

平成22年03月31日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390301

研究課題名（和文） 統合失調症の分子病態解明に関する研究

研究課題名（英文） Study on Molecular Pathophysiology of Schizophrenia

研究代表者

橋本 謙二（HASHIMOTO KENJI）

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

研究成果の概要（和文）：

統合失調症の病態仮説として、グルタミン酸受容体のサブタイプである NMDA 受容体を介する神経伝達が低下している可能性が指摘されている。本研究では、統合失調症のモデル動物を用いて、NMDA 受容体を活性化する薬剤（NMDA 受容体のグリシン部位に結合する細胞外グリシン濃度を調節しているグリシントランスポーターの阻害薬や内在性アゴニストである D 型セリンと分解酵素阻害薬の併用）が新しい治療薬として有効であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

It is suggested that hypofunction of the NMDA receptors, a subtype of glutamate receptors, might be implicated in the pathophysiology of schizophrenia. In this study, we found that glycine transporter inhibitor or a combination of D-serine and D-amino acid oxidase inhibitor would be potential therapeutic drugs for schizophrenia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4900000	1470000	6370000
2008年度	3400000	0	3400000
2009年度	2700000	0	2700000
年度			
年度			
総計	11000000	1470000	12470000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：NMDA 受容体、統合失調症、グリシントランスポーター、D 型セリン

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は代表的な精神疾患であるが、その分子病態は未だ明らかにされていない。統合失調症の仮説として、最も支持されている仮説が、グルタミン酸受

容体のサブタイプ NMDA 受容体の低下仮説である。この仮説に基づき、国内外の多くの研究者が、統合失調症の病態研究や新しい治療薬の開発研究を進めている。

2. 研究の目的

- (1) 最初に、統合失調症の NMDA 受容体機能低下仮説に基づき、細胞外グリシン濃度を調節しているグリシントランスポーターが統合失調症のモデル動物で変化しているかどうかを調べた。さらにグリシントランスポーター阻害薬 NFPS が統合失調症のモデル動物において有効性を示すかどうかを調べた。
- (2) 次に、NMDA 受容体の内在性リガンドである D 型セリンは統合失調症患者において治療効果を示すことが報告されているが、脳移行性が良好でないことと、末梢臓器での分解されやすいことから、多量の D 型セリンを投与する必要がある。本研究で、D 型セリンの投与量を軽減できないかを、D 型アミノ酸酸化酵素 (DAAO) 阻害薬の併用投与する事により、検討した。

3. 研究の方法

- (1) 雄性 ICR マウスに NMDA 受容体拮抗薬 フェンサイクリジン (PCP: 10 mg/kg) あるいは生理食塩水を 1 日 1 回、10 日間投与した。最終投与 3 日から、溶媒投与群、グリシントランスポーター阻害薬 NFPS 投与群、D 型セリン投与群に分けて、1 日 1 回 14 日間投与した。行動評価は新規物体再認識テストを用いて行った。さらに、モデル動物の前頭皮質および海馬におけるグリシントランスポーター量をウェスタンブロット法にて測定した。
- (2) 雄性 ddY マウスに NMDA 受容体拮抗薬 MK-801 (0.1 mg/kg) あるいは生理食塩水を投与した。MK-801 投与 15 分前に D 型

セリン投与群、D 型セリン+DAAO 阻害薬 CBIO 投与群、CBIO 投与群に分けた。行動評価は驚愕反応装置を用いて行い、プレパルス抑制試験 (PPI) を求めた。また前頭皮質における細胞外 D 型セリン濃度をインビボ透析法を用いてサンプリングして、HPLC で測定した。

4. 研究成果

- (1) NMDA 受容体を介するグルタミン酸神経伝達の異常は、統合失調症などの精神疾患の病態に関与していることが示唆されている。このようなことより NMDA 受容体拮抗薬 PCP は、統合失調症の動物モデルとして頻繁に使用されている。我々は PCP の繰り返し投与によって引き起こされる認知機能障害のモデルにおいて、非定型抗精神病薬クロザピンは改善作用を示すが、定型抗精神病薬ハロペリドールには改善作用が無いことを見出した。以上のことより、PCP 誘発認知機能障害モデルは新規非定型抗精神病薬の開発に有用であることと報告した。

