

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860989

研究課題名(和文) ドパミン過感受性精神病とGRK/ARRBシステム

研究課題名(英文) Dopamine supersensitivity psychosis and GRK/ARRB system

研究代表者

金原 信久 (Kanahara, Nobuhisa)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・講師

研究者番号：70507350

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)：統合失調症患者の経過中にしばしば観察されるドパミン過感受性精神病は治療抵抗性患者に取り分け高頻度に出現し得るエピソードであることを疫学調査にて明らかとした。この現象はドパミンD2受容体の増加との関係が推察されるが、それに関与するGRK6とARRB2の分子に関し、一塩基多型の相関解析を実施した。ドパミン過感受性精神病を有する患者と無い患者で検討したが、両分子の一塩基多型共に有意差を認めるものは無かった。さらに動物モデルを作成し、抗精神病薬投与の両分子に対する影響を検証したところ、ラット脳内でARRB2が減少が確認された。

研究成果の概要(英文)：1) In our epidemiological survey, dopamine supersensitivity psychosis is observed with higher incident ratio in treatment-resistant patients than in general patients. 2) Genetic association study to examine the possible effects of GRK6 and ARRB2 which are involved in dopamine D2 receptor metabolism, revealed no significant distribution in a total of 8 single nucleotide polymorphism of both molecules between patients with and without dopamine supersensitivity psychosis. 3) In the animal model of dopamine supersensitivity psychosis, the rat group with haloperidol administration showed lower ARRB2 in the striatum compared to the control group (saline administration). These results suggested that dopamine supersensitivity state is possibly involved in refractoriness in schizophrenia, regardless of continuous pharmacotherapy.

研究分野：統合失調症

キーワード：治療抵抗性統合失調症 ドパミン過感受性精神病 遅発性ジスキネジア 抗精神病薬 GRK6 アレスチン2

## 1. 研究開始当初の背景

中枢ドパミン (DA) 神経系の異常は統合失調症の病態に関与している。抗精神病薬の治療によりドパミン D2 受容体 (DRD2) の密度上昇や過感受性状態が惹起される事が知られ、臨床的には再発・再燃や遅発性ジスキネジア (TD) に関与している。一方分子生物学では G タンパク共役型受容体の制御機構の解明により、細胞膜からの受容体回収に G タンパク受容体キナーゼ (GRK) / -アレスチン (ARRB) システムが中心的な役割を担っている。本課題では 1) 治療抵抗性統合失調症患者の中にドパミン過感受性精神病 (Dopamine supersensitivity psychosis : DSP) の存在を疫学的に検証し、2) 血液サンプルを用い GRK/ARRB システムの遺伝子の SNP 相関研究、また DSP の動物モデルを作成し、ラット脳内の両分子の定量を行い、同システムの病態への関与、さらには同状態の臨床応用可能な生物学的マーカーの探索を行う。

## 2. 研究の目的

実臨床の統合失調症患者において DSP の出現率を評価し、この概念が統合失調症患者の病状や経過に重要な位置を占めるかどうかを検証する。

次に DSP の生物学的な背景を探るために DRD2 の代謝 (内在化) に関わる分子 (GRK6 と ARRB2) に着目し、患者と健常者の一塩基多型 (SNP) の相関研究と、動物 (ラット) モデルを用いて抗精神病薬投与による両分子への影響を検証した。

## 3. 研究の方法

### (1) 疫学調査研究

本調査は多施設共同 (3 施設 ; 千葉大学医学部附属病院、千葉県精神科医療センター、公徳会佐藤病院) で行われた疫学研究である。

TRS 患者については、2012 年 4 月から 2014 年 9 月の期間内に当該施設にて治療を受けた統合失調症あるいは統合失調感情障害患者

全員 (611 名) が調査対象となった。まずこれらの患者の診療録レビューから、202 名を TRS 候補患者とし、被験者に直接の面接を実施し、実際に TRS の診断、またその他臨床症状評価を実施した。そのうち、全ての診療録が追跡可能な 80 例が最終解析対象となった。

Non-TRS 患者に関しては、主に千葉県精神科医療センターにて治療を受けた患者であり、同様に、診療録レビューから 248 名が候補患者となった。そのうち、全ての診療録が追跡可能な 185 例が最終解析対象となった。

尚、本試験は 3 研究施設の倫理審査部会にて承認を得、被験者あるいは代諾者に十分な説明の上、口頭及び文書で同意を得て、面接が実施された。その面接で症状評価を行い、また過去の診療記録から必要情報を抽出する流れである。

