

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07511

研究課題名(和文) 統合失調症治療薬としての抗酸化ストレス作用を有する新規化合物の有用性

研究課題名(英文) Utility of novel compounds with anti-oxidative stress properties as therapeutic agents for schizophrenia

研究代表者

上原 隆 (UEHARA, Takashi)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：70303229

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症の治療薬として、抗酸化ストレス作用を有する新規化合物を創製した。統合失調症の動物モデルに生後43-56日の2週間投与した。その後、新規物体探索課題(NORT)、プレパルス抑制(PPI)、メタンフェタミン(MAP)誘発移所運動量を測定した。その後内側前頭前野を取り出し、グルタチオン量(GSH)およびバルブアルブミン(PV)陽性GABA神経数を計測した。その結果、新規化合物投与により、NORTとPPIではモデル動物における障害を改善し、MAP誘発移所運動量の増加を抑制した。一方、GSHとPV陽性GABA神経数の減少を回復した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の結果から、統合失調症のモデル動物において、新規化合物が抗酸化ストレス作用をもち、形態学的変化(PV陽性GABA神経数の減少)を改善した。さらに認知機能改善効果や抗ドーパミン作用を有することが明らかとなった。このことは新規化合物が統合失調症に対する新たな治療薬となる可能性を示すと思われる。特に認知機能障害は統合失調症の予後を左右するが、従来の抗精神病薬では改善が乏しかったことを考慮すると、今回の結果は統合失調症治療薬開発において、抗酸化ストレス作用が新たなアプローチとなることを示せたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We synthesized new chemicals with antioxidant properties as therapeutic agents for schizophrenia. New chemicals were administered to rats transiently exposed to MK-801 (non-competitive NMDA receptor antagonist) in the neonatal period as an animal model of schizophrenia for 14 days around the period of puberty (postnatal days; PD49-56). On PD57-59, novel object recognition test (NORT), pre-pulse inhibition (PPI), and methamphetamine (MAP)-induced locomotor activity were assessed, followed by glutathione (GSH) levels and the number of parvalbumin (PV)-positive GABA neurons in the medial prefrontal cortex (mPFC). Administration of new chemicals improved NORT and PPI abnormalities in animal models and ameliorated MAP-induced hyperlocomotion. In addition, administration of the new chemicals for 14 days reversed the decrease in GSH levels and the reduction in PV-positive neurons in the mPFC in the model rats.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症 抗酸化ストレス 認知機能 新規治療薬

## 1. 研究開始当初の背景

この疾患は幻覚妄想といった陽性症状、意欲・自発性の低下、感情表出の減退といった陰性症状、および言語性記憶や遂行機能の障害などの認知機能障害をきたす。発症後は再発・再燃を繰り返し、社会的機能の低下を伴い、慢性に経過することから、患者や家族の人生に深刻な影響を及ぼす。特に陰性症状や認知機能障害は社会的機能の低下に関連し、疾患の転帰を左右するとされる。統合失調症のリカバリー率は13.5%とされ、社会経済学的にもその損失は大きい。実際日本では、統合失調症による経済損失は毎年2兆8千億円で、青年期に発症し慢性の経過をたどるがそのリカバリー率の低さから、修学・就労困難などの生活障害が長期に渡ることが影響すると考えられる。

統合失調症は、いまだその病態が解明されておらず、したがって根治的な治療法も開発されていない。薬物療法はドーパミン(DA)遮断作用を有する第一世代抗精神病薬(FGA)と、現在はクロザピン(CZP)を原型としたドーパミン遮断作用にセロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 受容体拮抗作用を有する第二世代抗精神病薬(SGA)が主流である。SGA は当初陽性症状に加え陰性症状や認知機能障害に対する効果が期待されたが、その効果は低いことが明らかにされた。FGAもSGAも基本的にはドーパミン仮説に基づいた薬物であり、現在までを省みるとドーパミン仮説に基づく創薬は限界と思われ、陰性症状や認知機能障害をターゲットとした新たな仮説に基づいた薬物開発が求められる。

