

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25年04月05日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390220

研究課題名（和文） 統合失調症の病態におけるD型セリンの分子機構解明

研究課題名（英文） Molecular mechanism of D-serine for 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）：脳内のD型セリンは、セリンラセマーゼ（SRR）によって合成されることが知られている。統合失調症の覚せい剤投与モデルを用いて、覚せい剤の繰り返し投与により形成される逆耐性が、SRR 遺伝子欠損マウスでは起きないことを見出した。以上の結果より、SRR が覚せい剤投与による逆耐性の形成に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：D-serine in the brain is known to be synthesized from serine racemase (SRR). In the methamphetamine model of schizophrenia, we found that methamphetamine-induced behavioral sensitization was not detected in the SRR knock-out mice. This study suggests that SRR plays a role in the development of behavioral sensitization by methamphetamine treatment.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2012年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	13,600,000	4,080,000	17,680,000

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：統合失調症、D型セリン、NMDA受容体、D型サイクロセリン、セリンラセマーゼ

1. 研究開始当初の背景

グルタミン酸受容体のサブタイプであるN-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体が、メタンフェタミン(METH)などの覚せい剤の投与によって誘発される行動異常に関与していることが知られている。一方、NMDA受容体の内在性調節因子D型セリンは、脳に高濃度に存在し、NMDA受容体を介した興奮性神経伝

達に重要な役割を担っている。Dセリンはセリンラセマーゼ(SRR)によってLセリンから合成されることが知られており、著者らはSRR 遺伝子欠損マウスを用いた研究により、前脳部位ではSRRがDセリン合成の主要な酵素であることを報告した。

一方、D型サイクロセリンは、抗結核薬として臨床で使用されている薬剤であり、NMDA

受容体のグリシン調節部位の部分作動薬である。メタ解析結果より、D型サイクロセリンの部分作動薬という性質上、内在性のNMDA受容体作動薬であるグリシンやD型セリン、内在性のグリシントランスポーター (GlyT-1) 阻害薬サルコシンよりも統合失調症患者への治療効果が低いとされている。近年、D型サイクロセリンは不安障害の行動(暴露)療法に併用すると治療効果が高まることから、注目を浴びている。

2. 研究の目的

今回我々は SRR 遺伝子欠損マウスを用い、METH 投与後の行動異常(急性の運動量変化、行動感作と薬物依存の形成)における SRR の役割を検討した。

次に、D型サイクロセリン投与後の脳内 D型セリン濃度の測定を SRR 遺伝子欠損マウスと野生型マウスで調べた。

3. 研究の方法

8~12 週齢の雄性マウス (SRR 遺伝子欠損マウスおよび野生型) を用い、METH (3 mg/kg) の単回投与後の急性の運動量の変化を調べた。次に、METH (3 mg/kg) を 1 日 1 回、5 日間連続投与後、1 週間断薬させ、METH (1 mg/kg) を再投与し、行動感作の形成の有無を調べた。また、Dセリン (900 mg/kg) を METH 投与 30 分前に投与し、急性の運動量の変化と行動感作の形成の有無についても検討した。さらに場所嗜好性試験法 (CPP) を用いて、METH 誘発の薬物依存の形成について調べた。METH (3 mg/kg) 単回投与後の、線条体における ERK1/2 のリン酸化について、ウエスタンブロット法を用いて調べた。

8~12 週齢の雄性マウス (SRR 遺伝子欠損マウスおよび野生型) において、インビボ脳内透析法を用い、D型サイクロセリン (100

mg/kg) の経口投与後の海馬における細胞外の D型セリン量の変化、また D型サイクロセリン (10 mM, 1 μL/min for 30 min) の脳室内投与後の海馬における細胞外の D型セリン含量をカラムスイッチング法を用いた蛍光検出器付の高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。併せて、NMDA 受容体の神経伝達に関連する各種アミノ酸: グリシン、グルタミン酸、グルタミン、Lセリンの測定も行った。

