縁系のドパミン作動性神経を興奮させる覚せい剤（アンフェタミンやメタンフェタミン）は乱用者において統合失調症の陽性症状に類似した症状を引き起こすことから、統合失調症の陽性症状はドパミン作動性神経の過活動に起因するという「ドパミン過剰仮説」が提唱されている。この仮説に基づいて覚せい剤投与動物モデルが作製され、新規治療薬の開発に利用されている。低用量（1~5mg）の覚せい剤を動物に急性投与すると、ドパミン作動性神経の過活動によって自発運動量の増加および常同行動が誘発される。この運動量の増加に対してある薬物が抑制作用を示せば統合失調症の陽性症状に対する治療効果を反映していると考えられている。

表1 仮説に基づいた統合失調症動物モデル（文献1-4より引用改変）

仮説		ドパミン過剰仮説		グルタミン酸低下仮説					神経発達障害仮説		
		覚醒剤投与モデル	遺伝子 変異 マウス	PCP投与モデル		遺伝子変異マウス			新生仔期 腹側海馬 損傷	周産期 感染 (PolyI:C 投与)	新生仔期 PCP投与
DAT 欠損	急性投与		連続投与	NR1 KD	NR1 点変異	NR2A 欠損					
陽性症状	運動量・常同行動	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	行動感作 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a),b)</sup> 文献1,4	増加 <sup>a)</sup> 文献8	増加 <sup>a)</sup> 文献12,13
陰性症状	社会性行動試験	変化なし	変化なし	低下	低下	低下	—	—	低下 <sup>a),c)</sup>	低下 <sup>a),c)</sup>	—
	強制水泳試験	変化なし	充進	変化なし	低下	—	—	—	—	—	低下 <sup>a),c)</sup>
認知障害	ブレパルス・ インビジョン試験	障害	障害	障害	障害 <sup>a)</sup>	障害	変化なし	変化なし	障害 <sup>a),c)</sup>	障害 <sup>a),c),d)</sup>	障害 <sup>a),c),d)</sup>
	放射状迷路試験・ T型迷路試験	障害	障害 <sup>a),d)</sup>	障害	障害	—	—	—	障害 <sup>a),c)</sup>	—	—
	水探索試験	—	—	障害	障害	—	—	障害	—	—	—
	新奇物体認識試験	障害 <sup>a),c)</sup>	—	—	障害	—	—	—	—	障害 <sup>a),c),d)</sup>	—
	恐怖条件付け 学習試験	—	—	—	障害	—	—	障害	—	—	—
	潜在抑制試験	—	—	—	—	—	—	—	—	障害 <sup>a),c),d)</sup>	—
	モリス水迷路試験	—	—	—	—	—	—	障害	—	障害 <sup>a),c),d)</sup>	—
	セットンブテイ ング試験	—	—	障害	障害	—	—	—	—	—	障害 <sup>a),c),d)</sup>

PPI: pre-pulse inhibition, DAT: dopamine transporter, PCP: phencyclidine, Poly I:C: polyriboinosinic-polyribocytidilic acid

NR1KD: NR1の発現が5-10%, NR1点変異: NR1のグリシン結合部位を点変異

a) 新奇環境下における運動量の増加, b) 精神刺激薬による運動量の増加, c) 最終投与6時間以降では障害なし

文献1: Kamei H, et al. Biol Psychiatry. 2006; 59: 75-84. 文献2: Gainetdinov RR, et al. Science. 1999; 283: 397-401. 文献3: Lipska BK, et al. Neuropsychopharmacology. 1993; 9: 67-75. 文献4: Richtand NM, et al. Neuropsychopharmacology. 2006; 31: 77-89. 文献5: Becker A, et al. Psychopharmacology (Berl). 1999; 144: 333-338. 文献6: Kamath A, et al. Int J Neuropsychopharmacol. 2008; 11: 1085-1096. 文献7: Lipska BK, et al. Neuropsychopharmacology. 2002; 27: 47-54. 文献8: Ozawa K, et al. Biol Psychiatry. 2006; 59: 546-554. 文献9: Ibi D, et al. Neurosci Res. 2009; 64: 297-305. 文献10: Zuckerman L, et al. Neuropsychopharmacology. 2003; 28: 1778-1789. 文献11: Meyer U, et al. Neurosci Biobehav Rev. 2005; 29: 913-947. 文献12: Wang CZ and Johnson KM. Neuropsychopharmacology. 2007; 32: 1178-1194. 文献13: Wang CZ, et al. Neuropsychopharmacology. 2008; 33: 2442-2455. 文献14: du Bois, et al. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2009; 33: 37-40. 文献15: Wang C, et al. J Pharmacol Exp Ther. 2003; 304: 266-271. 文献16: Broberg BV, et al. Behav Brain Res. 2008; 190: 160-163.

覚せい剤投与動物ではブレパルス・インビジョン (PPI) 試験における情報処理障害, T型迷路試験における作業記憶障害 (急性投与) および新奇物体認識試験における視覚的認知記憶障害 (連続投与) も示す。

臨床において覚せい剤が主に作用するドパミントランスポーター (DAT) の遺伝子の変異は統合失調症発症との間に相関が認められ<sup>9)</sup>, DAT遺伝子欠損マウスにおいては自発運動量の増加およびPPI試験における情報処理障害が認められる。しかし, 覚せい剤依存者は統合失調症様の陰性症状をほとんど示さず, 覚せい剤投与動物やDAT遺伝

子欠損マウスでも陰性症状の指標となる社会性行動の低下や強制水泳試験における意欲の低下などの行動異常を示さないことから, 「ドパミン過剰仮説」は統合失調症の陰性症状を反映していないという問題がある。このモデルの欠陥は, ドパミンD2受容体拮抗を主作用とする第一世代抗精神病薬は陽性症状に有効であるが, 陰性症状には効果が乏しいとされる点を反映している点である<sup>10)</sup>。「ドパミン過剰仮説」もセロトニン, ノルアドレナリン, グルタミン酸, γ-アミノ酪酸 (GABA) など複数の神経伝達物質の変化を含めた仮説に修正されつつあるように<sup>11)</sup>, 覚せい剤投与動物モデル



も改良が必要である。

### 3. グルタミン酸作動性神経系機能低下モデル (表1<sup>1-4</sup>)

1970年代に米国において乱用されていた非競合的N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体拮抗薬であるフェンシクリジン (PCP) は、薬物依存者に精神症状 (PCP精神病) を惹起することから、統合失調症にはNMDA受容体機能の低下が関係しているという「グルタミン酸低下仮説 (NMDA受容体機能低下仮説)」が提唱されている。NMDA受容体 (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2Dなどのサブユニットから構成) 機能を低下させるため遺伝子改変技術を利用してNR1の発現量を正常の5-10%に減少させたNR1ノックダウン (KD) マウス、NR1のグリシン結合部位を点変異させたマウスおよびNR2Aを欠損させたマウスは自発運動量の増加をはじめとする統合失調症様の精神行動障害を示すことが知られている。

PCPは、他のNMDA受容体拮抗薬 (ケタミンやジブシルピン) の中でもっとも知見が多い薬物である。PCPは単回投与すると自発運動量および常同行動の増加、放射状迷路試験における作業記憶障害、PPI試験における情報処理障害、水探索試験における潜在学習障害など、陽性症状および認知障害の指標となる行動障害を示す。

PCP依存患者が摂取を中止した後も、その精神症状が数週間持続する様に、動物モデルでも行動変化が持続する。たとえば、PCPを連続投与した実験動物は、休薬後も陽性症状に類似した行動変化として自発運動量の行動感作、陰性症状の指標となる行動変化として社会性行動試験における社会性行動の低下および強制水泳試験における無動状態の長期間増強を示す。また、認知障害の指標となる行動変化として、T型迷路試験または8方向放射状迷路試験における作業記憶障害が認めら

れる。他にもPCP連続投与動物モデルでは水探索試験における潜在学習障害、新奇物体認識試験における視覚的認知記憶障害および恐怖条件付け学習試験における連合学習障害などが知られている。このようにPCP連続投与動物では陰性症状や認知障害の指標となる行動変化が認められることから、PCP連続投与マウスは新規治療薬のスクリーニングに有用であることが示唆されている。