評価には次のような診断基準・尺度を用いた。TRS の基準として次の the Broad Eligibility Criteria (Juarez-Reyes ら、1996) あるいは Clozaril Patients Monitoring Service (CPMS) を用いた。DSP は Chouinard により提唱された診断基準 (1991) を若干修正し用いた。具体的には面接と診療録から以下 a) b) c) の項目に関し評価を行い、いずれかでも 1 項目該当するエピソードが同定された場合に「DSP 有る」と判定することとした。

a) 過去のいずれかの治療期間に、精神病症状の再燃、増悪を経口抗精神病薬の減薬、中止、怠薬から 6 週間以内に、持続性注射剤では 3 か月以内に認めたことがある。

b) 過去にいずれかの治療期間に、抗精神病薬の減薬、中止、怠薬とは関係なく、安定期から精神病症状が再燃、増悪した際に、抗精神病薬を 20%以上増加しても病状を全くコントロール出来なかったことがある、あるいはその際に新たな症状が出現したことがある。

c) TD の存在。

その他に一般的な症状評価として簡易精

神病評価尺度 (BPRS: Overall と Gorham, 1962)、全般的機能評価 (GAF)、臨床全般印象評価尺度-疾患重症度 (CGI-S) を用いた。

## (2) GRK6・ARRB2 の SNP 相関研究

対象者は統合失調症 333 名 (SZ 群: 男 164 名 / 女 169 名、平均年齢 46.0、範囲 20-81 歳) と健常対照群 330 名 (NC 群: 男 193 名 / 女 137 名、平均年齢 37.3 歳、範囲 20-85 歳) である。

SZ 群においては診療録に基づいて、上記の基準でそれぞれの患者の治療歴において過去に何れかの DSP エピソードの有無を判定した。その結果十分な診療記録の無いものを除いて、DSP エピソードが有る DSP(+) 群 108 名 (男 50 名 / 女 58 名、平均年齢 45.3 歳) とそれが無い DSP(-) 群 171 名 (男 88 名 / 女 83 名、平均年齢 44.8 歳) に分けられた。

解析対象とした SNP は JSNP のデータベースと先行研究 (Ikeda ら, 2007; Liou ら, 2008; Tang ら, 2014) で解析対象の SNP をもとに選択した。GRK6 は 5 種類 (rs883576, rs867755, rs2287694, rs1130857, rs335435)、ARRB2 は 3 種類 (rs2271167, rs1045280, rs3786047) 実施した。TaqMan 法によって ABI PRISM7000 にて解析をした。

## (3) DSP モデル動物での検討

DSP モデルラットを作製し、モデルラット線条体中の GRK6 および ARRB2 を測定する。

### 動物

12 週齢雄、体重 250g 前後の Wistar ラット (Japan SLC) を用いた。

### 薬物

ハロペリドール (HAL; 0.75mg/kg/day; Toronto Research Chemicals Inc.) を Alzet osmotic mini-pump を用いて持続投与した。メタンフェタミン (MAP; 1.0mg/kg) は 0.85% の食塩水に溶解し、腹腔内投与した。放射線リガンドは [<sup>3</sup>H]Raclopride (76.0 Ci/mmol)

を用いた。

### Mini-pump 移植術

vehicle (VEH; 2%酢酸液; pH3.8) または HAL を封入した Alzet osmotic mini-pump を、麻酔下で移植した。

### プロトコール

全てのラットを VEH 群と HAL 群に振り分け (各群 28 匹)、2 週間薬物を持続投与した。各群では 12 匹をメタンフェタミン誘発自発運動亢進試験、6 匹をドパミン D2 受容体結合試験、10 匹を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) に用いた。

Mini-pump 移植 14 日で pump 除去手術を行い、7 日間の断薬期間を設けた後、上記の各種実験を行った。

### メタンフェタミン誘発自発運動亢進試験

MAP 投与の 1 時間前にラットをケージ (30 × 48 × 60 cm) に配置した。配置後 1 時間の時点で MAP を投与し、120 分間の自発運動量を測定した。

### ドパミン D2 受容体結合試験

ラット線条体 (40-60mg) をホモジェナイズと遠心分離の作業を 3 回繰り返した。沈殿物をバッファーで調整し、ラクロプライドを 6 段階の濃度 (0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8) で作製し、D2 受容体密度を測定した。非特異的結合試験には 300 μM のスルピリドを用いた。

### ELISA

ラット線条体中の GRK6 および ARRB2 濃度測定には、それぞれ rat GRK6 ELISA kit 及び rat ARRB2 ELISA kit を用いた。

