

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 15日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791118

研究課題名（和文）統合失調症治療薬に発症予防効果はあるのか？—動物モデルを用いた基礎的研究—

研究課題名（英文）Does maternal administration of antipsychotics have a prophylactic effect on the development of psychotic features in offspring?: An animal study using the asphyxia model of schizophrenia.

研究代表者

高橋 太郎（TAKAHASHI TARO）

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任研究員

研究者番号：30402358

研究成果の概要（和文）：

本研究では、統合失調症の動物モデルである周産期仮死モデルを用い、同モデルに発現する行動薬理的異常が胎生期の母体を通じたクロザピン投与により予防されるか否かを検証した。同モデルは、出生直前に子宮内仮死状態を経験させると、生後6週齢に海馬歯状回における神経新生が低下し、生後12週齢にドパミン作動薬への反応性が増大するなどの統合失調症類似の行動異常が現れる。そこで、妊娠ラットにクロザピン、ハロペリドール、生理食塩水のいずれかを前投与しておき、その後に周産期仮死モデルを作成し、生後6週における神経新生を組織学的に調べるとともに、生後12週におけるメタンフェタミン投与後の行動異常を測定した。その結果、いずれの検討においても、クロザピンを投与された群は、生理食塩水あるいはハロペリドールを投与された群と有意な差を示さなかった。以上より、クロザピンが周産期仮死モデルに対し発症予防的効果があるとする仮説は支持されなかった。

研究成果の概要（英文）：

The asphyxia model of schizophrenia, in which rat pups were exposed to 15 min of intrauterine anoxia during Cesarean section birth, showed a reduction in hippocampal dentate granule cells at 6 weeks of age and dopaminergic dysregulation at 12 weeks after birth, both have been regarded as schizophrenia-like phenotypes. Using this model, we examined in this study whether administration of antipsychotics to mothers prevent the development of schizophrenia-like features in their offspring. Pregnant female rats were administered daily either with clozapine (0.5 or 5.0 mg/kg), haloperidol (0.1 or 1.0 mg/kg), or saline by intraperitoneal infusions. Their pups were delivered Cesarean section with or without asphyxia. Twelve weeks after birth, pups were challenged with methamphetamine (0.5 or 2.0 mg/kg) or saline, and their locomotor activity were measured. As a result, there were no significant effects of either dose of clozapine or haloperidol on methamphetamine-induced locomotor activity in those pups.

These results failed to support the hypothesis that maternal administrations of antipsychotic might have a prophylactic effect on the development of psychotic features in their offspring.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

分野：医歯薬学；

分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学；

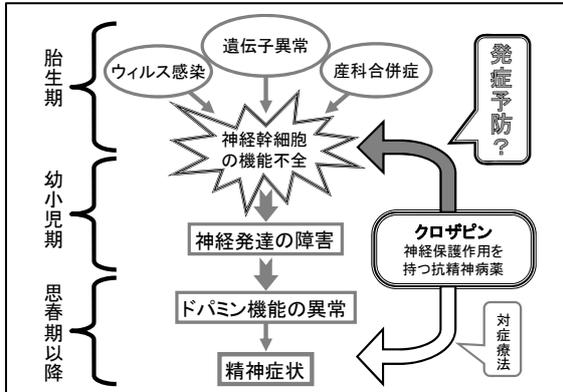
キーワード：精神薬理学，非定型抗精神病薬

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は、思春期以降に幻覚や妄想を主症状として発症し、注意、記憶、実行機能などの認知機能が著しく障害される精神疾患である。その病因は不明だが、出生前に端を発する神経発達の障害がその基盤にあると推測されている。遺伝学的研究からは DISC1, Dysbindin-1 などの神経可塑性に関与する分子や、BDNF, Neuregulin-1 などの神経栄養因子が統合失調症の感受性遺伝子として指摘されている。疫学研究からは中枢神経発達の最初期である胎生期におけるウイルス感染や、胎児に低酸素症をもたらす産科的合併症が、この疾患の発症危険因子となることが明らかにされている。すなわち、遺伝と環境の両者が統合失調症における神経発達障害をもたらす要因となりうる。

申請者が所属する研究室では、これら種々の要因の標的の一つが神経幹細胞であり、その機能不全の結果として成長後に統合失調症が発症するとの仮説（統合失調症の神経幹細胞機能不全仮説、図 1）を立て、動物モデルを作成し検討してきた。

