

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24116006

研究課題名(和文) グルタミン酸シグナルを介した精神疾患病態に関するマイクロエンドフェノタイプの解明

研究課題名(英文) Microendophenotype of psychiatric disorders by glutamatergic signal

研究代表者

橋本 謙二 (Kenji, Hashimoto)

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 56,100,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病の治療薬としてケタミンの異性体が注目されている。マウスにS-ケタミンを週に1回8週間投与すると、前頭皮質におけるパルプアルブミン陽性細胞が減少することが判ったが、R-ケタミン投与では、変化しなかった。うつ病の社会的敗北ストレスモデルにおいて、R-ケタミンの最終代謝物である(2R,6R)-ヒドロキシノルケタミンは抗うつ効果を示さなかった。

統合失調症のPolyICモデルにおいて、4週齢から8週齢までのD-セリンの投与は、成熟期における行動異常を抑制することを見出した。このことは、Dセリンは統合失調症の発症を予防する可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：Ketamine enantiomers are the most attractive antidepressants. Repeated administration of S-ketamine, but not R-ketamine, caused the loss of parvalbumin-positive cells in the prefrontal cortex. In the social defeat stress model of depression, (2R,6R)-hydroxynorketamine, a final metabolite of R-ketamine, did not show antidepressant-like effects.

In the PolyIC model of schizophrenia, treatment of D-serine from 4-week olds to 8-week olds can prevent the onset of behavioral abnormality in adult offspring after maternal immune activation.

研究分野：精神神経科学

キーワード：脳・神経疾患 統合失調症 うつ病 ストレス NMDA受容体 Dセリン ケタミン

### 1. 研究開始当初の背景

精神疾患のマイクロエンドフェノタイプのうち、最も研究が進んでいるのは、うつ病の脳における樹状突起スパイン密度の変化である。現在、NMDA 受容体拮抗薬ケタミンは、治療抵抗性うつ病患者に対して、即効性の抗うつ効果を示すことから、米国で最も注目されている薬剤である。これまで我々は、NMDA 受容体への親和性が低い R-ケタミンは、NMDA 受容体への親和性が高い S-ケタミンより、抗うつ効果および樹状突起スパイン密度低下に対する改善作用が強いことを報告した。このことは、ケタミンの抗うつ効果には NMDA 受容体以外の関与を示唆している。一方、妊娠期の感染は、生まれてくる子供の統合失調症のリスクをあげることが疫学研究からわかっている。また統合失調症は思春期以降に発症することから、発症する前に予防することが可能であると考えている。NMDA 受容体の内在性アゴニストである D-セリンは、統合失調症の病態に関わっていることが知られており、ヒトに投与され治療効果も報告されている。

### 2. 研究の目的

ケタミンの臨床上的の問題点は、繰り返し投与による副作用（精神病惹起作用、薬物依存など）である。今回、ケタミンの異性体を繰り返し投与した際のマウス脳におけるパルブアルブミン陽性細胞を免疫組織化学で調べることを目的とした。さらに、2016 年5月にケタミンの抗うつ効果は、ケタミン自身でなく代謝物である hydroxynorketamine (HNK)が寄与することが NATURE 誌に掲載され注目された。特に、R-ケタミンの最終代謝物である (2R,6R)-hydroxynorketamine (HNK)が重要であることを指摘した。今回、うつ病の炎症モデルと社会的敗北ストレスモデルにおける R-ケタミンと(2R,6R)-HNKの比較を行うことを目的とした。

一方、統合失調症の発症モデルとして、妊娠期の感染が重要であることが知られている。モデル動物においては、妊娠マウスに PolyIC を投与すると、生まれてきた仔マウスが成熟した時に、統合失調症と類似した行動異常を引き起こす。今回、統合失調症の PolyIC モデルを用いて、若年期における D-セリンの投与が、成熟期における行動異常を予防するかを調べた。

これまでの多くの研究から D-セリンは NMDA 受容体の内在性アゴニストとして作用し、統合失調症の病態に関わっていることが報告されている。脳における D-セリンは、セリンラセマーゼによって、L-セリンから合成されることが知られているが、脳におけるセリンラセマーゼの詳細な役割は未だ判っていない。今回、野生型およびセリンラセマーゼ遺伝子欠損マウス脳のメタボロミクス解析を実施し、脳の代謝系におけるセリンラセマーゼの役割を調べることを木医的とし