## 4. 研究の成果

### (1) 疫学調査研究

DSP に関連する因子について、TRS 群において 60 人 (75%)、Non-TRS 群において、40 人 (21.6%) が経験しており、サブエピソード (リバウンド精神病、抗精神病薬への耐性、遅発性ジスキネジア) の内訳は、両群ともほ

ば均等でそれぞれ同程度であった。

その他の評価項目に関しては、簡易精神病評価尺度 (BPRS: Overall と Gorham, 1962)、全般的機能評価 (GAF)、臨床全般印象評価尺度-疾患重症度 (CGI-S) はすべて、TRS 群が Non-TRS 群よりも高値であった。

TRS の予測因子を決定するため、ロジスティック回帰分析を行った結果、発病年齢、初回エピソード精神病における、抗精神病薬量、DSP エピソード、Deficit 症候群の 4 つの因子が説明因子として残り、その中でも DSP エピソードと Deficit 症候群が非常に強い関連因子として、TRS 診断に対して大きな影響力を持っていることが示された。

## (2) GRK6・ARRB2 の SNP 相関研究

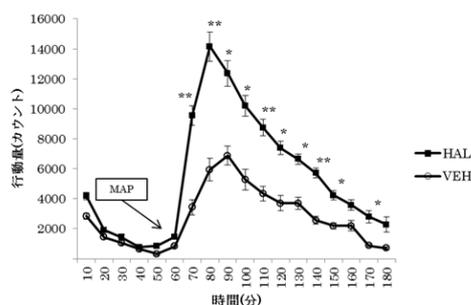
全ての SNP において、1) SZ 群対 NC 群、また 2) DSP(+ )群対 DSP(- )群の比較において、遺伝子型・アレル共にその分布頻度に有意な差を認めなかった。

## (3) DSP モデル動物での検討

メタンフェタミン誘発自発運動亢進試験 (図 1)

両群ともに MAP 投与により運動量が亢進し、投与後 20 から 30 分に行動量増加のピークが認められた。HAL 群では MAP 投与前後共に VEH 群よりも行動量が増加しており、MAP 投与後の運動量は VEH 群の 2 倍にまで亢進していた。

図 1 :

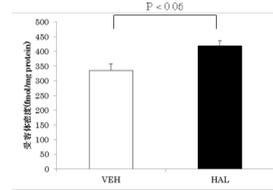


## ドパミン D2 受容体結合試験 (図 2)

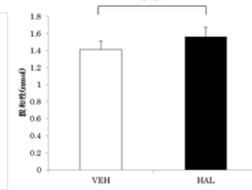
HAL 群ではドパミン D2 受容体密度が、VEH 群の約 1.3 倍に増加していた。一方で、結合能

には両群で統計的に優位な差は認めなかった。

図 2 : A.



B.

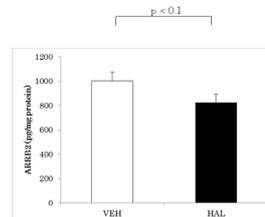


## ELISA (図 3)

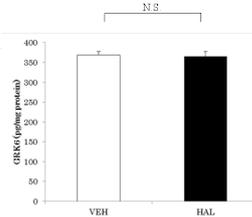
HAL 群では線条体中の ARRB2 が減少傾向にあり、GRK6/ARRB2 値は有意に増加していた。

図 3 :

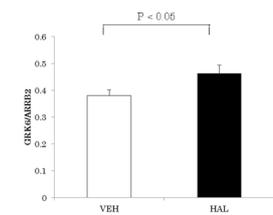
A.



B.



C.



本課題では DSP モデルラット線条体中の GRK6 および ARRB2 を測定した。GRK6 に変化は認められなかったが、DSP モデルラット線条体中の ARRB2 は減少傾向にあった。更に、GRK6/ARRB2 値を比較したところ、DSP モデルラット群では有意に上昇していることから、GRK6 と ARRB2 のシステムに変調を来している可能性が示唆された。今回我々が DSP モデルとして作成したラットは、メタンフェタミン誘発自発運動亢進試験では対照群と比較して行動量が 2 倍に上昇し、ドパミン D2 受容体密度は約 1.3 倍に増加しており、モデルとして適正であると言える。

GRK6 ノックアウトマウスはドパミン過感

受性状態となり、一方で ARRB2 シグナルが抗精神病薬の効果発現に主要な役割を担っている事が既に報告されている。これらのことから、システムが変容した患者が断薬すると、ドパミン D2 受容体増加に伴うドパミンシグナル過剰状態に加えて、更には抗精神病薬の治療効果も減弱することから、症状が動揺性で重篤な精神病状態、つまりは DSP に至ると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