近年統合失調症の病態に対する酸化ストレスの関与が注目され、統合失調症では glutathione antioxidant system の異常をきたす。すなわち抗酸化物質であるグルタチオン(glutathione, GSH)が脳脊髄液(CSF)で低下し、死後脳と magnetic resonance spectroscopy (MRS)研究では前頭皮質で低下することが報告されている。また内側前頭前皮質における GSH の低下と陰性症状の重症度が相関する。さらに発達期にレドックス非均衡が生じることで NMDA 受容体や PV 陽性 GABA ニューロンの機能が低下することで認知機能障害の原因となると考えられている。したがって、抗酸化作用を有する薬物は統合失調症の陰性症状と認知機能改善薬として極めて有望であり、その開発は精神医学領域における喫緊の課題である。

## 2. 研究の目的

今回われわれは、抗酸化ストレス作用を持つ新規化合物3種類 (A-2、A-3 および A-4)を独自に開発した。統合失調症のモデル動物(新生仔期に NMDA 受容体拮抗薬である MK-801 を投与したラット)に新規化合物と対象となる既存抗精神病薬(クロザピン; CLZ、オランザピン; OLA、リスペリドン; RPD、ハロペリドール; HPD など)を投与し、行動学的指標として新奇物体探索課題(NORT)、プレパルス抑制テスト(PPI)、メタンフェタミン(MAP)誘発移所運動量、生化学的・組織学的指標として前頭前皮質のモノアミン、グルタチオン(GSH)とその関連酵素、パルプアルブミン(PV)陽性 GABA 神経数を計測し、新規化合物の既存抗精神病薬に対する優位性を明らかにする。

具体的には、(1)新規化合物の DA 神経系に対する急性投与の効果を確認し、(2)慢性投与による、抗酸化ストレス作用(抗酸化物質であるグルタチオン抗酸化ストレスシステムへの効果)、脳組織(PV 陽性 GABA 神経数に対する効果)、ドーパミン神経伝達に対する効果(メタンフェタミン誘発移所運動量)、(3)A-3(3用量)慢性投与の認知機能に対する効果(新奇物体探索課題、プレパルス抑制テスト)、を確認する。

## 3. 研究の方法

### (1) 新規化合物の急性投与の効果

新規化合物の急性投与による①MAP 誘発移所運動量、②MAP 投与後 PPI を測定した。薬物は新規化合物3種類(A-2、A-3 および A-4)をそれぞれ 5.0mg/kg、既存の抗精神病薬として、RPD(1.0mg/kg)と OLA(2.5mg/kg)、対象として生理的食塩水(/日)を用いる。その後、A-3 について 2 用量(5.0 および 20.0mg/kg)について①MAP 誘発移所運動量、②MAP 投与後 PPI を測定した。ラットは生後 56 日~59 日(postnatal days; PD56-59)を用いた。これは人間においては、統合失調症の好発年齢である思春期後の青年期に相当する。

### ①MAP 誘発移所運動量

行動測定装置(黒色の塩化ビニール製、40cm×40cm×40cm)を用いた。行動測定装置は、床上 2.5cm、7cm 間隔に光電式光源が備わっており、それを横切った回数で運動量を評価した。ラットは、行動測定装置に置かれる前、30 分に新規化合物または抗精神病薬または saline を投与され、行動測定装置に移動し 30 分間自発運動量を測定したのち、MAP(1.0mg/kg, i.p)または saline を投与した。その後 120 分間、MAP 誘発移所運動量を測定した。

### ②PPI

①施行後1~2日後にPPIを測定した。薬物は①と同様にPPI測定30分前に新規化合物または抗精神病薬または saline を投与した。その後 MAP(1.0mg/kg, i.p)または saline 投与しただちに PPI を測定した(プレパルスは 66dB、70dB、74dB)。

