

## 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 5 月 30 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：平成 22 年～平成 24 年

課題番号：22591265

研究課題名（和文）統合失調症の病態においてトレースアミンはどう関わるか

研究課題名（英文）How are trace amines involved in pathophysiology of schizophrenia ?

研究代表者

池本 桂子 (Keiko Ikemoto)

福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90184449

研究成果の概要（和文）：

統合失調症の「D-細胞仮説」を提唱した。我々が報告した統合失調症死後脳の線条体、とくに側坐核の D-ニューロン減少は、脳室下帯神経幹細胞の機能低下に起因し、D-ニューロン由来のトレースアミン (TA) 減少が DA 神経終末上のトレースアミン関連受容体 1 型 (TAAR1) 刺激を減弱させ、中脳腹側被蓋野 DA ニューロンの過活動を生じさせる。線条体神経幹細胞の DAD2 受容体刺激は前脳神経幹細胞機能を低下させ、D-ニューロン減少と中脳辺縁 DA 過活動を加速させる。この仮説は DAD2 拮抗薬早期投与の統合失調症初期治療における有効性、また TAAR1 アゴニストが期待できる新規抗精神病薬候補であることと整合性がある。

研究成果の概要（英文）：

“D-cell hypothesis” of schizophrenia was proposed. Our previous studies have shown D-neuron reduction in the striatum, notably in nucleus accumbens in postmortem brains of patients with schizophrenia. The localization of subventricular zone NSC, being overlapped with that of striatal D-neurons, lead to suspect that striatal D-neuron decrease would be caused by NSC hypofunction. Striatal TA decrease may decrease TAAR1 stimulation on nerve terminals of VTA DA neurons, which would result in midbrain DA hyperactivity in schizophrenia. Dopamine D2 receptor stimulation onto striatal NSC may cause NCS hypofunction, and acceleration of D-neuron reduction and mesolimbic DA hyperactivity of schizophrenia. This is in agreement with effectiveness of early intervention by DA D2 blocker for first episode schizophrenia, and also with prospectiveness of TAAR1 agonists as novel antipsychotics.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
23 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
24 年度	500,000	150,000	650,000
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：trace amine, schizophrenia, aromatic L-amino acid decarboxylase, dopamine, mesolimbic system, TAAR1, D-neuron

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

### 1. 研究開始当初の背景

トレースアミン(TA)は脳内に微量しか存在しないが、モノアミンの神経伝達を調節し、統合失調症、双極性障害、多動、うつ、けいれん誘発に関わる。D-細胞は、TA合成細胞とみられ、Jaegerらが1983年にラットの脳で発見した。これらは、芳香族L-アミノ酸脱炭酸化酵素(AADC)を有するがドパミン(DA)もセロトニンも含まない、「非モノアミン作動性AADC細胞」と定義され、脊髄から分界条床核までの局在がD1-D14と報告された。「D」はdecarboxylationを表す。研究代表者は1997年、研究協力者の北浜邦夫博士と、ヒトの脳のさらに吻側の線条体にAADCを有するがDAの律速合成酵素のチロシン水酸化酵素(TH)を持たないAADCニューロン(D-ニューロン)を報告し、D15とした。D15はサルではほとんど存在しなかったが、統合失調症の死後脳を用いた予備的検討では、D15のD-ニューロンは減少を示し、統合失調症病態との関連が示唆された。

H17~18年の科学研究費補助金(「統合失調症死後脳におけるモノアミン関連遺伝子のDNAメチル化状態」(研究代表者:池本桂子))では、福島精神疾患ブレインバンクのサンプルを用い、女性の統合失調症(鑑別不能型、服薬例)の側坐核で、MAOAと、TA分解酵素であるMAOBのDNAメチル化率が高い例を見出し、統合失調症側坐核でモノアミン/TAの分解能異常が存在する可能性を示した。

TA関連受容体1型(trace amine-associated receptor, type 1: TAAR1)は、モノアミン関連領域に局在し、メタンフェタミン、 $\beta$ -フェニルエチルアミン(PEA)、チラミン、甲状腺ホルモン誘導体の3-ヨードサイロナミンなど、多数のリガンドを有する。TAAR1ノックアウトマウスはプレパルスインヒビションの異常など、統合失調症様の行動を示し、TAAR1は統合失調症病態解明において重要な受容体であることが示された。

しかし、ヒトにおけるTAARの局在、各受容体とリガンドとの関係、受容体シグナリングについては不明な点が多い。我々は、精神疾患の病態におけるTAの役割を解明するためのブレークスルーとして、ヒト死後脳におけるAADC免疫組織化学とTA合成ニューロンの研究を行う唯一のグループである。

### 2. 研究の目的

TAの可視化は困難であるが、律速合成酵素であるAADCは脳内に豊富に存在し、免疫組織化学的に可視化できる。D-ニューロンは、ヒトでは側坐核を含む前脳に豊富に存在す

る。統合失調症では尾状核・被殻・側坐核のD-ニューロンは減少していた(図2)。本研究では、統合失調症の病態とTAの関連を検討する。

### 3. 研究の方法

1) D-細胞の局在を再検討するために、AADC抗体を用いて、健常人と統合失調症の死後脳を用いたAADC免疫組織化学を行う。

2) TAAR1ノックアウトマウス、AADCノックダウンマウスを用い、TAAR受容体のリガンドや抗精神病薬を投与した後の*c-fos*の発現を検討する。

3) 死後脳を用いて、統合失調症の病態との関連が示唆される神経活性物質と発現遺伝子を組織化学的・分子生物学的手法により解析する。

### 4. 研究成果

平成23年3月11日の東日本大震災のために大幅に研究計画が変更され、(1)のヒト死後脳を用いたAADC免疫組織化学の症例数を増やした検討と(2)のモデル動物を用いた解析は行うことができなかった。しかし、TAAR1の抗体を用いた死後脳解析を開始し、近年のTAAR1受容体研究の関連文献を検討して、統合失調症病態におけるTAの役割について「D-細胞仮説」を導き出した。また、TAが調節する中脳腹側被蓋野DAニューロンを統合失調症死後脳と対照脳を用いて神経病理学的に解析した。