### 4. 神経発達障害仮説に基づく動物モデル (表1<sup>1-4</sup>)

統合失調症は思春期以降に発症し、患者において海馬の体積減少や側脳室の拡大が認められるが、死後脳の剖検結果では脳内にグリオシスが認められない。これらの知見から、統合失調症の病態および脳内の構造変化には発達過程や成熟時期の異常が関与すると考えられており、「神経発達障害仮説」に基づいたモデル動物の作製がなされている。

#### 4-1. 新生仔期腹側海馬損傷動物モデル

新生仔期に腹側海馬を破壊することで成熟期以降に統合失調症様症状を惹起することがラットおよびサルを用いた研究において確認されている。すなわち、ラットにおける海馬損傷動物モデルは興奮性細胞毒性を持つイボテン酸を生後7日目の新生仔の両側腹側海馬に注入し局所的に細胞を障害することで作製されている。このモデル動物は統合失調症に類似した行動異常を示し、成熟期以降に顕著となる<sup>4)</sup>。たとえば、偽手術 (コントロール) 群と比較し、新奇環境下における運動量 (自発運動量) や覚せい剤誘発運動量の増加、社会性行動の低下、PPI試験における情報処理障害、T型迷路試験における作業記憶障害が生後56日目以降に顕著に認められる。これらの行動障害は生後35日目では認められず、成熟ラットの腹側海馬を同様の方法で破壊した場合には、このような行動

異常は認められない。したがって、この行動変化はイボテン酸による腹側海馬の破壊による直接的な影響ではなく、神経発達過程において二次的な結果として起こるものと考えられている。一方、イボテン酸の代わりに特異的ナトリウムチャンネル阻害薬のテトロドトキシンを新生仔期の両側腹側海馬に注入することにより、永久的な組織破壊を起こさず一時的な機能障害を起こし、神経発達障害を誘発した動物モデルも作製されている。本モデル動物では、生後56日目において自発運動量、覚せい剤およびジゾシルピン誘発運動量の増加が認められる<sup>10)</sup>。

4-2. 周産期感染モデル

統合失調症の発症には、胎生中期に母親がインフルエンザに感染するなどの初期要因が疫学的に関連している。合成二本鎖RNAであるpolyribonucleosinic-polyribocytidilic acid (Poly I:C) を妊娠マウスに投与すると、母胎の免疫系が賦活化されこの母体から生まれたマウスは、生理食塩水投与(コントロール)群と比較し、成熟期以降、覚せい剤誘発運動量の増加、PPI試験での情報処理障

害、潜在抑制試験での注意力障害、モリス水迷路試験での作業記憶障害、新奇物体認識試験における認知障害など統合失調症に類似した行動異常を示す。これらの障害は、幼若期には認められない。ヒトの妊娠中期に当たるマウスの出生2日後から5日間にPoly I:Cを投与すると、新奇物体認識試験における認知障害、PPI試験での情報処理障害や社会性行動の低下が認められる。

4-3. 新生仔期PCP投与モデル

NMDA受容体は脳の発達において、神経の分化、生存および重複したシナプスの除去などの様々な重要な役割を果たしている。神経発達過程である胎生期および新生児期にPCPを投与しNMDA受容体機能を低下させた統合失調症動物モデルが提唱されている。たとえば、ラットの新生仔期である7, 9および11日齢時にPCP (10mg/kg) を3回投与すると成熟期に強制水泳試験における意欲低下、PPI試験における情報処理障害、セットシフティング試験における作業記憶障害が認められる。低用量のPCP (2mg/kg) を投与することによって惹起される運動過多は、コントロール群に比

表2 DISC1遺伝子改変マウスにおける行動異常 (文献3より引用改変)

		129S6/SvEv マウス	DISC1 ミスセンス 変異マウス		ドミナント ネガティブ DISC1 トランス ジェニックマウス		相同組換え DISC1 トランス ジェニック マウス	胎生期 DISC1 ノック ダウン マウス
			31L	100P				
陽性症状	運動量・常同行動	変化なし	変化なし	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	増加 <sup>a)</sup>	変化なし	増加 <sup>b)</sup>
	強制水泳試験	—	低下	変化なし	低下	—	低下	—
陰性症状	テイルサスペンション試験	—	—	—	—	—	低下	—
	社会性行動試験	—	低下	変化なし	変化なし	低下 (攻撃性増加)	—	—
認知障害	プレパルス・ インヒビション試験	変化なし	障害	障害	障害	変化なし	—	障害
	音驚愕反応試験	—	変化なし	低下	—	—	—	変化なし
	T型迷路試験	障害	障害	障害	—	—	—	障害
	潜在抑制試験	—	障害	障害	—	—	障害	—
	Y迷路試験	—	—	—	変化なし	—	—	—
	モリス水迷路試験	—	変化なし	変化なし	変化なし	障害 (プローブ試験)	—	—
	新奇物体認識試験	—	—	—	—	—	—	障害

DISC1: Disrupted-in-schizophrenia-1

a) 新奇環境下における運動量の増加, b) 精神刺激薬による運動量の増加

べ有意に増強する。

### 5. 統合失調症関連遺伝子に基づく動物モデル (表2<sup>a</sup>および3<sup>a</sup>)

ヒトゲノムの全塩基配列の解読の成功や一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) などの研究の進展により, 統合失調症に関連した多くの候補遺伝子が見出されている。たとえば, スコットランドの大家系において1番染色体長腕と11番染色体長腕の均衡転座が認められ, この転座が精神疾患の発症と関連がある。この1番染色体転座断片からDISC1 (Disrupted In Schizophrenia-1) が同定された。転座によってDISC1のC末端側の257アミノ酸が欠失していた。また, 統合失調症の死後脳では, ニューレグリン-1/Erb-4シグナルが亢進しており, NMDA受容体の機能低下に関与している。アイスランドの統合失調症患者とニューレグリン-1とのハプロ解析の結果, 相関が認められている。これら候補遺伝子が統合失調症の病態にどのように関与しているかを検討するため, 遺伝子改変マウスが作製され, 行動学的解析が行なわれている。DISC1の遺伝子変異マウスとして, 129S6/SvEVマウスにはDISC1遺伝子の第6エクソンに自然発症の25塩基の欠失変異があり, 129S6/SvEVマウスをC57BL/6Jマウスと交配し, そのDISC1の欠失を持つC57BL/6Jマウスが作製され

ている。また, DISC1の31番目のグルタミンがロイシン (Gln31Leu; 31L) および100番目のロイシンがプロリン (Leu100Pro; 100P) に置換されたDISC1ミスセンス変異マウス (31Lマウスおよび100Pマウス) が2系統作製されている。他にも, 臨床知見に類似したC末端が欠落したヒトDISC1を過剰発現させることにより, 内在性のDISC1の機能を低下させたドミナントネガティブDISC1トランスジェニックマウス [CaMKIIプロモーターの制御下でC末端が欠落したヒトDISC1 (1-597アミノ酸) を前脳特異的に発現させたトランスジェニックマウス] やTet-off遺伝子発現およびCaMKIIプロモーターを制御してfTAを発現するシステムを用いて, 上記と同様に前脳特異的にC末端が欠落したヒトDISC1 (1-573アミノ酸) を発現させたトランスジェニックマウスが作製されている。第9エクソンの途中で切断されたマウスDISC1のDNAに相同組換えしたDISC1遺伝子変異マウスも作製されている。我々は, 子宮内エレクトロポレーション法を用いて神経発達過程の大脳皮質においてDISC1の発現を抑制したKDマウスを作製している。その行動学的解析の結果, 覚せい剤投与による運動量の増加の亢進, 新奇物体認識試験における視覚的認識記憶の低下, T型迷路試験における作業記憶障害およびPPI試験における情報処理障害が認められている。ニューレグリン-1の遺

表3 統合失調症関連遺伝子改変マウスにおける行動異常 (文献4より引用改変)

遺伝子		NRG-1	COMT	PRODH	CN	PACAP
陽性症状	運動量・常同行動	増加 <sup>a)</sup>	変化なし <sup>a)</sup>	減少 <sup>a)</sup> ・増加 <sup>b)</sup>	増加 <sup>a)</sup> ・ <sup>b)</sup>	増加 <sup>a)</sup>
陰性症状	社会性行動試験	—	攻撃性増加	—	低下	—
	放射状迷路試験	—	—	—	障害 <sup>2,3)</sup>	—
認知障害	プレバルス・インビジョン試験	障害	変化なし	障害	障害	障害
	潜在抑制試験	障害 <sup>2,3)</sup>	—	—	障害	—
	恐怖条件付け学習試験	—	—	障害 <sup>2,3)</sup>	変化なし <sup>2,3)</sup>	—

NRG-1: neuregulin 1, COMT: catechol-o-methyl-transferase, PRODH: proline dehydrogenase, CN: calcineurin

PACAP: pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide

a) 新奇環境下における運動量の増加, b) 精神刺激薬による運動量の増加,

文献1: Rimer M, et al. Neuroreport. 2005; 16: 271-275. 文献2: Paterlini M, et al. Nat Neurosci. 2005; 8: 1586-1594. 文献3: Zeng H, et al. Cell. 2001; 107: 617-629.