NMDA 受容体のグリシン調節部位の内在性リガンドであるグリシンは、NMDA 受容体の近傍に存在するグリシントランスポーター (GlyT-1) によってグリア細胞に取り込まれる。今回、PCP 誘発認知機能障害モデルにおける GlyT-1 阻害薬 NFPS の効果を調べたところ、有意に改善することが判った。また PCP 投与によって、マウス海馬における GlyT-1 が有意に増加していること。さらに細胞外グリシン濃度が有意に減少していることが判明した。これらの結果は GlyT-1 の増加は NMDA 受容体の機能低下を引き起こすことから、GlyT-1 過剰発現マウスは統合失調症の動物モデルとして有用である可能性が示唆

された。以上の結果より、GlyT-1 阻害薬は統合失調症の新しい治療薬として有用である可能性が示唆された。

- (2) 以前我々は、統合失調症の病態に D 型アミノ酸の一つである D 型セリンを介する NMDA 受容体機能低下が関与していること、および D 型セリンの合成・分解の過程に異常がある可能性を指摘した。また米国ハーバード大学の Dr. Tsai らのグループは、統合失調症患者における D 型セリンの二重盲検プラセボ対照試験を施行したところ、D 型セリンはプラセボ投与群と比較して、統合失調症の陽性症状、陰性症状、および認知機能障害を有意に改善することを報告した。しかしながら、経口投与された D 型セリンは末梢臓器において D 型アミノ酸酸化酵素 (DAAO) で代謝されるため、精神疾患患者の治療には高用量の D 型セリンが必要である。本研究では、統合失調症の治療における D 型セリンの投与量を軽減することを目的として、DAAO 阻害作用の併用投与の効果を検討した結果、NMDA 受容体拮抗薬 MK-801 投与によるプレパルス抑制 PPI 障害に対する D 型セリンの効果は、DAAO 阻害薬の同時投与により増強した。さらに、インビボ脳内透析法により、マウス前頭皮質における細胞外 D 型セリン濃度は、D 型セリン単独投与に比べて、DAAO 阻害薬の同時投与の方が有意に高いことが判った。D 型セリンは D 型アミノ酸酸化酵素 (DAAO) によって分解されることが知られており、DAAO 阻害作用を有する薬剤を同時投与することにより、D 型セリンの投与量を軽減することが可能になった。本研究成果は、D 型セリンの副作用の軽減にも繋がる重要な薬理学的アプローチであり、今後の治療薬

開発に高いインパクトを与えた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① Hashimoto, K. (2007) Glycine transporter-1 inhibitors as novel therapeutic drugs for schizophrenia. *CNS Agents Med. Chem.* 7, 177-182. 査読有
- ② Hashimoto, K., Ishima, T., Fujita, Y., Matsuo, M., Kobashi, T., Takahagi, M., Tsukada, H. and Iyo, M. (2008) Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the novel selective $\alpha 7$ nicotinic receptor agonist SSR180711. *Biol. Psychiatry* 63, 92-97. 査読有
- ③ Karasawa, J., Hashimoto, K., Chaki, S. (2008) D-serine and a glycine transporter inhibitor improve MK-801-induced cognitive deficits in a novel object recognition test in rats. *Behav. Brain Res.* 186, 78-83. 査読有
- ④ Hikida, T., Mustafa, A.K., Maeda, K., Fujii, K., Barrow, R.K., Saleh, M., Oby, L., Haganir, R.L., Snyder, S.H., Hashimoto, K. and Sawa, A. (2008) Modulation of D-serine levels in brains of mice lacking PICK1. *Biol. Psychiatry* 63, 997-1000. 査読有
- ⑤ Hashimoto, K., Fujita, Y., Ishima, T., Chaki, S. and Iyo, M. (2008) Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of glycine transporter-1 inhibitor NFPS and D-serine. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 18, 414-421. 査読有
- ⑥ Hagiwara, H., Fujita, Y., Ishima, T.,