4. 研究成果

METH (3 mg/kg) の単回投与後の急性の運動

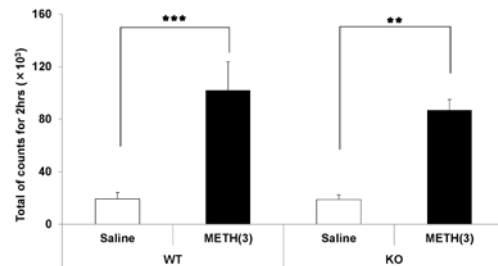


図1. SRR 遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスにおける覚せい剤投与後の急性の運動量

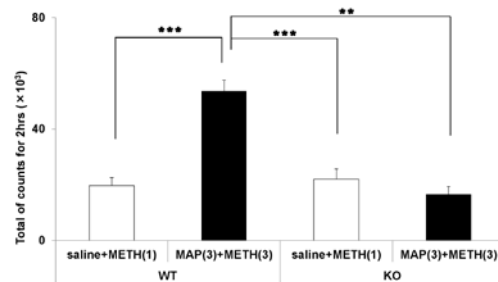


図2. 野生型および SRR 遺伝子欠損マウスにおける覚せい剤繰り返し投与後の逆断性の形成

量は、野生型、SRR 遺伝子欠損マウスの両群に有意な差はみられなかった (図 1)。METH の繰り返し投与によって、野生型では行動感作の形成が確認できたが、SRR 遺伝子欠損マウスでは行動感作の形成は確認できなかった (図 2)。また、行動感作の形成は、Dセリンを投与でも影響を与えなかった。

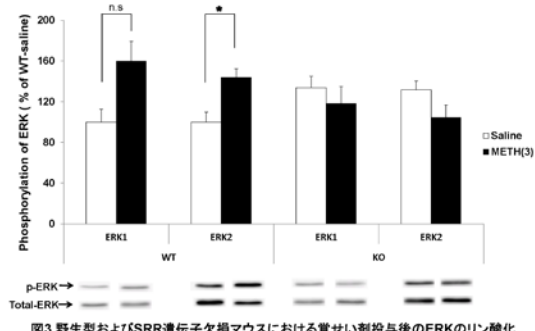


図3.野生型およびSRR遺伝子欠損マウスにおける覚せい剤投与後のERKのリン酸化

さらに、線条体における METH (3 mg/kg) の単回投与後の ERK1/2 のリン酸化について、SRR 遺伝子欠損マウスでは、野生型と比較すると、ERK1/2 のリン酸化が有意に減少する事が判った (図 3)。CPP 試験結果から、野生型、SRR 遺伝子欠損マウスとも METH 誘発の薬物依存の形成が確認され、両群では差は無かった

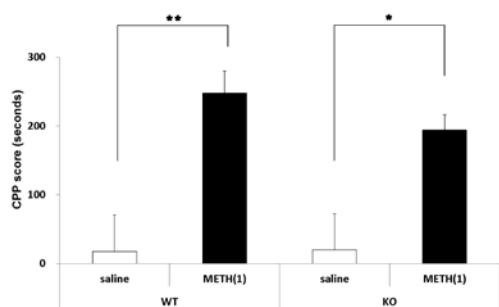


図4.野生型およびSRR遺伝子欠損マウスにおける覚せい剤繰り返し投与後の依存形成

(図 4)。

本研究結果により、SRR は METH 投与による急性の行動異常や依存の形成には影響を与えなかったが、METH の繰り返し投与による行動感作の形成には、SRR が関与している事が示唆された。SRR 遺伝子欠損マウスでの METH 誘発の行動感作の欠如には、METH 投与後の ERK1/2 のリン酸化の減少が関与している可能性が示唆された。

マウス海馬における細胞外の D セリン量は、DCS (100 mg/kg) の経口投与後、また DCS (10 mM, 1 μL/min for 30 min) の脳室内投与後に、野生型・SRR 遺伝子欠損マウスの両群で、投与前と比較すると有意に増加していた (図