伝子改変マウスとして、EGF様ドメイン、イムノグロブリン様ドメインおよび膜貫通ドメインをそれぞれ欠失させたものが作製されている。いずれのホモ型改変マウスも致死性であるため、ヘテロ型を用いて行動解析が行なわれている。その他に、COMT (catechol-o-methyl-transferase) やPRODH (proline dehydrogenase) などの遺伝子改変マウスが作製されている。

## 6. 遺伝子改変マウスの行動解析に基づく動物モデル (表3)

近年では、遺伝子改変技術の進歩により、染色体からある遺伝子の発現を欠失させ、種々の行動学的解析を行ない、ある種の異常を見出すことで、その遺伝子の正常機能を知ることができる。さらに、Cre-loxPなどの遺伝子組換え技術の進歩により部位特異的あるいは時期特異的な遺伝子発現調節をもたらすことも可能になってきている。このような技術を用いて、遺伝子改変マウスが作製されており、カルシニューリン (Calcineulin) やPACAP (Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide) などのタンパクと統合失調症の病態との関連性が注目されている。カルシニューリンはプロテイン・ホスファターゼ2Bとして知られており、カルシウム・カルモジュリン依存性のセリン/スレオニン脱リン酸化酵素である。また、脱リン酸化活性部位をもつカルシニューリンA (CnA) とカルシウム結合部位をもつ調節サブユニットであるカルシニューリンB (CnB) から構成されるヘテロ二重体タンパクである。前脳特異的にCnBを欠損させたマウスが作製され、行動解析が行なわれている。PACAPはC末端がアミド化された27残基のアミノ酸からなる神経ペプチドであり、3量体Gタンパク型の受容体と結合し、神経伝達物質調節因子および神経栄養因子として働いていることが示されている。PACAP遺伝子欠損マウスが作製

され、行動解析の結果、統合失調症の一面を示していると考えられている。

## 7. おわりに

統合失調症モデル動物に認められる行動異常について概説した。覚せい剤およびPCP投与による薬理的動物モデルは比較的容易に作製することができ、現在も多くの新規抗精神病薬のスクリーニングに用いられている。新生仔期腹側海馬損傷動物をはじめとする神経発達障害モデルは薬理的モデルに比べ、より臨床に即していると考えられるが、作製までの時間や手間などが多い。また、統合失調症の発症には単一遺伝子だけでなく複数の遺伝子の関与に加え、環境因子もその発症に関与すると考えられているため、単一の遺伝子を改変させたマウスでは統合失調症のモデル動物として限界があると思われる。今後、より病態を反映した動物モデルの作製を試みるためにこれらの動物モデル間の相違点を詳細に検討することが必要であり、こうした研究が統合失調症の原因解明や治療に結びつくことを願っている。

## 文 献

- 1) Enomoto T, et al. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2007; **29**: 291-301.
- 2) Mouri A, et al. *Neurochem Int.* 2007; **51**:173-184.
- 3) 野田幸裕ら 日本神経精神薬理雑誌 (Jpn. J. Neuropsychopharmacol.) 2009; **29**: 47-53.
- 4) 野田幸裕ら 日薬理誌 (Folia Pharmacol. Jpn.) 2007; **130**: 117-123.
- 5) Khodayari N, et al. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2004; **129**: 10-12.
- 6) Kapur S and Seeman P. *Am J Psychiatry.* 2001; **158**: 360-369.
- 7) Carlsson A, et al. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2001; **41**: 237-260.
- 8) Lipska BK and Weinberger DR. *Neuropsychopharmacology.* 2000; **23**: 223-239.
- 9) Lipska BK, et al. *J Neurosci.* 2002; **22**: 2835-2842.

# 臨床に役立つ薬学研究的進歩(知見)

精神科医療では、薬剤師の介入が治療効果に大きな影響を及ぼすことが知られているが、精神科専門薬剤師にはさらに高度な知識によって、診断・治療の進歩に対する貢献も求められている。知識を常に利用できる状態しておくためには、キーワードとその位置づけを整理し、フォローアップしておくことも欠かせない。今号では薬学研究的最新の知見について、「基礎」の立場から岡山大学大学院医歯薬学総合研究科医薬管理学の北村佳久准教授に、「臨床」の立場から名城大学薬学部病態解析学研究室の野田幸裕教授と同教室の大橋美月先生に解説していただいた。

## 基礎の観点から

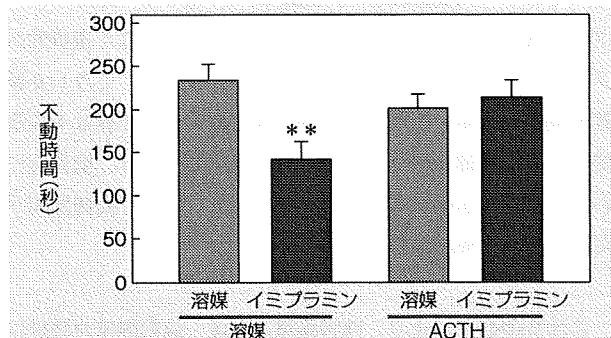
### はじめに

近年の急激な社会構造の変化と多様化により、精神疾患は増加の一途をたどっている。中でも感情障害であるうつ病は患者数の増加のため大きな社会問題となっている。これまで、数多くの抗うつ薬が開発され治療に大きな貢献をもたらした。近年ではノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬(noradrenergic and specific serotonergic antidepressant; NaSSA)が臨床応用されている。しかしながら、既存の抗うつ薬によって治癒できるうつ病の割合は約7割といわれており、その病態は十分に解明されていない。基礎研究者は治療抵抗性うつ病の病態解明および次世代の抗うつ薬の創薬研究を推進する必要がある。本稿では筆者が取り組んでいる治療抵抗性うつ病のモデル動物の作製について簡単に説明する。

### 治療抵抗性うつ病モデル作製

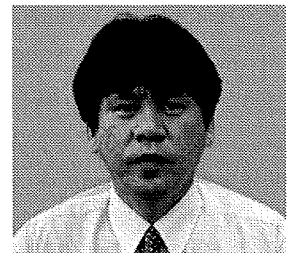
うつ病の発症について考えるとき、ある種のうつ病的素因を持つ患者に各種ストレス(肉体的・精神的)が加わって、その結果うつ状態が出現すると考えられている。このストレス刺激に対する内分泌系の応答システムとして視床下部一下垂

図1 ラット強制水泳法を用いたイミプラミン投与による不動時間短縮効果に対するACTHの影響



Kitamura Y, et al.: Pharmacol Biochem Behav. 72: 397-402, 2002  
 イミプラミン: 10mg/kg 腹腔内投与、14日間  
 各値は平均値±標準偏差(n=8)  
 \*\*: p<0.01(溶媒群との比較、Dunnettの多重比較検定)

体一 副腎皮質(hypothalamic-pituitary-adrenal; HPA)系がよく知られている。そこでこのHPA系の過活動に着目し、下垂体ホルモンであるadrenocorticotrophic hormone(ACTH; 副腎皮質刺激ホルモン)を投与したラットを用い、治療抵抗性うつ病の動物モデルとしての有用性について検討を行った。実験には代表的抗うつ薬スクリーニングモデルである強制水泳法を用い、三環系抗うつ薬であるイミプラミンを用いて検討を行った。