- Kunitachi, S., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K. (2008) Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antipsychotic drug perospirone: role of serotonin 5-HT_{1A} receptor. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 18, 448-454. 査読有
- ⑦ Kanahara, N., Shimizu, E., Ohgake, S., Fujita, Y., Kohno, M., Hashimoto, T., Matsuzawa, D., Shirayama, Y., Hashimoto, K. and Iyo, M. (2008) Glycine and D-serine, but not D-cycloserine, attenuate prepulse inhibition deficits induced by NMDA receptor antagonist MK-801. *Psychopharmacology* 198, 363-374. 査読有
- ⑧ Hashimoto, K. (2008) Food additives and hyperactive behaviors in children. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 6, 79. 査読有
- ⑨ Inoue, R., Hashimoto, K., Harai, T. and Mori, H. (2008) NMDA- and β -amyloid₁₋₄₂-induced neurotoxicity is attenuated in serine racemase knockout mice. *J. Neurosci.* 28, 14486-14491. 査読有
- ⑩ Horio, M., Fujita, Y., Ishima, T., Iyo, M., Ferraris, D., Tsukamoto, T. and Hashimoto, K. (2009) Effects of D-amino acid oxidase inhibitor on the extracellular D-alanine levels and the efficacy of D-alanine on dizocilpine-induced prepulse inhibition deficits in mice. *Open Clin. Chem. J.* 2, 16-21. 査読有
- ⑪ Hashimoto, K., Fujita, Y., Horio, M., Kunitachi, S., Iyo, M., Ferraris, D. and Tsukamoto, T. (2009) Co-administration of D-amino acid oxidase inhibitor potentiates the efficacy of D-serine on prepulse inhibition deficits after administration of dizocilpine. *Biol. Psychiatry* 65, 1103-1106. 査読有
- ⑫ Kunitachi, S., Fujita, Y., Ishima, T., Kohno, M., Horio, M., Tanibuchi, Y., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K. (2009) Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of donepezil: role of sigma-1 receptors. *Brain Res.* 1279, 189-196. 査読有
- ⑬ Okamura, N., Reinscheid, R., Ohgake, S., Iyo, M. and Hashimoto, K. (2010) Neuropeptide S attenuates neuropathological, neurochemical and behavioral changes induced by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Neuropharmacology* 58, 166-172. 査読有
- [学会発表] (計 17 件)
- ① Hashimoto, K., Fujita, Y., Ishima, T., Chaki, S., and Iyo, M. (2006) Phencyclidine-induced cognitive deficits are ameliorated by subsequent subchronic administration of glycine transporter-1 inhibitor and D-serine. The 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Atlanta, GA, USA. October 14-18, 2006.
- ② Watanabe, A., Toyota, T., Owada, Y., Hashimoto, K., Ishitsuka, Y., Ohba, H., Iwayama, Y., Itokawa, M., Nakata, A., Hayashi, T., Maekawa, M., Ohnishi, T., Yamada, K., Kondo, H., Osumi, N., and Yoshikawa, T. (2006) Genetic architecture that defines prepulse inhibition in mice and relevance of candidate genes to schizophrenia. The 36th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Atlanta, GA, USA. October 14-18, 2006.