た。

### 3. 研究の方法

雄性 C57/B6 マウスに生理食塩水 (10 ml/kg)、R-ケタミン (10 mg/kg)、S-ケタミン (10 mg/kg) を週に1回8週間投与した。その後、かん流固定して、マウス脳部位（前頭皮質、海馬など）におけるパルブアルブミン陽性細胞を免疫組織化学で調べた。

次に、うつ病の炎症モデル（リポポリサッカライド投与）と社会的敗北ストレスモデルを用いて、生理食塩水 (10 ml/kg)、R-ケタミン (10 mg/kg)、S-ケタミン (10 mg/kg)、(2R,6R)-HNK(10 mg/kg)を投与し、行動評価（運動量、尾懸垂試験、強制水泳試験、ショ糖飲水試験）を実施した。

妊娠期に PolyIC を投与すると、生まれた仔マウスが成熟期になると統合失調症と類似した症状を引き起こすことから、統合失調症の動物モデルとして幅広く使用されている。今回、妊娠マウスに PolyIC (5 mg/kg/day for 6 days)を投与し、生まれた仔マウスを3週齢時に離乳し、通常の飼育を行った。4週齢から8週齢まで通常の水あるいは D-セリン (600 mg/L) を4週間与えた。その後、10週齢以降に行動評価（運動量、認知機能評価）を実施した。

さらに、脳内代謝系における D-セリンの合成酵素セリンラセマーゼの役割を調べる目的で、セリンラセマーゼの遺伝子欠損マウスの脳組織（前頭皮質、小脳）のメタボロミクス解析を実施した。

### 4. 研究成果

マウスに S-ケタミンを週に1回8週間投与すると、前頭皮質におけるパルブアルブミン陽性細胞が減少することが判ったが、R-ケタミン投与では、変化しなかった（最後頁図1）。前頭皮質におけるパルブアルブミン陽性細胞の低下は、精神病やγオシレーションの異常に関係していることが示唆されていることから、R-ケタミンの方が、S-ケタミンより安全であると思われる。

うつ病の炎症モデルと社会的敗北ストレスモデルにおいて、R-ケタミンの抗うつ効果は S-ケタミンより強く、既報の結果と同じであった。しかしながら、代謝物である (2R,6R)-HNK は今回のモデルでは抗うつ効果を示さなかった（最後頁図2）。さらに、ラット学習性無力モデルにおいて、R-ケタミンの脳への直接投与は抗うつ効果を示した。本知見は、R-ケタミンの抗うつ効果は、代謝物でなく、R-ケタミン自身であることを報告した。この結果は、2016年に NATURE 誌に掲載された論文に異論を唱えた最初の論文であり、Biol Psychiatry 誌にアクセプトされた。

統合失調症の PolyIC モデルにおいて、4週齢から8週齢までの D-セリンの投与は、成熟期における行動異常を抑制することを見出し

た。この知見は、ヒトにおいて前駆症状を有する方に D-セリンを服用すると精神病への移行が予防されるというコロムビア大学の報告 (*Lancet Psychiatry* 2015) と一致する。さらに、セリンラセマーゼは、脳において D-セリンの合成酵素であるが、メタボロミクス解析結果より、セリンラセマーゼ遺伝子の欠損は、解糖系に影響を与えることを見出した。