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医薬管理学准教授

北村佳久 先生

その結果、ACTH反復投与ラットではイミプラミンの不動時間短縮作用(抗うつ様作用)は抑制された(図1)。既存の多くの抗うつ薬はこの不動時間を短縮させことから、ACTH反復投与ラットは治療抵抗性うつ病の動物モデルとしての有用性が考えられる。

### 神経細胞新生から見たうつ病の病態像

近年の脳機能画像解析研究的進歩によりうつ病における海馬の萎縮が報告されるようになり、うつ病の神経解剖学的異常が知られるようになってきた。また、1990年代になって脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor; BDNF)が脳内における神経回路網の形成や発達、さらにはその生存に重要な役割を担っていることが明らかとされ、うつ病患者では血清BDNF濃度が健常人と比較して有意に低いこと、さらに抗うつ薬を服用させると、うつ病の改善に従って血清BDNF濃度が正常化することが報告されている。海馬領域においても抗うつ薬投与で神経細胞新生が認められることが明らかになり、BDNFおよび海馬における神経細胞新生の促進作用が抗うつ作用に関与していると考えられている。前述のACTH反復投与ラットにおいてBDNF含量の低下および神経細胞新生の抑制が認められていることから、治療抵抗性

うつ病の病態およびその改善には神経細胞新生が関与している可能性が考えられる。

NaSSAの使用により、うつ病に対する薬物治療は新しい

時代に突入したと言える。しかしながら、これら薬剤にも抵抗を示す治療抵抗性うつ病の存在は問題であり、今後は既存の抗うつ薬に抵抗性を示す治療抵抗性うつ病に対しても有効な治療薬の開発が望まれる。

## 臨床現場の 観点から

### はじめに

統合失調症を初めとする精神疾患の発症分子機構を解明し、新たな予防・治療戦略や診断体系を確立するためには、臨床検体を用いた候補遺伝子の関連解析や連鎖解析、実験動物を用いた精神疾患発症脆弱性候補分子の探索およびその候補分子の機能評価系の確立など、臨床的側面と基礎的側面の双方からアプローチする必要がある。ここでは、最近の遺伝子研究の進歩について概説する。

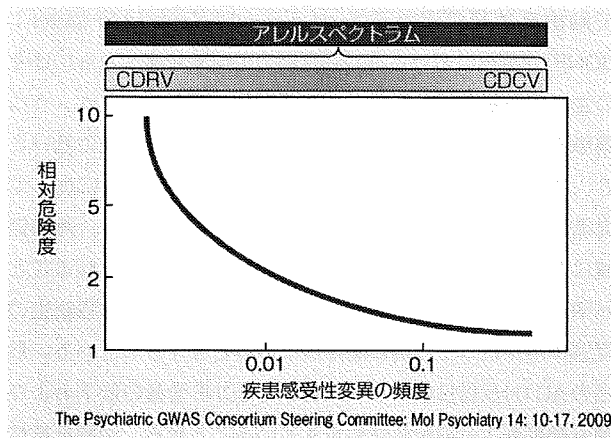
### 遺伝子研究の2つの方向

現在までに統合失調症や双極性障害などに関する様々な発症脆弱性遺伝子が同定されている。2003年にヒトゲノムプロジェクトが完了し、ヒトの全遺伝子約22,000個の塩基配列が解読されたことにより遺伝子研究は飛躍的な進展を遂げた。現在、精神疾患の遺伝子研究の方向性は大きく2つに分けられる。

第1には、統合失調症(発症頻度1%)のような発症頻度の高い疾患(common disease)が遺伝と関係している場合、原因となる遺伝子変異は、単一集団内において家系が異なっても共通している(common variant)ことが多いという、CDCV仮説(common disease common variants hypothesis)に基づいた遺伝子研究である。

全ゲノム上の一塩基多型(SNP; Single Nucleotide Polymorphism)を網羅的にタイプする全ゲノム関連解析(GWAS; genome wide association study)がこれに当たる。

図1 疾患感受性変異の頻度と相対危険度



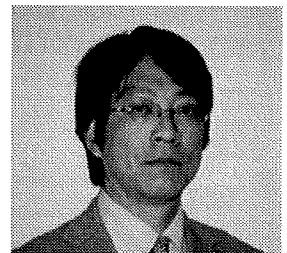
CDCV仮説では、疾患と関連する遺伝子多型は何百種類存在し、ひとつの変異の疾患への関与は1.1~1.5倍程度と考えられている。ヒトは誰もが疾患に関連する脆弱性遺伝子を持ち、偶然に多数受け継いだヒトが発症すると推定されている。GWASの網羅的解析によって関連遺伝子が急速に同定されると期待されていたが、小さなリスクの遺伝子の同定には、何千、何万という臨床サンプルが必要で、当初の期待どおりにはいかなかった。

第2には、発症に関連するリスクの大きい遺伝子であるが、非常に稀な変異(rare variant)が疾患に関与しているというCDRV仮説(common disease rare variants hypothesis)に基づいた遺伝子研究である。たとえば、統合失調症を高頻度で発症するスコットランドの大家系において1番染色体長腕と11番染色体長腕の均衡転座が認められ、この1番染色体転座断片からDISC1 (Disrupted In Schizophrenia-1)が変異遺伝子として同定された。

### アレルスペクトラム

現在では、CDCV仮説とCDRV仮説の両者が統合失調症の発症に関与しているとする「アレルスペクトラム」という認識がもたらされている(図1)。網羅的解析方法(トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析など)は、遺伝子のみならずタンパク質の発現解析にも応用されている。たとえば、トランスクリプトーム解析のExon Arrayは、エクソンレベルでプローブを配置することにより、遺伝子の発現だけでなく選択的スプライシング現象も解析が可能である。我々は、こうした網羅的解析法を用いて精神疾患患者群と健常者群で異なる発現変化を示した遺伝子やタンパク質を見出しており、脳機能における役割、診断に有用なバイオマーカーとして臨床応用が可能かどうか検討している。

これらの研究により、精神疾患の発症・病態機序が詳細に解明され、ゲノム情報に基づいた精神疾患のテーラーメイド医療の確立にも繋がるものと思われる。



名城大学薬学部病態解析学研究室  
教授

野田幸裕 先生

[特集: 学会シンポジウム]

## 臨床知見に基づいた統合失調症動物モデルを作製するために\* —統合失調症モデル作製のため、基礎研究者が臨床医に望むこと—

野田 幸裕\*<sup>1</sup> 毛利 彰宏\*<sup>2</sup> 脇 由香里\*<sup>1</sup> 鍋島 俊隆\*<sup>2</sup>\*<sup>1</sup> 名城大学大学院薬学研究科病態解析学 I\*<sup>2</sup> 同上, 薬品作用学教室

**要約:** 統合失調症は思春期以降に発症し進行性・慢性的な精神疾患であり、その病態は未だ不明な点が多い。新たな治療戦略を考えるためには臨床研究に加え、適切な病態モデル動物を用いた病態時の神経機能の解明や新規治療薬の有効性の評価を行うための基礎研究が必要である。非競合的 NMDA 受容体拮抗薬のフェンシクリジン (PCP) の乱用者が断薬後も統合失調症に酷似した症状を示し、臨床試験においても PCP の投与は健常者に統合失調症様症状を惹起させ、統合失調症患者の症状を増悪させる。このような知見からグルタミン酸作動性神経系機能低下仮説 (NMDA 受容体機能低下仮説) が提唱されている。この仮説に基づき PCP 連続投与マウスは統合失調症モデル動物として繁用されているが、神経発達障害仮説を反映していない問題点がある。一方、統合失調症には遺伝要因が関与していることが知られている。ヒトゲノムの全塩基配列の解読の成功あるいは一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) およびそのハプロタイプ解析などの研究の進展により、*disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)* をはじめとした統合失調症に関連した多くの候補遺伝子が見いだされている。見いだされた候補遺伝子が統合失調症の病態にどのように関与しているかを検討するため、遺伝子改変マウスが作製されている。遺伝子改変マウスを用いた行動学および生化学的な解析の結果から統合失調症モデル動物としての有用性が提唱されているが、その症状は統合失調症の一部のみを示しているものが多い。また、遺伝要因だけでなく環境要因もその発症には関与すると考えられているため、単一の遺伝子を改変させたマウスでは統合失調症のモデル動物として限界があるとも考えられている。本章ではこれまでに我々が開発してきた統合失調症モデル動物と、それに関連する知見を紹介するとともに、より臨床知見に基づいた統合失調症モデル動物を作製するために、基礎研究者が臨床医に望むことについて概説した。