図 1. 神経幹細胞機能不全仮説



まず、X線を照射して前脳の側脳室下帯と海馬歯状回顆粒細胞層下帯における神経細胞新生を障害させたラットが統合失調症モデルとなりうることを示した¹⁾。さらに、周産期に子宮内仮死を経験したラット（仮死モデル）が成熟後に統合失調症モデルとしての特徴を示し、その脳内では海馬歯状回における神経新生が低下していることを明らかにした²⁾。

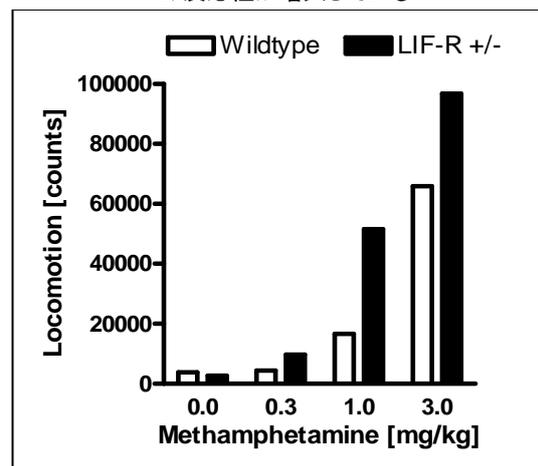
2. 研究の目的

統合失調症が出生前に始まる神経幹細胞の機能不全に起因するならば、胎生期に神経幹細胞に対して保護的介入を行うことにより、統合失調症の発症を予防できるかも知れな

い。そこで、本研究では、神経保護作用を有するとされる非定型抗精神病薬を母胎に投与することによって児の統合失調症発症を防ぐことができるかどうかを、統合失調症の神経幹細胞障害仮説に基づいた動物モデルを用いて検証する。具体的には、上述した仮死モデルを用い、妊娠ラットにクロザピンを投与することにより、その仔の成熟後に発現する統合失調症類似の障害を抑止しうるかを明らかにする。

クロザピンは、成体海馬の神経細胞新生に対し促進的に働く³⁾とともに、様々な細胞傷害性のストレスから神経細胞を保護する作用を持つこと⁴⁾が報告されている。さらに、クロザピンは神経幹細胞の分化に影響を及ぼす Leukemia inhibitory factor 受容体 (LIF-R) の発現を誘導する⁵⁾。興味深いことに、LIF-R 発現を遺伝的に半減されたヘテロ knock-out マウスでは、成熟後に神経幹細胞の機能不全が認められることが知られている⁶⁾。我々の検討では、この LIF-R ヘテロ knock-out マウスは覚醒剤により誘発される行動異常が野生型に比べ亢進しており、脳内ドパミン系の感受性増大が潜在していることが示唆された（図 2）。以上の知見を勘案し、統合失調症動物モデルにおけるクロザピンの発症予防効果を検討するという着想に至った。

図 2. LIF-R knock-out マウスではドパミン作動薬への反応性が増大している



3. 研究の方法

SD 系雌ラットを雄と交尾させ、膣プラグの確認日を妊娠 0 日目とした。妊娠ラットを 4 群に分け、妊娠 0 日目より 21 日目まで 1 日 1 回、①生理食塩水 10 ml/kg、②クロザピン 0.5 mg/kg、③クロザピン 5 mg/kg、④ハロペリドール 1 mg/kg のいずれかを経口投与した。

妊娠最終日（22 日目）に妊娠ラットを断頭

し子宮を取り出し、双角子宮の一侧を、胎仔を含んだまま 37°C に保った生理食塩水に 12~13 分間浸したのち帝王切開することにより、約 15 分間の仮死を経験させ、これを仮死群とした。他側の子宮は速やかに帝王切開し、生まれた仔を帝王切開群とした。生後、全ての仔ラットに代理母ラットをあてがい、離乳した後は群ごとに 3 匹/ケージに分けて飼育した。

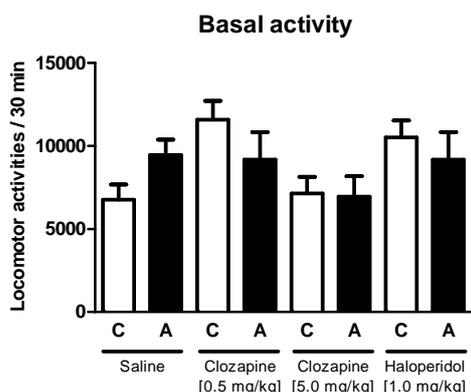
生後 12 週齢の時点で、動物に覚醒剤メタンフェタミン (2mg/kg) を腹腔内投与し、投与後 2 時間の移所行動量を測定した。結果に与える母親への投与薬物 (生理食塩水、クロザピン、ハロペリドール)、および、分娩方法 (仮死群、帝王切開群) の影響を統計学的に解析した。