③PPI 施行後直ちに、脳を取り出し慎重に内側前頭前野(mPFC)と側坐核(NAC)を切り分けた。DA 測定キットを用いて、各組織の DA 含有量を測定した。

(2) 統合失調症のモデル動物における新規化合物慢性投与の抗酸化ストレス作用、脳組織、ドーパミン神経伝達に対する効果

統合失調症のモデル動物として、新生仔期(PD7-10)に NMDA 受容体拮抗薬である MK-801(0.2mg/kg/日)を投与したラットを用いた。PD43-56 の 14 日間、新規化合物 3 種類(A-2、A-3 および A-4 をそれぞれ 2.5mg/kg/日)、既存の抗精神病薬として、CLZ(5.0mg/kg/日)と OLA(0.2mg/kg/日)、対照として saline を投与した。

#### ①MAP 誘発移所運動量

(1)の①と同様の装置、プロトコールにて測定した。

#### ②GSH と PV 陽性 GABA 神経数の測定

①の後、直ちに脳を取り出し慎重に mPFC を切り分けた。右脳を GSH 測定に、左脳を PV 陽性 GABA 神経数の測定に供した。GSH は測定キットを用いて測定した。PV 陽性 GABA 神経数は、組織を免疫染色し単位面積当たりの PV 陽性 GABA 神経数を計測した。

(3) 統合失調症のモデル動物における A-3(3 用量)慢性投与の認知機能に対する効果

統合失調症のモデル動物として、新生仔期(PD7-10)に NMDA 受容体拮抗薬である MK-801(0.2mg/kg/日)を投与したラットを用いた。PD43-56 の 14 日間、新規化合物のうち A-3 について、3 用量(1.0、2.5 および 5.0mg/kg/日)、既存の抗精神病薬として、HPD(1.0mg/kg/日)と OLA(0.2mg/kg/日)、対照として saline を投与した。最終投与の 24 時間後より以下の実験を行った。

#### ①自発運動量および PPI(自発運動量は PD57、PPI は PD58)

(1)の急性投与の実験と同様の装置を用いて、自発運動量(30 分間)と PPI を測定した。

#### ②NORT(PD57)

アリーナ(60cm×40cm)を用いた。PD55 と PD56 にそれぞれ 20 分間の馴化を行った。PD57 の NORT 施行時は、5 分間の馴化ののち、同一の物体(円錐、familiar object)を 5 分間暴露した(訓練試行)。その 120 分後に、訓練試行で用いた円錐の1つを新たな物体(雪だるま型、novel object)交換し、5 分間暴露した(保持試行)。保持施行時の familiar object と novel object それぞれの探索時間を測定した。識別比(discrimination ratio; DR=novel object の探索時間/novel と familiar object の総探索時間)を算出し、各群で比較した。

#### ③SRT

NORT と同一のアリーナを用いた。5 分間の馴化ののち、アリーナに PD35 のラット(familiar rat)を投入し、5 分間の接触時間を測定した。その 20 分後に新たに PD35 のラット(novel rat)を投入し、familiar rat と novel rat それぞれとの接触時間を測定した。新奇性識別指数(novelty discrimination index; NDI=novel rat との接触時間/familiar rat との接触時間)を算出し、各群で比較した。

④全ての行動学的実験後直ちに、脳を取り出し慎重に mPFC と海馬(Hipp)を注意深く切り分けた。測定キットを用いて、mPFC と Hipp の GSH およびグルタチオンペルオキシダーゼを測定した。