**キーワード:** 統合失調症, フェンシクリジン (PCP), *disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)*, 動物モデル

統合失調症は、主に思春期以降に発症する進行性・慢性的な精神疾患であり、幻覚や妄想、まとまりに欠ける会話や行動、感情の平板化、思考の貧困、意欲低下などを主訴とする (DSM-IV, 1994)。新たな治療戦略を考えるためには臨床研究に加え、適切な病態モデル動物を用いた病態時の神経機能の解明や新規治療薬の有効性の評価を行うための基礎研究が必要である。これまでに集積されてきた臨床および基礎研究における知見から、統合失調症の病態 (陽性症状・陰性症状および認知障害) に関していくつかの仮説 (ドパミン過剰仮説, グルタミン酸低下仮説, 神経発達障害仮説) が提唱されている (Harrison, 1999; Mouri et al, 2007a)。それぞれの仮説に基づき、その病態を反映したモデル動物の作製が試みられている。一方、統合失調症の病因には遺伝要因が関与していることが家系研究、双生児研究、養子研究などから示唆されており、多くの候補遺伝子が見いだされている。見いだされた候補遺伝子を改変させたマウスの中には統合失調症モデル動物として注目されて

いるものもある (Enomoto et al, 2007)。基礎研究においてモデル動物で認められる行動学的・生化学的異常が統合失調症の病態を反映しているかどうかについて、臨床医の視点からの指摘は非常に有益である。新たな治療・予防戦略や診断体系を確立するためにも、臨床検体を用いた候補遺伝子の関連解析、精神疾患発症脆弱性候補分子の探索的研究およびモデル動物を用いた候補分子の機能評価系の確立など、臨床的側面および基礎的側面の双方からアプローチする必要がある。本章ではこれまでに我々が開発してきた統合失調症モデル動物と、それに関連する薬理学および遺伝子学的病態モデル動物について概説し、それらをより臨床知見に基づいたものに発展させるために考慮しなければならないことについて提案した。

### I. グルタミン酸低下仮説に基づく薬理学的モデル動物: PCP 投与動物モデル (成体期投与) (Table 1)

非競合的 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体拮抗薬であるフェンシクリジン (PCP) は、1970 年代に乱用され、薬物依存者に精神症状 (PCP 精神病) を惹起することから (Javitt and Zukin, 1991)、統合失調症には NMDA 受容体機能の低下が関係しているという「グルタミン酸低下仮説 (NMDA 受容体機能低下仮説)」が提唱された

\* 本論文は第 38 回日本神経精神薬理学会 (2008 年 10 月, 東京) におけるシンポジウム講演の記録である。

\*<sup>1</sup> 〒468-8503 名古屋市天白区八事山 150

E-mail: y-noda@med.nagoya-u.ac.jp

(別刷請求先: 野田幸裕)

Table 1 フェンシクリジン (PCP) 連続投与マウスに認められる統合失調症様症状の行動学的, 形態学および生化学的变化

	評価項目	評価試験	変化	
〈行動学的解析〉				
陽性症状	自発性	運動量測定	行動感作	(Noda et al, 1995a)
	社会性行動	社会性行動試験	障害	(Sams-Dodd, 1998; Qiao et al, 2001)
陰性症状	意欲 (無動状態)	強制水泳試験	増強	(Noda et al, 1995b; Murai et al, 2007)
	作業記憶	T型迷路試験	障害	(Jentsch et al, 1997)
認知障害	注意力	セットシフティング試験	障害	(Rodefer et al, 2005)
	視覚的認識記憶	新奇物体認識試験	障害	(Nagai et al, 2009)
	連合学習	恐怖条件づけ学習試験	障害	(Enomoto et al, 2005)
	潜在学習	水探索試験	障害	(Mouri et al, 2007b)
〈生化学的解析〉				
神経細胞	形態	ニッスル染色	萎縮	(Murai et al, 2007)
	スパインシナプス数	電子顕微鏡像	減少	(Hajszan et al, 2006)
グルタミン酸作動性神経系	細胞外グルタミン酸遊離量	マイクロダイアリス	減少	(Murai et al, 2007)
	NMDA 受容体応答性	ERK・CaMKII リン酸化 (スライス培養)	減少	(Enomoto et al 2005; Mouri et al, 2007b)
	NR1	リン酸化	減少	(Mouri et al, 2007b)
ドーパミン作動性神経系	細胞外ドーパミン遊離量	マイクロダイアリス	減少	(Jentsch et al, 1998; Mouri et al, 2007b)
GABA 作動性神経系	細胞数	PV 陽性細胞数	減少	(Morrow et al, 2007)

NMDA: N-methyl-D-aspartate, ERK: extracellular signaling-regulated kinase, CaMKII: Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II, PV: parvalbumin.

(Carlsson et al, 1997).

PCP は, 他の NMDA 受容体拮抗薬 (ケタミンやジズピルピン) の中で最も多用されているモデル薬物である。PCP は単回投与した場合も多彩な薬理作用 [自発運動量の増加 (Noda et al, 1995a), 常同行動 (Nabeshima et al, 1987), 受動回避反応における長期記憶障害 (Nabeshima et al, 1986), 放射状迷路試験における作業記憶障害 (Danysz et al, 1998), 水探索試験における潜在学習障害 (Noda et al, 2001), プレバルスインヒビション (PPI) 試験における情報処理機能障害 (Linn et al, 2003) など] を示す。連続投与した場合は, 依存患者が摂取を中止した後もその精神症状が数週間持続するように, モデル動物でも行動変化が持続する点が興味深い。たとえば, PCP を連続投与した実験動物において, 陽性症状様の行動変化としては運動過多が増強され, 第一世代 (従来/定型) 抗精神病薬および第二世代 (新規/非定型) 抗精神病薬は緩解作用を示す (Noda et al, 1995a)。陰性症状様の行動変化としては強制水泳試験における無動状態の増強 (Noda et al, 1995b; Murai et al, 2007) および社会性行動の低下 (Sams-Dodd, 1998; Qiao et al, 2001) が認められる。認知障害としては, T型迷路における作業記憶障害 (Jentsch et al, 1997), セットシフティング試験における注意障害 (Rodefer et al, 2005), 恐怖条件付け学習試験における連合学習障害 (Enomoto et al, 2005), 水探索試験における潜在学習障害 (Mouri et al, 2007b) および新奇物体認識試

験における視覚的認識記憶障害 (Nagai et al, 2009) が知られている。こうした陰性症状・認知障害に対しては第二世代 (新規/非定型) 抗精神病薬は緩解作用を示すが, 第一世代 (従来/定型) 抗精神病薬は効果を示さず, 臨床 (Tandon et al, 1999) と同様の結果が得られている。

統合失調症では, 神経突起終末の減少や神経伝達物質の合成, 遊離, 取り込み機構などの異常も報告されている (Lewis and Lieberman, 2000; Vawter et al, 2002; Halim et al, 2003)。PCP 連続投与動物においても樹状突起のスパインシナプス数の減少 (Hajszan et al, 2006) および神経細胞の萎縮 (Murai et al, 2007) などが認められる。PCP 単回投与は脳内グルタミン酸の遊離量を増加させるが (Adams and Moghaddam, 1998), PCP 連続投与はグルタミン酸再取り込みに重要なグリア型グルタミン酸トランスポーターの GLAST を増加させ, 前頭前皮質における細胞外グルタミン酸遊離量を減少させる (Murai et al, 2007)。PCP 連続投与により, 前頭前皮質の NR1 のリン酸化の低下 (Mouri et al, 2007b), 脳のスライス実験における NMDA 刺激に対する細胞内シグナル分子 (Ca<sup>2+</sup>/calmodulin kinase II: CaMKII および extracellular signaling-regulated kinase: ERK) のリン酸化による応答性の低下が認められる (Enomoto et al, 2005; Mouri et al, 2007b)。GLAST の阻害剤, D-サイクロセリンおよびグリシンは PCP 連続投与マウスに認められる強制水泳試験における意欲低下および水探索試験における潜在学習障害を緩解することから, PCP