#### 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 18 件)

- 1) Liu WX, Wang J, Xu N, Xie ZM, Zhang GF, Jia M, Zhou ZQ, Hashimoto K, Yang JJ: Regulation of glutamate transporter via BDNF-TrkB signaling plays a role in the anti-apoptotic and antidepressant effects of ketamine in chronic unpredictable stress model of depression. *Psychopharmacology* 233: 405-415 (2016). 査読有
- 2) Sun HL, Zhou ZQ, Zhang GF, Yang C, Wang XM, Shen JC, Hashimoto K, Yang JJ: Hippocampal p11 plays a role in the sustained antidepressant effect of ketamine in the chronic unpredictable mild stress model. *Transl. Psychiatry* 6: e741 (2016). 査読有
- 3) Hashimoto K, Bruno D, Nierenberg J, Marmar CR, Zetterberg H, Blonnow K, Pomara N: Abnormality in glutamine-glutamate cycle in the cerebrospinal fluid of cognitively intact elderly individuals with major depressive disorder: 3-year follow-up study. *Transl. Psychiatry* 6: e744 (2016). 査読有
- 4) Ren Q, Ma M, Ishima T, Morisseau C, Yang J, Wagner K, Zhang JC, Yang C, Yao W, Dong C, Han M, Hammock BD, Hashimoto K: Gene deficiency and pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase confers resilience to repeated social defeat stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: E1944-E1952 (2016). 査読有
- 5) Yang C, Han M, Zhang JC, Ren Q, Hashimoto K: Loss of parvalbumin-immunoreactivity in mouse brain regions after repeated intermittent administration of esketamine, but not R-ketamine. *Psychiatry Res.* 239: 281-283 (2016). 査読有
- 6) Zhang JC, Yao W, Hashimoto K: Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) – TrkB signaling in inflammation-related depression and potential therapeutic target. *Curr. Neuropharmacol.* 14: 721-731 (2016). 査読有
- 7) Hashimoto K, Yoshida T, Ishikawa M, Fujita Y, Niitsu T, Nakazato M, Watanabe H, Sasaki T, Shiina A, Hashimoto T, Kanahara N, Hasegawa T, Enohara M, Kimura A, Iyo M: Increased serum levels of serine enantiomers in patients with depression. *Acta. Neuropsychiatr.* 28: 173-178 (2016). 査読有
- 8) Yang B, Zhang JC, Han M, Yao W, Yang C, Ren Q, Ma M, Chen QX, Hashimoto K: Comparison of R-ketamine and rapastinel antidepressant effects in the social defeat stress model of depression. *Psychopharmacology* 233: 3647-3657 (2016). 査読有
- 9) Hashimoto K: Ketamine's antidepressant action: beyond NMDA receptor inhibition. *Expert Opin. Ther. Targets* 20: 1389-1392 (2016).
- 10) Zhang JC, Yao W, Ren Q, Yang C, Chao D, Ma M, Wu J, Hashimoto K: Depression-like phenotype by deletion of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor: Role of BDNF-TrkB in nucleus accumbens. *Sci. Rep.* 6: 36705 (2016). 査読有
- 11) Yang B, Yang C, Ren Q, Zhang JC, Chen QX, Shirayama Y, Hashimoto K: Regional differences in the expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) pro-peptide, its precursors preproBDNF and proBDNF in the brain confer stress resilience. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 266: 265-269 (2016). 査読有
- 12) Fujita Y, Ishima T, Hashimoto K: Supplementation with D-serine prevents the onset of cognitive deficits in adult offspring after maternal immune activation. *Sci. Rep.* 6: 37261 (2016). 査読有
- 13) Yang B, Ren Q, Ma M, Chen QX, Hashimoto K: Antidepressant effects of (+)-MK-801 and (-)-MK-801 in the social defeat stress model. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 19: pyw080 (2016). 査読有
- 14) Hashimoto K, Kakiuchi T, Ohba H, Nishiyama S, Tsukada H: Reduction of dopamine D<sub>2/3</sub> receptor binding in the striatum after a single administration of esketamine, but not R-ketamine: A PET study in conscious monkeys. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 267: 173-176 (2017). 査読有
- 15) Shirayama Y, Hashimoto K: Effects of a single bilateral infusion of R-ketamine in the rat brain regions of a learned helplessness model of depression. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 267: 177-182 (2017). 査読有
- 16) Dong C, Zhang JC, Yao W, Ren Q, Ma M,

Yang C, Chaki S, Hashimoto K: Rapid and sustained antidepressant actions of mGlu2/3 receptor antagonist MGS0039 in social defeat stress model: Comparison with ketamine. Int. J. Neuropsychopharmacol. 20: 228-236 (2017). 査読有

17) Yang C, Qu Y, Abe M, Nozawa D, Chaki S, Hashimoto K: (R)-ketamine shows greater potency and longer lasting antidepressant effects than its metabolite (2R,6R)-hydroxynorketamine. Biol. Psychiatry in press. 査読有

18) Yang B, Ren Q, Zhang JC, Chen QX, Hashimoto K: Altered expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), BDNF pro-peptide, and their precursor proBDNF in the brain and liver tissues from psychiatric disorders: rethinking the brain-liver axis. Transl. Psychiatry 7: e1128 (2017). 査読有

[学会発表] (計 6 件)

1). 橋本謙二、垣内岳春、大庭弘之、西山新吾、塚田秀夫: 脳内線条体のドパミン D2/3 受容体に対するエスケタミンおよび R-ケタミンの効果: 無麻酔サルを用いた PET 研究. 第 46 回日本神経精神薬理学会. 平成 28 年 7 月 2 日. 韓国ソウル市

2). 橋本謙二、藤田有子: 統合失調症の母体感染モデルにおける D 型セリンの発症予防の検討. 第 12 回 D アミノ酸学会. 平成 28 年 9 月 14-15 日. 高知大学. 高知市.