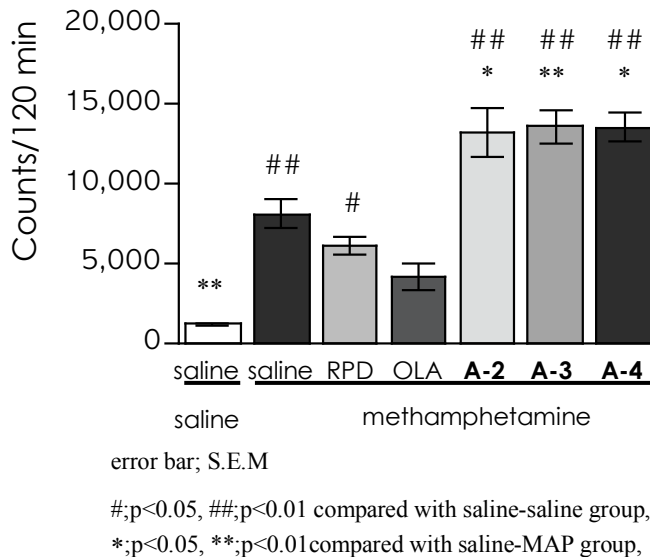
### 4. 研究成果

#### (1) 新規化合物の急性投与の効果

##### ①MAP 誘発移所運動量

新規化合物3種類(A-2、A-3 および A-4)はいずれも有意に、MAP によって増加した移所運動量をさらに増加させた(図 1)。A-3 については、5.0mg/kg では MAP による運動量増加をさらに増加させたが、20mg/kg ではその効果は認めなかった。

図1



②MAP 投与後 PPI

MAP の急性投与によって PPI は障害された。A-3 は 5.0mg/kg、20.0mg/kg とともに MAP による PPI の障害を改善した。

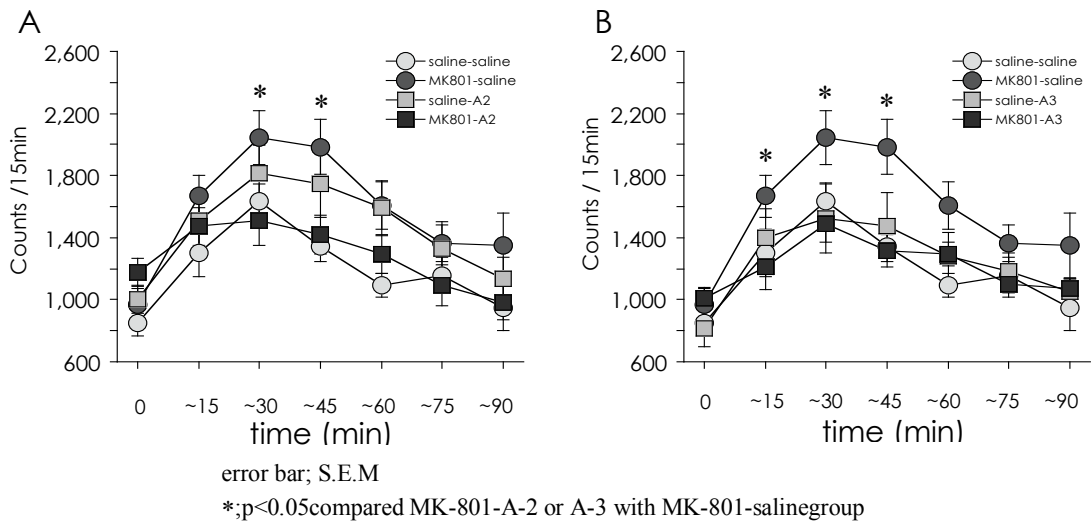
③mPFC において A-2、A-3(20.0mg/kg)と OLA が有意に DA 含有量を増加した。

(2) 統合失調症のモデル動物における新規化合物慢性投与の抗酸化ストレス作用、脳組織、ドーパミン神経伝達に対する効果

①MAP 誘発移所運動量

モデル動物は対照群に比べ、MAP 誘発移所運動量は増加した。モデル動物での MAP 誘発移所運動量増加は、A-2、A-3 の投与で抑制された(図 2A と B)。OLA 投与も有意に抑制したが、A-4 は抑制せず、CLZ はむしろ MAP 誘発移所運動量を増加した。