連続投与によるグルタミン酸作動性神経系機能の低下が、種々の精神機能に影響を及ぼしていると示唆されている (Murai et al, 2007; Mouri et al, 2007b). Positron emission tomography (PET) を用いた研究では、統合失調症患者の前頭前皮質のドパミン受容体の密度の低下が認知機能と関連していることが報告されており (Okubo et al, 1997; Abi-Dargham et al, 2002), 前頭前皮質におけるグルタミン酸作動性神経系と同様に、ドパミン作動性神経系の機能低下も統合失調症の認知障害に関与していることが示唆されている (Carlsson et al, 2001; Winterer and Weinberger, 2004). PCP 急性投与や高カリウム刺激によって細胞外ドパミン遊離量は増加するが、PCP 連続投与ではそのような増加は認められない (Jentsch et al, 1998; Mouri et al, 2007b). PCP 連続投与による NR1 リン酸化の低下および潜在学習障害はドパミン D1 受容体作動薬により緩解すること (Mouri et al, 2007b), ドパミン受容体は前頭前皮質における NMDA 受容体を介したシナプス伝達を調節していることから (Seamans et al, 2001; Tseng and O'Donnell, 2004), 両神経系の機能異常は相互に影響し合っている可能性がある。一方、統合失調症患者の前頭前皮質の死後脳解析において、glutamic acid decarboxylase (GAD67), parvalbumin (PV) および calretinin などの GABA 作動性神経の指標となるタンパク質の陽性神経細胞数および mRNA 量などが減少していることから、その病態には GABA 作動性神経系の機能低下も関与していることが報告されている (Benes et al, 1991; Hashimoto et al, 2003). 動物実験でも、PCP を前頭前皮質に還流させると GABA の遊離を減少させること (Yonezawa et al, 1998) が報告されている。さらに、PCP 連続投与は前頭前皮質の PV 陽性細胞数を減少させる (Morrow et al, 2007). MK-801 を持続注入したマウスでは GAD mRNA の減少が認められる (Qin et al, 1994).

このように、PCP 連続投与は統合失調症に類似した精神行動異常だけでなく生化学的な異常も引き起こすため、PCP の急性投与と比較してより病態に近いモデル動物であると考えられる。

## II. 今後の展望 (1)

統合失調症の神経発達障害仮説を発展させた two-hit 仮説がある。Two-hit 仮説では、胎生期・周産期・生後発達期において何らかの原因による脳発達障害により統合失調症に対する脆弱性が形成され、思春期以降における社会的ストレスや薬物乱用などにより統合失調症が発症することが提案されている。神経発達障害仮説は、統合失調症患者では海馬の体積減少や側脳室の拡大が認められること、死後脳においてグリオーシスが認められないこと、ほとんどが思春期以降に発症することから、脳構造の発達障害が思

春期の発症に関与していると提案された (Weinberger, 1995). したがって、two-hit 仮説に基づいた動物モデルを作製するには神経発達障害仮説モデルに思春期にストレスを負荷することが必要である。実際に新生仔期腹側海馬損傷動物モデルに PCP を連続投与すると、PCP による行動量増加が増強するとともに線条体におけるドパミン D1 受容体の増加とドパミン D2 受容体の減少、および前頭前皮質の NMDA 受容体の減少が認められる (Hori et al, 2000). 一方、神経発達障害モデル動物の成熟期にストレスを負荷した報告は少ない。この場合に負荷するストレスの種類は、臨床知見に基づいたストレスを選択する必要がある。より妥当性の高い動物モデルを作製するために、臨床医と基礎研究者が情報交換を密にすることが必要であると考えられる。

## III. 統合失調症関連遺伝子に基づくモデル動物： DISC1 (Disrupted in schizophrenia 1) (Table 2)

スコットランドの大家系において1番染色体長腕と11番染色体長腕の均衡転座が認められ、これらの転座が精神疾患の発症と関連があることが報告された (St Clair et al, 1990). この1番染色体転座断片から DISC1 (Disrupted in schizophrenia 1) が同定され、転座によって DISC1 の C 末端側の 257 アミノ酸が欠失していることが判明した (Millar et al, 2000). フィンランドの統合失調症の 458 家系において、DISC1 およびその 5' 末端に隣接する TRAX (translin associated factor X) を含めた 28 個の SNP を用いた家系内伝達不平衡解析 (TDT) において、1つのハプロタイプが高い頻度で患者の親子間で伝達され、3つのハプロタイプが低い頻度で患者に伝達されていることが見だされている (Hennah et al, 2003). このような TDT は白人の統合失調症患者においても実施されており、DISC1 の 703 番目のセリンの SNP をホモで保有する被験者はシステインをホモで保有する被験者と比較して両側海馬の灰白質が小さく、海馬体の N-アセチルアスパラギン酸が減少しており、Wisconsin Card Sorting test のカテゴリー尺度が低い (Callicott et al, 2005). DISC1 の 703 番目のセリンがシステインに置換される SNP について日本人の統合失調症・大うつ病性障害と健常者と比較した研究では、システインアレルの保有者は大うつ病性障害と有意な関連があり、帯状回皮質の灰白質の減少が認められている (Hashimoto et al, 2006). また、703 番目の残基がセリンとシステインである DISC1 のベクターをそれぞれ作製し、皮質神経に導入した研究では、セリン DISC1 はシステイン DISC1 と比較して有意な ERK シグナルの増加が認められており、このような相違が灰白質の減少や大うつ病性障害の罹患に関連していると示唆されている (Hashimoto et al, 2006). 最近の DISC1 の SNP およびその連鎖不均衡解

Table 2 Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) 遺伝子組換えマウスに認められる行動学および生化学的变化

	129S6/SvEV マウス (Koike et al, 2006)	DISC1 ミスセンス 変異マウス (Clapcote et al, 2007)	ドミナントネガティブ DISC1 トランス ジェニックマウス (Hikida et al, 2007)	相同組換え DISC1 トランス ジェニックマウス (Pletnikov et al, 2008)	相同組換え DISC1 トランス ジェニックマウス (Shen et al, 2008)	胎生期 DISC1 ノックダウンマウス	
		31L	100P				
<b>〈行動学的解析〉</b>							
オープンフィールド 試験	変化なし	変化なし	自発運動 量の増加	自発運動量 の増加	自発運動量 の増加	—	覚せい剤による 運動量増加の亢進
プレバルスインヒビ ション試験	変化なし	障害	障害	障害	障害	障害	障害
強制水泳試験	—	無動時間 (延長)	変化なし	無動時間 (延長)	—	無動時間 (延長)	—
テイルサスペンション 試験	—	—	—	—	—	無動時間 (延長)	—
社会性行動試験	—	社会性 行動低下	変化なし	—	社会性行動 低下・攻撃性 増加	—	—
T 型迷路試験	障害	障害	障害	—	—	—	障害
レイテント・インヒビ ション試験	—	障害	障害	—	—	障害	—
新奇物体認識試験	—	—	—	—	—	—	障害
<b>〈生化学的解析〉</b>							
脳容積	変化なし	萎縮	萎縮	変化なし	変化なし	萎縮	—
側脳室	—	—	—	拡大	拡大	拡大	—
GABA 作動性神経系	—	—	—	PV 陽性細胞 数の減少 (前頭前皮質)	—	PV 陽性細胞数 の減少 (前頭前 皮質・海馬)	—
ドパミン作動性神経系	—	—	—	—	—	—	TH 陽性細胞数の 減少 (前頭前皮質)・ 細胞外ドパミン 遊離量の低下

—: 未実施, PV: parvalbumin, TH: tyrosine hydroxylase.