- ③ Duvall, B., Ferraris, D., Ko, Y.S., Thomas, A., Rojas, C., Tsukamoto, T. and Hashimoto, K. (2007) Synthesis of D-amino acid oxidase inhibitors and their effect on the plasma and brain levels of D-serine. 234th ACS National Meeting & Exposition, Boston, MA, USA. August 19-23, 2007.
- ④ 萩原裕子、藤田有子、石間環、伊豫雅臣、橋本謙二 (2007) フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼす非定型抗精神病薬ペロスピロンの効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会
- ⑤ 石間環、藤田有子、松尾昌昭、小橋達弘、高萩誠、塚田秀夫、伊豫雅臣、橋本謙二 (2007) フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼす $\alpha 7$ ニコチン受容体アゴニストSSR 180711の効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会
- ⑥ 藤田有子、石間環、茶木茂之、伊豫雅臣、橋本謙二 (2007) フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼすグリシントランスポーター1阻害薬NFPSの効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会
- ⑦ Kanahara, N., Shimizu, E., Ohgake, S., Hashimoto, K., Fujita, Y., Hashimoto, T., Shirayama, Y., Iyo, M. (2007) Glycine improves MK-801 induced prepulse inhibition deficits in a way similar to D-serine. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会
- ⑧ 趙英らん、高田義美、橋本謙二、崎村健司、森寿 (2007) セリンラセマーゼノックアウトを用いた脳内D-セリンの機能解析. 第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学大会・第17回日本神経回路学会大会 合同学会
- ⑨ 萩原裕子、藤田有子、石間環、伊豫雅臣、橋本謙二 (2007) フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼす非定型抗精神病薬ペロスピロンの効果. 第13回日本行動薬理研究会.2008年6月6日、千葉市.
- ⑩ 金原信久、清水栄司、大掛真太郎、藤田有子、橋本謙二、伊豫雅臣 (2008) MK-801によるプレパルス抑制障害に対するNMDA受容体グリシンサイトアゴニストの改善作用. 第13回日本行動薬理研究会. 2008年6月6日、千葉市.
- ⑪ 趙英らん、宮一志、橋本謙二、森 寿 (2008) 脳内D-セリンの機能解析. 第31回日本神経科学学会大会. 2008年7月10日、東京都.
- ⑫ Hashimoto, K., Ishima, T., Fujita, Y., Matsuo, M., Kobashi, T., Takahagi, M., Tsukada, H. and Iyo, M. (2007) Phencyclidine-induced cognitive deficits are ameliorated by subsequent subchronic administration of the selective $\alpha 7$ nicotinic receptor agonist SSR180711. The 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA. November 3-7, 2007.
- ⑬ Kunitachi, S., Fujita, Y., Ishima, T., Kohno, M., Hagiwara, H., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K. (2008) Phencyclidine-induced cognitive deficits are ameliorated by subsequent subchronic administration of donepezil: role of sigma-1 receptors. The 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 15-19, 2008.
- ⑭ Fujita, Y., Ishima, T., Horio, M., Matsuzawa, D., Iyo, M., Ferraris, D., Tsukamoto, T. and

Hashimoto, K. (2008) Co-administration of D-amino acid oxidase inhibitor potentiates the efficacy of D-serine on dizocilpine-induced cognitive deficits. The 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 15-19, 2008.

- ⑮ Hashimoto, K., Nishiyama, S., Ohba, H., Matsuo, M., Kobashi, T., Takahagi, M., Iyo, M., Kitashoji, T., Tsukada, H. (2008) [¹¹C]CHIBA-1001 as a novel PET ligand for $\alpha 7$ nicotinic receptors in the brain. The 38th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 15-19, 2008.
- ⑯ Watanabe, A., Toyota, T., Owada, Y., Hayashi, T., Iwayama, Y., Matsumata, M., Ishitsuka, Y., Maekawa, M., Ohnishi, T., Yamada, K., Hashimoto, K., Osumi, N., and Yoshikawa, T. (2008) プレパルスインヒビションのQTL解析による責任遺伝子の同定.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学会.平成20年10月2日.東京都.
- ⑰ Hagiwara, H., Iyo, M. and Hashimoto K. (2009) Reduction of D-serine in neonatal mouse brain caused schizophrenia-like behavioral abnormalities in adulthood; a novel animal model of schizophrenia. World Psychiatric Association – International Congress, Florence, Italy. April 1-4, 2009.

[図書] (計 3 件)

- ① Hashimoto, K. (2010) Chapter 1: D-Serine and Schizophrenia. In: Diamino Amino Acids, ed. Schafer HA, and Wohlbier LM, Nova Publishers, in press.
- ② Hashimoto, K. (2010) Glycine transporter

inhibitors as therapeutic agents for schizophrenia. In: Frontiers in CNS Drug Discovery (Volume 1), ed. Choudhary, M. I. and Rahman A., Bentham Science Publishers, in press.

- ③ Hashimoto, K. (2010) Food coloring, sodium benzoate preservative and D-serine: Implication for behavior. In: The Handbook of Behavior, Diet and Nutrition, ed. Preedy, V.R., Springer Publishers, in press.

[その他]

ホームページ等

<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/shakai/index2f.htm>

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO KENJI)
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授
研究者番号：10189483

(2)研究分担者

伊豫 雅臣 (IYO MASAOMI)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：50191913