図2



②mPFC の GSH レベルと PV 陽性 GABA 神経数

モデル動物は対照群に比べ、mPFC の GSH レベルは減少した。A-2、A-3 および A-4 投与はその減少を改善した。OLA は GSH レベルに変化を与えなかったが CLZ は GSH レベルをむしろ減少させた。

PV 陽性 GABA 神経数は GSH と同様にモデル動物において、対照群に比べ減少した。A-2、A-3 および A-4 投与はその減少を改善した。OLA と CLZ は PV 陽性 GABA 神経数に影響を与えなかった。

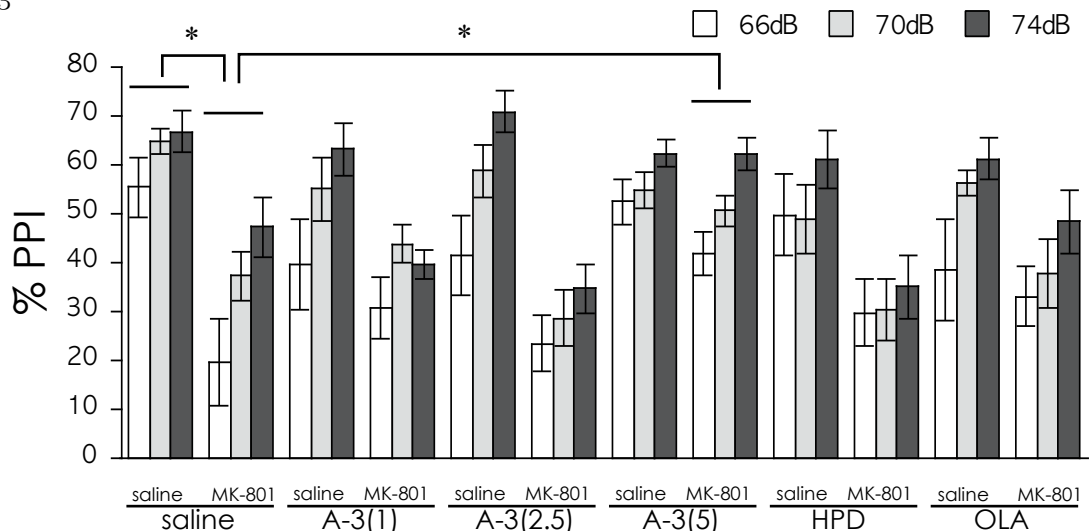
(3) 統合失調症のモデル動物における A-3(3 用量)慢性投与の認知機能に対する効果

①自発運動量と PPI

自発運動量はモデル動物では対照群と比べ、変化は認めなかった。A-3 の 3 用量、OLA も自発運動量に影響しなかったが、HPD はその投与が自発運動量を低下させた。

PPI ではモデル動物が対照群に比べ有意に障害された。A-3 投与では 1.0mg/kg と 2.5mg/kg は障害を改善しなかったが、5.0mg/kg で改善した(図 3)。HPD と OLA はともに効果は認めなかった。