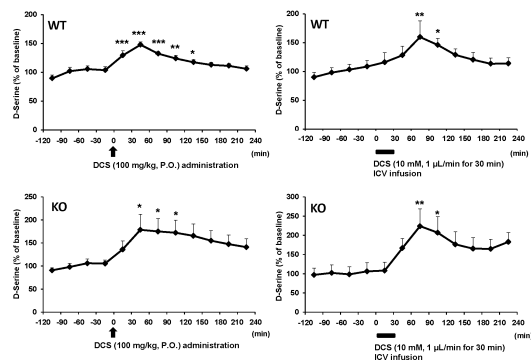


図5.D型サイロセリン投与後の脳内D型セリンの増加

5)。また両群ともに、DCS 投与前後において、他のアミノ酸の変化は見られなかった。更に、SRR 遺伝子欠損マウスでは、DCS 投与後の細胞外の D セリン量の増加が、より顕著である事が確認された (図 5)。

本研究結果により、SRR 遺伝子欠損マウスにおいても、DCS 投与後に細胞外 D セリン含量が増加したことから、DCS 処置による D セリン含量の増加機構には、SRR 以外の機構が関与している事が示唆された。DCS は D セリンを前駆物質として合成される事や、DCS が水溶液中において、生物学的に不活性な二量体へと転換する事など、水溶液中では不安定である事が知られている。また DCS は D セリンと比較し、脳内への透過性が高いことから、脳内に移行した DCS が一部、D セリンに分解する事で、DCS 投与後の細胞外の D セリン産出の増加の要因となっていると推測される。

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 6 件)

1. Hashimoto, K., Malchow, B., Falkai, P., and Schmitt, A. (2013) Glutamate modulators as potential therapeutic drugs in schizophrenia and affective disorders. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. In press.
DOI: 10.1007/s00406-013-0399-y. 査読

- 有
2. Horio, M., Mori, H., and Hashimoto, K. (2013) Is D-cycloserine a prodrug for D-serine in the brain? *Biol. Psychiatry* in press.
DOI: 10.1016/j.biopsych.2012.07.013 査読有
 3. Hagiwara, H., Iyo, M., and Hashimoto, K. (2013) Neonatal disruption of serine racemase causes schizophrenia-like behavioral abnormalities in adulthood: Clinical rescue by D-serine. *PLoS One* 8: e62438. 査読有
 4. Horio, M., Ishima, T., Fujita, Y., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2013) Decreased levels of D-aspartic acid in the forebrain of serine racemase (*Srr*) knock-out mice. *Neurochem. Int.* 62, 843-847.
DOI: 10.1016/j.neuint.2013.02.015. 査読有
 5. Horio, M., Kohno, M., Fujita, Y., Ishima, T., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2012) Role of serine racemase in behavioral sensitization in mice after repeated administration of methamphetamine. *PLoS One* 7, e35494. 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0035494.
 6. Horio, M., Kohno, M., Fujita, Y., Ishima, T., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2011) Levels of D-serine in the brain and peripheral organs of serine racemase (*Srr*) knock-out mice. *Neurochem. Int.* 59, 853-859. 査読有
DOI: 10.1016/j.neuint.2011.08.017.
- [学会発表] (計 4 件)
1. Hashimoto, K., Horio, M., and Fujita, Y. (2012) Therapeutic effects of metabotropic glutamate receptor 5

- positive allosteric modulator CDPBB on phencyclidine-induced cognitive deficits in mice. 22nd Neuropharmacology Conference “Cognitive Enhancers”, New Orleans, USA. October 11-12, 2012.
2. 堀尾菜央、森 寿、橋本謙二 (2012) D-サイクロセリンは、脳においてD-セリンのプロドラッグか？第8回D-アミノ酸研究会学術講演会。平成24年9月7-8日。滋賀県大津市。
 3. Horio, M., Fujita, Y., Kohno, M., Inoue, R., Mori, H., and Hashimoto, K. (2011) Lack of behavioral sensitization in serine racemase knock-out mice after administration of methamphetamine. The 41th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA. November 12-16, 2011.
 4. 堀尾菜央、河野眞美、藤田有子、井上 蘭、森 寿、橋本謙二 (2011) セリンラセマーゼ遺伝子欠損マウスでの覚せい剤投与による行動感作の欠如。第7回D-アミノ酸研究会学術講演会。平成23年9月9-10日。東京都。

[その他]
ホームページ等
<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/shakai/jp/index.html>

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
 - (3) 連携研究者
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：50191903
- 森 寿 (MORI HISASHI)
富山大学・大学院・医学薬学研究部 (医

学)・教授

研究者番号：00239617