4. 研究成果

妊娠ラットにクロザピンあるいはハロペリドールを投与したところ、いずれの薬物の投与に関わらず、受けた動物から生まれた仔には粗大奇形を認めなかった。この結果は、本研究で採用した用量では催奇形性はほとんどないとする先行研究と一致するものであった。

仮死、帝王切開の両群の動物の自由行動における行動量は、生理食塩水、クロザピン、ハロペリドールのいずれの前投与に関わらず、有意な差は認められなかった (図 3)。

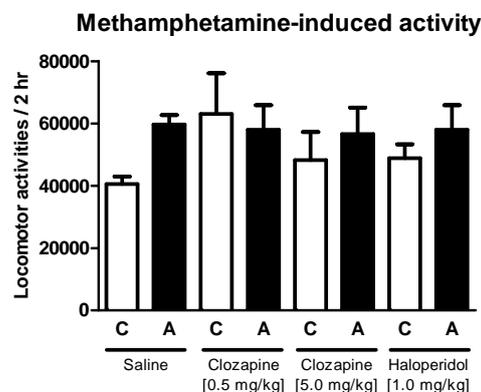
図 3. 仮死群(A)と帝王切開群(C)の自由行動における移所運動量



メタンフェタミン (2 mg/kg, IP) を投与し、その後 2 時間の移所行動量を計測したところ、全ての動物の移所行動量は、メタンフェタミン投与前に比べ有意に増加した (図 4)。仮死群の移所運動量増加は帝王切開群のそれに比べ有意に高く、この群におけるドパミン系の応答亢進が確認された。しかし、クロザピン、ハロペリドールの前投与については、い

ずれも、仮死群の応答亢進に有意な変化をもたらさなかった (図 4)。

図 4. 仮死群(A)と帝王切開群(C)におけるメタンフェタミン投与後の移所運動量



以上の結果から、クロザピンはハロペリドールと同様に、胎生期に母体を通じて投与しても、その後の周産期仮死モデルにおける行動異常に有意な効果を示さないことが示唆された。

本研究における行動薬理学実験の結果は、クロザピンに発症予防的効果があるとする仮説を支持するものではなかった。今後、本研究で用いた動物の脳組織における病理学的変化を神経幹細胞とミクログリアを標的に勧めていく方針である。

なお、本研究で用いたクロザピン、および、ハロペリドールはいずれも、妊娠ラットに投与しても明らかな催奇形性は認められなかった。この所見から、女性の統合失調症患者が妊娠した際の薬物療法について、すべからず中断する必要はなく、患者の病状に応じて漸減し得る可能性が示唆されるかもしれない。この点については、さらなる検討が必要であると考えられた。

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 4 件)

- (1) Suzuki K, Okada K, Wakuda T, Shinmura C, Kameno Y, Iwata K, Takahashi T, Suda S, Matsuzaki H, Iwata Y, Hashimoto K, Mori N. **Destruction of dopaminergic neurons in the midbrain by 6-hydroxydopamine decreases hippocampal cell proliferation in rats: reversal by fluoxetine.** *PLoS One*. 5: e9260, 2010.

- (2) Fujita-Shimizu A, Suzuki K, Nakamura K, Miyachi T, Matsuzaki H, Kajizuka M, Shinmura C, Iwata Y, Suda S, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Sugihara G, Iwata K, Yamamoto S, Tsujii M, Sugiyama T, Takei N, Mori N. **Decreased serum levels of adiponectin in subjects with autism.** *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 34: 455-8, 2010.
- (3) Iwata Y, Yamada K, Iwayama Y, Anitha A, Thanseem I, Toyota T, Hattori E, Ohnishi T, Maekawa M, Nakamura K, Suzuki K, Matsuzaki H, Tsuchiya KJ, Suda S, Sugihara G, Takebayashi K, Yamamoto S, Iwata K, Mori N, Yoshikawa T. **Failure to confirm genetic association of the FXD6 gene with schizophrenia: the Japanese population and meta-analysis.** *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 153B: 1221-7, 2010.
- (4) Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Kamenoy Y, Shimmura C, Kawai S, Yoshihara Y, Wakuda T, Takebayashi K, Takagai S, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. **Plasma cytokine profiles in subjects with high-functioning autism spectrum disorders.** *PLoS One*. 6: e20470, 2011.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 太郎 (TAKAHASHI TARO)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任研究員

研究者番号：30402358

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

鈴木 勝昭 (SUZUKI KATSUAKI)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任准教授

研究者番号：00285040

松崎 秀夫 (MATSUZAKI HIDEO)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任准教授

研究者番号：00334970