図3

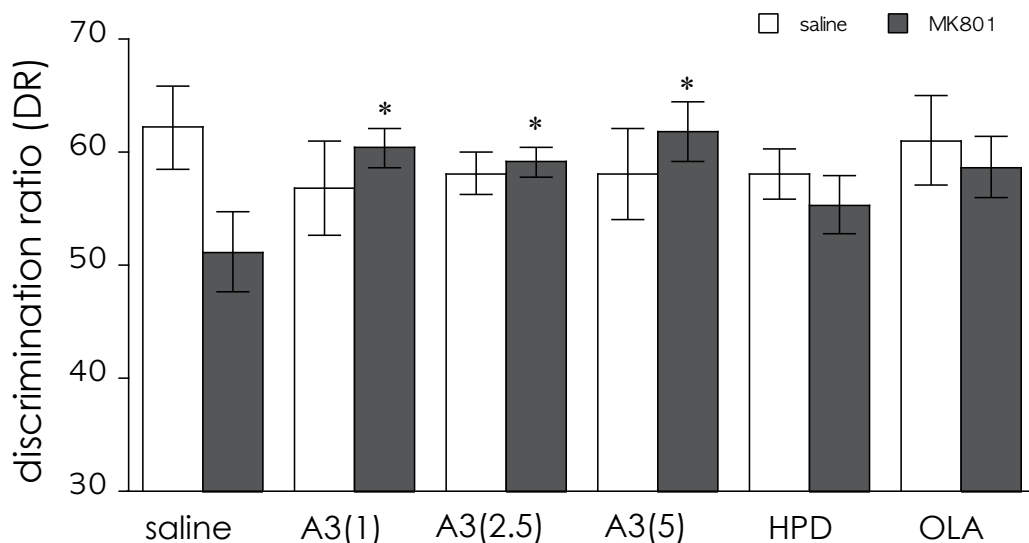


②NORT

error bar; S.E.M, \*,p<0.05

モデル動物は対照群に比べ、DR は障害された。A-3 は 3 用量とも DR の障害を改善した。HPD はそれ自体で DR を障害した。OLA は DR に影響を与えなかった(図 4)。

図4



error bar; S.E.M

\*,p<0.05compared with MK-801-saline group

③SRT

モデル動物と対照群との間に、有意さは認めなかった。A-3 の 3 用量とも効果を認めなかった

(4) 研究成果のまとめ

急性投与の結果から、新規化合物は脳内の DA 濃度を増加し、しかも MAP 誘発移所運動量でしめされる DA 過剰伝達をきたす可能性が示唆された。このことは、新規化合物は従来の抗精神病薬のような DA 遮断作用を持たないことを示唆している。

慢性投与の結果は、新規化合物はモデル動物において減少した mPFC における GSH 濃度と PV 陽性 GABA 神経数を増加し、認知機能障害も改善した。一方新規化合物は慢性投与した場合は、モデル動物における MAP 誘発移所運動量増加をむしろ抑制した。

これらのことから抗酸化ストレス作用を持つ新規化合物は、GSH システムを改善し脳の形態変化を改善することで DA 過剰伝達を抑えるだけでなく、従来の抗精神病薬では改善が難しかった認知機能障害にも有効である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Uehara Takashi, Kurachi Masayoshi, Kondo Takashi, Abe Hitoshi, Zhao Qing-Li, Itoh Hiroko, Sumiyoshi Tomiki, Suzuki Michio	4. 巻 3
2. 論文標題 Apocynin-tandospirone derivatives demonstrate antioxidant properties in the animal model of schizophrenia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advances in Redox Research	6. 最初と最後の頁 100013 ~ 100013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.arres.2021.100013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Uehara Takashi, Kurachi Masayoshi, Kondo Takashi, Abe Hitoshi, Itoh Hiroko, Sumiyoshi Tomiki, Suzuki Michio	4. 巻 12
2. 論文標題 Apocynin-Tandospirone Derivatives Suppress Methamphetamine-Induced Hyperlocomotion in Rats with Neonatal Exposure to Dizocilpine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Personalized Medicine	6. 最初と最後の頁 366 ~ 366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jpm12030366	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片岡 謙、上原 隆、伊藤博子、妹尾貴紀、阿部 仁、鈴木道雄
2. 発表標題 抗酸化ストレス作用を有するタンドスピロン誘導体の統合失調症治療薬としての可能性
3. 学会等名 第45回生物学的精神医学会年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	片岡 謙 (KATAOKA Yuzuru) (50896892)	金沢医科大学・医学部・助教  (33303)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 道雄  (SUZUKI Michio)  (40236013)	富山大学・学術研究部医学系・教授     (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関