3). Hashimoto K, Kakiuchi T, Ohba H, Nishiyama S, Tsukada H: Reduction of dopamine D<sub>2/3</sub> receptor binding in the striatum after a single administration of esketamine, but not R-ketamine: A PET study in conscious monkeys. The 30<sup>th</sup> CINP World Congress of Neuropsychopharmacology. July 3-5, 2016. Seoul, South Korea.

4). Chaki S, Fukumoto K, Toki H, Yamaguchi J, Hashimoto K, Iijima M: (2016) Additional evidence for sustained antidepressant effects of R-ketamine in rodent models: Comparison with S-ketamine. The 55th Annual Meeting of the ACNP, Hollywood, FL, USA. December 4 - 8, 2016.

5). Shirayama Y, Hashimoto K: Effects of a single bilateral infusion of R-ketamine in the rat brain regions of a learned helplessness model of depression. The 55th Annual Meeting of the ACNP, Hollywood, FL, USA. December 4 - 8, 2016.

6). Nakao K, Fujita Y, Diaz N, Belforte J, Hashimoto K, Nakazawa K: Blunted

prefrontal dopamine release in an NMDA receptor hypofunction mouse model. The 55th Annual Meeting of the ACNP, Hollywood, FL, USA. December 4 - 8, 2016.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]  
ホームページ等

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 : 1 0 1 8 9 4 8 3

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

石間 環 (ISHIMA, Tamaki)  
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教  
研究者番号 : 0 0 5 9 7 1 3 0

(4) 研究協力者

藤田 有子 (FUJITA, Yuko)  
千葉大学・社会精神保健教育研究センター・特任助教  
研究者番号 : 4 0 6 2 3 5 9 1

図1.ケタミン異性体を8回(週に1回8週間)投与した後の前頭皮質における  
 パルプアルブミン陽性細胞

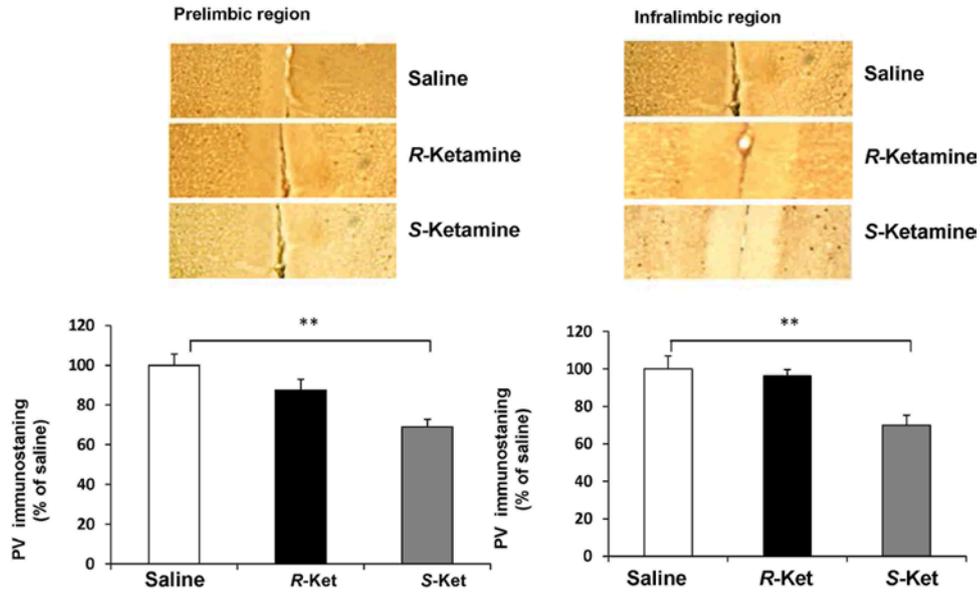


図2. うつ病の社会的敗北ストレスにおけるR-ケタミン、S-ケタミン、(2R,6R)-HNKの効果