析において、自閉症もしくはアスペルガー症候群との関連性についても報告されている (Kilpinen et al, 2008)。このように、DISC1 の遺伝子変異は統合失調症をはじめとする多くの精神・神経疾患に関与していることが示唆されている。

DISC1 は中枢神経系に発現しており、成体ラットでは大脳皮質、嗅球、海馬などの前脳に多く発現する。DISC1 はラットの胎生 20.5 日目において特に強く発現することから、脳の発達段階に重要な役割を果たしていることが考えられる (Ozeki et al, 2003)。DISC1 は 854 アミノ酸からなるタンパク質であるが機能を示唆するような一次構造を有していないため、多くの研究において DISC1 結合タンパク質の同定とその機能について検討されている。

### 1. DISC1 遺伝子変異動物：129S6/SvEV マウス

129S6/SvEV マウスには DISC1 遺伝子の第 6 エクソンに自然発症の 25 塩基の欠失変異があり、この欠損により DISC1 mRNA にフレームシフトが起き、DISC1 タンパク質の発現が認められない (Koike et al, 2006)。129S6/SvEV マウスを C57BL/6J と交配し、DISC1 の欠失をもつ C57BL/6J マウスを作製した研究では、脳の組織学的変化、PPI に

おける情報処理機能および新規環境下での自発運動量の変化は認められなかったが、T 型迷路試験では作業記憶障害が認められている (Koike et al, 2006)。129S6/SvEV マウスの DISC1 発現の追試研究では、エピトープの異なる抗体を用いると 129S6/SvEV マウスにおいても DISC1 のタンパク質発現が認められ、129S6/SvEV マウスでは DISC1 の一部のスプライシングフォームが欠失していると考えられている (Ishizuka et al, 2007)。

### 2. DISC1 ミスセンス変異マウス

理研変異マウスライブラリーと高速変異発見システムを用いて、DISC1 のアミノ酸配列が置換されるような遺伝子に点変異 (ミスセンス変異) をもつマウスが 2 系統作製されている (Clapcote et al, 2007)。31 番目のグルタミンがロイシン (Gln31Leu; 31L) および 100 番目のロイシンがプロリン (Leu100Pro; 100P) に置換されたマウスはともに脳の萎縮が認められている (Clapcote et al, 2007)。100P マウスでは DISC1 と phosphodiesterase 4B (PDE4B) との結合の低下が認められる。強制水泳試験における意欲や社会性行動試験における社会性行動に変化は認められないが、オープンフィールド試験における自発運動量の増加、

PPI における情報処理機能の障害, T 型迷路試験における作業記憶の障害, レイテント・インヒビション試験における潜在学習の障害が認められ, 統合失調症に類似した行動異常を示す (Clapcote et al, 2007). 一方, 31L マウスでは, オープンフィールド試験における自発運動量に変化は認められなかったが, PPI における情報処理機能の障害, T 型迷路試験における作業記憶の障害, レイテント・インヒビション試験における潜在学習の障害, さらに強制水泳試験における意欲の低下および社会性行動試験における社会性の低下が認められることから, うつ病に類似した行動異常を示す (Clapcote et al, 2007).

### 3. ドミナントネガティブ DISC1 トランスジェニックマウス

臨床知見に類似した C 末端が欠落したヒト DISC1 を発現させることにより, 内在性の DISC1 の機能を低下させたドミナントネガティブ DISC1 トランスジェニックマウスが作製されている. CaMKII プロモーターの制御下で C 末端が欠落したヒト DISC1 (1-597 アミノ酸) を前脳特異的に発現させたトランスジェニックマウスでは脳の萎縮は認められないが, 脳室の拡大, PV 陽性細胞数の減少, オープンフィールド試験における自発運動量の増加, PPI における情報処理機能の障害, および強制水泳試験における意欲の低下が認められる (Hikida et al, 2007). Tet-off 遺伝子発現, および CaMKII プロモーターを制御して tTA を発現するシステムを用いて, 上記と同様に前脳特異的に C 末端が欠落したヒト DISC1 (1-573 アミノ酸) を発現させたトランスジェニックマウスが作製されている (Pletnikov et al, 2008). この DISC1 トランスジェニックマウスでは脳の萎縮は認められないが, 脳室の拡大, 初代神経培養における突起伸張の短縮, オープンフィールド試験における自発運動量の増加, PPI における情報処理機能の障害および社会性行動試験における社会性の低下と攻撃性の増加が認められる (Pletnikov et al, 2008).

### 4. 相同組換え DISC1 トランスジェニックマウス

エクソン 9 の途中で切断されたマウス DISC1 の DNA と, 内在する DISC1 の DNA と相同組換えした DISC1 トランスジェニックマウスが作製されている (Shen et al, 2008). この DISC1 トランスジェニックマウスでは脳の萎縮, 脳室の拡大, 大脳皮質 2~3 層の減少, 胎生期の神経新生の低下, 初代神経培養における突起伸張の短縮, PV 陽性神経細胞の減少, PPI における情報処理機能の障害, レイテント・インヒビション試験における潜在学習の障害, および強制水泳試験, ならびにテイルサスペンション試験における意欲の低下が認められる (Shen et al, 2008).

### 5. 胎生期 DISC1 ノックダウン (KD) マウス

我々は, 子宮内エレクトロポレーション法を用いて, 神経発達過程の大脳皮質における DISC1 の発現を抑制した

KD マウスを作製した. 成熟後の KD マウスにおいて, 前頭皮質の錐体細胞の形態異常, 前頭前皮質のドーパミン量およびドーパミン合成酵素であるチロシン水酸化酵素の減少, 側坐核刺激によるドーパミン遊離の亢進, 覚せい剤投与による運動過多の増強, 新奇物体認識試験における視覚的認識記憶の低下, T 型迷路試験における作業記憶の障害, および PPI における情報処理の障害が認められている.

以上のように, 様々なアプローチにより内在性 DISC1 の機能を低下させた動物が作製され, こうしたマウスの解析から統合失調症およびうつ病に類似した行動異常が認められている. これらの動物間の相違点を詳細に検討することにより, DISC1 の神経発達および精神機能における役割を明確にしていく必要がある.

## IV. 今後の展望 (2)

DISC1 の遺伝子変異は多くの精神・神経疾患の罹患との関連があり, DISC1 は多くのタンパク質と結合し多彩な役割を果たし, DISC1 の機能を低下させたマウスは様々な組織学的・行動薬理的異常が認められている. これら報告は有益な知見をもたらす一方で, DISC1 のより体系的な研究が必要になると考えられる. DISC1 遺伝子変異マウスの統合失調症動物モデルとしての妥当性については, 統合失調症は単一遺伝子変異による疾患ではなく複数の遺伝要因, および環境要因により発症すると考えられているため, 単一の遺伝子を改変させたマウスでは統合失調症のモデル動物として限界がある. 今後, 複数の遺伝子変異をもつマウスや, そのマウスに環境要因を組み合わせた動物モデルの作製が必要になる. したがって, DISC1 遺伝子変異を有する統合失調症患者において, 1) 他の統合失調症関連遺伝子の変異, 2) 発症原因となる環境要因 (ストレス等) および 3) 統合失調症の症状について, 臨床医と基礎研究者が情報交換し, より妥当性の高い動物モデルを作製することが望まれる.

## V. おわりに

統合失調症の薬理的動物モデルとして PCP 投与動物, 遺伝子改変動物モデルとして DISC1 遺伝子変異マウスを用いて概説し, それらの動物モデルの問題点, およびそれを克服するために臨床医との連携することを提案した. 本総説の内容はこれら動物モデルだけでなく, 他の薬理的および遺伝子学的な処置をした動物モデルに対しても該当する部分は多いと考えられる. 今後, より病態を反映した動物モデルの作製を試みるために, 臨床医と基礎研究者がより密接に情報交換をおこなうことにより, 統合失調症の原因解明や治療に結びつくことを願っている.