Suzuki T, Kanahara N, Yamanaka H, et al. Dopamine supersensitivity psychosis as a pivotal factor in treatment-resistant schizophrenia. Psychiatr. Res. 査読有, 227 (2-3), 278-282

DOI: 10.1016/j.psychres.2015.02.021

Takase M, Kanahara N, Oda Y, et al. Dopamine supersensitivity psychosis and dopamine partial agonist: A retrospective survey of failure of switching to aripiprazole in schizophrenia. J. Psychopharmacol. 査読有, 29 (4), 2015, 383-38

DOI: 10.1177/0269881115570083

金原信久, 木村大, 渡邊博幸ら. 治療抵抗性統合失調症に対する非定型抗精神病薬持効性注射剤の有用性. 臨床精神薬理, 査読無, 18(6), 2015, 747-755

Kimura H, Kanahara N, Komatsu N, et al. A prospective comparative study of risperidone long-acting injectable for treatment-resistant schizophrenia with dopamine supersensitivity psychosis. Schizophr. Research 査読有, 155 (1-3), 2014, 52-58

DOI: 10.1016/j.schires.2014.02.022

金原信久, 木村大, 山中浩嗣ら. ドパ

ミン D2 受容体過感受性からみた治療抵抗性統合失調症の理解と治療戦略. 臨床精神薬理, 査読無, 17 (12), 2014, 1617-1623

高瀬正幸, 金原信久, 伊豫雅臣. 非定型抗精神病薬持効性注射剤の可能性: アドヒアランス維持とドパミン過感受性精神病の予防・改善. 臨床精神薬理, 査読無, 17 (1), 2014, 635-641

金原信久, 鈴木智崇, 伊豫雅臣. Clozapine のより具体的な適応症例: 治療抵抗性統合失調症の評価に際して. 臨床精神薬理, 査読無, 17(2), 2014, 261-275

金原信久, 宗岡克政, 木村大ら. 非定型持効性注射剤による統合失調症難治例への取り組み. 精神科治療学, 査読無, 29(1), 2014, 37-44

Kimura H, Kanahara N, Watanabe H, et al. Potential treatment strategy of risperidone in long-acting injectable form for schizophrenia with dopamine supersensitivity psychosis. Schizophrenia Research 査読有, 145(1-3), 2013, 130-131

DOI: 10.1016/j.schres.2013.01.008

〔学会発表〕(計7件)

小田靖典、金原信久、橋本謙二ら. DSP モデルラットにおける GRK6/ARRB2 システム. 第 24 回日本臨床精神神経薬理学会. 2014 年 11 月 20 日~22 日. 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

高瀬正幸、金原信久、小田靖典ら. ドパミン D2 受容体遺伝子多型とドパミン過感受性精神病の形成. 第 24 回日本臨床精神神経薬理学会. 2014 年 11 月 20 日~22 日. 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

木村大、金原信久、小松尚也ら. ドパミン過感受性精神病を有する治療抵抗性統

合失調症患者に対するリスペリドン持効性注射剤を用いた前向き研究. 第 24 回日本臨床精神神経薬理学会. 2014 年 11 月 20 日～22 日. 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市)

Yamanaka H, Kanahara N, Suzuki T, et al. Dopamine supersensitivity psychosis and deficit syndrome as putative subtype in patients with treatment-resistant schizophrenia. 166<sup>th</sup> Annual meeting of American Psychiatric Association. May 18-22, 2013. San Francisco (US)

山中浩嗣, 金原信久, 鈴木智崇ら. 治療抵抗性統合失調症患者におけるドパミン D2 受容体過感受性精神病と deficit 症候群の疫学調査. 2013 年 10 月 24 日～26 日. 第 23 回日本臨床精神薬理学会. 沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市)

小田靖典, 木村大, 金原信久ら. 統合失調症ドパミン過感受性精神病における GRK6/ARRB システム. 2013 年 10 月 24 日～26 日. 第 23 回日本臨床精神薬理学会. 沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市)

高瀬正幸, 金原信久, 小田靖典ら. 統合失調症患者のドパミン過感受性状態とドパミン部分アゴニスト: アリピプラゾールの新たな切り替え法を探る後方視調査. 2013 年 10 月 24 日～26 日. 第 23 回日本臨床精神薬理学会. 沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

金原 信久 (KANAHARA, Nobuhisa)  
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・講師  
研究者番号: 70507350

### (2) 研究協力者

小田 靖典 (ODA, Yasunori)