## 文 献

- Abi-Dargham, A., Mawlawi, O., Lombardo, I., Gil, R., Martinez, D., Huang, Y., Hwang, D. R., Keilp, J., Kochan, L., Van Heertum, R., Gorman, J. M. and Laruelle, M. (2002) Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. *J Neurosci*, 22: 3708-3719.
- Adams, B. and Moghaddam, B. (1998) Corticolimbic dopamine neurotransmission is temporally dissociated from the cognitive and locomotor effects of phencyclidine. *J Neurosci*, 18: 5545-5554.
- Benes, F. M., McSparren, J., Bird, E. D., SanGiovanni, J. P. and Vincent, S. L. (1991) Deficits in small interneurons in prefrontal and cingulate cortices of schizophrenic and schizoaffective patients. *Arch Gen Psychiatry*, 48: 996-1001.
- Carlsson, A., Hansson, L. O., Waters, N. and Carlsson, M. L. (1997) Neurotransmitter aberrations in schizophrenia: New perspectives and therapeutic implications. *Life Sci*, 61: 75-94.
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M. and Carlsson, M. L. (2001) Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: New evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41: 237-260.
- Callicott, J. H., Straub, R. E., Pezawas, L., Egan, M. F., Mattay, V. S., Hariri, A. R., Verchinski, B. A., Meyer-Lindenberg, A., Balkissoon, R., Kolachana, B., Goldberg, T. E. and Weinberger, D. R. (2005) Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: 8627-8632.
- Clapcote, S. J., Lipina, T. V., Millar, J. K., Mackie, S., Christie, S., Ogawa, F., Lerch, J. P., Trimble, K., Uchiyama, M., Sakuraba, Y., Kaneda, H., Shiroishi, T., Houslay, M. D., Henkelman, R. M., Sled, J. G., Gondo, Y., Porteous, D. J. and Roder, J. C. (2007) Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. *Neuron*, 54: 387-402.
- Danysz, W., Wroblewski, J. T. and Costa, E. (1998) Learning impairment in rats by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Neuropharmacology*, 27: 653-656.
- Enomoto, T., Noda, Y., Mouri, A., Shin, E. J., Wang, D., Murai, R., Hotta, K., Furukawa, H., Nitta, A., Kim, H. C. and Nabeshima, T. (2005) Long-lasting impairment of associative learning is correlated with a dysfunction of N-methyl-D-aspartate-extracellular signaling-regulated kinase signaling in mice after withdrawal from repeated administration of phencyclidine. *Mol Pharmacol*, 68: 1765-1774.
- Enomoto, T., Noda, Y. and Nabeshima, T. (2007) Phencyclidine and genetic animal models of schizophrenia developed in relation to the glutamate hypothesis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 29: 291-301.
- Hajszan, T., Leranath, C. and Roth, R. H. (2006) Subchronic phencyclidine treatment decreases the number of dendritic spine synapses in the rat prefrontal cortex. *Biol Psychiatry*, 60: 639-644.
- Halim, N. D., Weickert, C. S., McClintock, B. W., Hyde, T. M., Weinberger, D. R., Kleinman, J. E. and Lipska, B. K. (2003) Presynaptic proteins in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia and rats with abnormal prefrontal development. *Mol Psychiatry*, 8: 797-810.
- Harrison, P. J. (1999) The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122: 593-624.
- Hashimoto, T., Volk, D. W., Eggen, S. M., Mirnics, K., Pierri, J. N., Sun, Z., Sampson, A. R. and Lewis, D. A. (2003) Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Neurosci*, 23: 6315-6326.
- Hashimoto, R., Numakawa, T., Ohnishi, T., Kumamaru, E., Yagasaki, Y., Ishimoto, T., Mori, T., Nemoto, K., Adachi, N., Izumi, A., Chiba, S., Noguchi, H., Suzuki, T., Iwata, N., Ozaki, N., Taguchi, T., Kamiya, A., Kosuga, A., Tatsumi, M., Kamijima, K., Weinberger, D. R., Sawa, A. and Kunugi, H. (2006) Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression, brain morphology and ERK signaling. *Hum Mol Genet*, 15: 3024-3033.
- Hennah, W., Varilo, T., Kestilä, M., Paunio, T., Arajärvi, R., Haukka, J., Parker, A., Martin, R., Levitzky, S., Partonen, T., Meyer, J., Lönnqvist, J., Peltonen, L. and Ekelund, J. (2003) Haplotype transmission analysis provides evidence of association for DISC1 to schizophrenia and suggests sex-dependent effects. *Hum Mol Genet*, 12: 3151-3159.
- Hikida, T., Jaaro-Peled, H., Seshadri, S., Oishi, K., Hookway, C., Kong, S., Wu, D., Xue, R., Andradé, M., Tankou, S., Mori, S., Gallagher, M., Ishizuka, K., Pletnikov, M., Kida, S. and Sawa, A. (2007) Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 14501-14506.
- Hori, T., Subramaniam, S., Srivastava, L. K. and Quirion, R. (2000) Behavioral and neurochemical alterations following repeated phencyclidine administration in rats with neonatal ventral hippocampal lesions. *Neuropharmacology*, 39: 2478-2491.
- Ishizuka, K., Chen, J., Taya, S., Li, W., Millar, J. K., Xu, Y., Clapcote, S. J., Hookway, C., Morita, M., Kamiya, A., Tomoda, T., Lipska, B. K., Roder, J. C., Pletnikov, M., Porteous, D., Silva, A. J., Cannon, T. D., Kaibuchi, K., Brandon, N. J., Weinberger, D. R. and Sawa, A. (2007) Evidence that many of the DISC1 isoforms in C57BL/6J mice are also expressed in 129S6/SvEv mice. *Mol Psychiatry*, 12: 897-899.
- Javitt, D. C. and Zukin, S. R. (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 148: 1301-1308.
- Jentsch, J. D., Tran, A., Le, D., Youngren, K. D. and Roth, R. H. (1997) Subchronic phencyclidine administration reduces mesoprefrontal dopamine utilization and impairs prefrontal cortical-dependent cognition in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 17: 92-99.
- Jentsch, J. D., Dazzi, L., Chhatwal, J. P., Verrico, C. D. and Roth, R. H. (1998) Reduced prefrontal cortical dopamine, but not acetylcholine, release in vivo after repeated, intermittent phencyclidine administration to rats. *Neurosci Lett*, 258: 175-178.
- Kilpinen, H., Ylisaukko-Oja, T., Hennah, W., Palo, O. M., Varilo, T., Vanhala, R., Nieminen-von Wendt, T., von Wendt, L., Paunio, T. and Partonen, L. (2008) Association of DISC1 with autism and Asperger syndrome. *Mol Psychiatry*, 13: 187-196.
- Koike, H., Arguello, P. A., Kvajo, M., Karayiorgou, M. and Gogos, J. A. (2006) Disc1 is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 3693-3697.
- Lewis, D. A. and Lieberman, J. A. (2000) Catching up on schizophrenia: Natural history and neurobiology. *Neuron*, 28: 325-334.
- Linn, G. S., Negi, S. S., Gerum, S. V. and Javitt, D. C. (2003) Reversal of phencyclidine-induced prepulse inhibition deficits by clozapine in monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*, 169: 234-239.
- Millar, J. K., Wilson-Annan, J. C., Anderson, S., Christie, S., Taylor, M. S., Semple, C. A., Devon, R. S., Clair, D. M., Muir, W. J., Blackwood, D. H. and Porteous, D. J. (2000) Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Hum Mol Genet*, 9: 1415-1423.
- Morrow, B. A., Elsworth, J. D. and Roth, R. H. (2007) Repeated phencyclidine in monkeys results in loss of parvalbumin-containing axo-axonic projections in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)*, 192: 283-290.
- Mouri, A., Noda, Y., Enomoto, T. and Nabeshima, T. (2007a) Phencyclidine animal models of schizophrenia: Approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem Int*, 51: 173-184.
- Mouri, A., Noda, Y., Noda, A., Nakamura, T., Tokura, T., Yura, Y., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T. (2007b) Involvement of a dysfunctional dopamine-D1/N-methyl-D-aspartate-NR1 and Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II pathway in the impairment of latent learning in a model of schizophrenia induced by phencyclidine. *Mol Pharmacol*, 71: 1598-1609.
- Murai, R., Noda, Y., Matsui, K., Kamei, H., Mouri, A., Matsuba, K., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T. (2007) Hypofunctional