アミン関連神経活性物質として、DARPP-32(DA- and cAMP-regulated phosphoprotein, Mr 32 kDa)、カルシニューリンの免疫組織化学的解析、MAOA、MAOB遺伝子のメチル化状態の解析を福島精神疾患脳バンクの脳試料を用いて行い、さらに、同脳バンクの試料により、質量分析顕微鏡を用いた脂質代謝異常の解析を施行した。また、他の研究施設で発見された統合失調症感受性新規遺伝子の脳内発現の解析を行うために、統合失調症死後脳試料の提供を行った。

D-ニューロンと睡眠覚醒リズムとの関係について、D-ニューロンがSakai K博士の述べる覚醒ニューロンである可能性について検討中である。

### 統合失調症の中脳辺縁DA系過活動の分子基盤：D-細胞仮説(図3)

統合失調症の中脳辺縁DA系過活動を説明できる仮説はこれまで提唱されていない。しかし、統合失調症における神経幹細胞低下仮説、線条体とくに側坐核のD-ニューロン減少の所見から、TAの産生減少とTAAR1シグナ

ル伝達低下を想定し、新たな仮説を導くことが可能となった。

脳画像研究で示された統合失調症の側脳室拡大所見は、側脳室の脳室下帯 (subventricular zone) や海馬から誘導される神経幹細胞の機能低下と関係があるとみられる。統合失調症における脳室下帯の神経幹細胞の機能低下は、同時に、線条体、とくに側坐核の D-ニューロン数の減少をきたす。D-ニューロンは、PEA などの TA を合成し、TA は中脳 DA ニューロンの神経終末に存在する TAAR1 に作用すると考えられる。D-ニューロン減少の結果、TA 量が減少すると、中脳辺縁系の DA ニューロン上に DA トランスポーターと共存する、TAAR1 への刺激が減弱する。TAAR1 を介するシグナルの低下は、中脳 DA ニューロンの発火頻度を増加させ、中脳辺縁 DA 系の過活動をもたらし、側坐核の DA turn over を増加させる。これが統合失調症の DA 機能障害仮説における中脳辺縁 DA 系機能亢進の分子機構であると考えられる (図 3)。

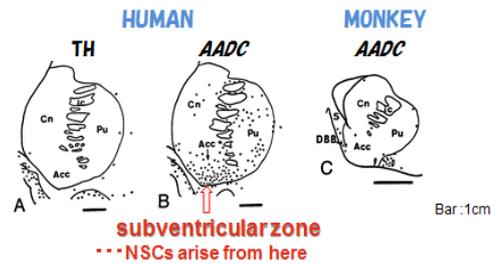
先に述べた、最新の薬理学的研究による、TAAR1 のパーシャルアゴニスト、フルアゴニストのいずれも、動物実験のレベルでは、従来の抗精神病薬のようにカタレプシーや体重増加の副作用がなく、認知機能を改善できるという結果は、統合失調症における TAAR1 のリガンド合成細胞である D-ニューロンの減少を TAAR1 アゴニスト投与で補うえばよい、という点では、矛盾しない。

さらに、線条体の DA 過活動は、DA の D2 受容体を介して前脳の神経幹細胞の増殖を抑制させることが報告されており、その作用により神経幹細胞のさらなる機能低下が生じる。このことは DAD2 受容体拮抗薬の早期投与開始が統合失調症の病態進行を阻止し、さらに再発防止にも有効であるという臨床的観察と一致する

### 結論

TAAR1 のリガンド産生細胞である D-ニューロンのヒト線条体における発見と、統合失調症死後脳の線条体 D-ニューロン減少の所見によって明らかにされたのは、統合失調症の中脳辺縁系 DA 過活動の分子基盤が、投射先の D-ニューロン減少と、腹側被蓋野ドーパミンニューロン上の TAAR1 の刺激減弱であろうという点である。これは TAAR1 リガンドが有望な新規向精神薬であることを示す最新の動物実験の報告と一致する。D-細胞仮説の提唱は、TAAR1 リガンド開発が新規治療戦略として期待を抱くに値するとの根拠を提供する。本研究では D-ニューロンシグナルの解明、線条体 D-ニューロン欠損モデル動物の作成と行動解析に加え、TAAR1 アゴニストの臨床治験が今後の課題である。

## Striatal D-neurons (D15) (non-monoaminergic AADC neuron=TA-producing neuron?)



Each dot represents a neuronal cell body in a 50µm-thick coronal section immunostained by TH or AADC antibody.  
S: septum, Cn: caudate nucleus, Pu: putamen,  
Acc: nucleus accumbens, DBB: nucleus of diagonal band of Broca

図1 線条体 D-ニューロン (D15)

ヒトとサル脳サンプルにチロシン水酸化酵素、および、芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC) の免疫組織化学を施した。AADC 陽性ニューロンは、ヒトの線条体には多数存在したが、ニホンザルの場合にはほとんど見られなかった。点 1 個は、厚さ 50µm の切片中の神経細胞一個に対応する。Cn: 尾状核 Pu: 被殻 Acc: 側坐核 S: 中核 DBB: ブローカの対角帯核

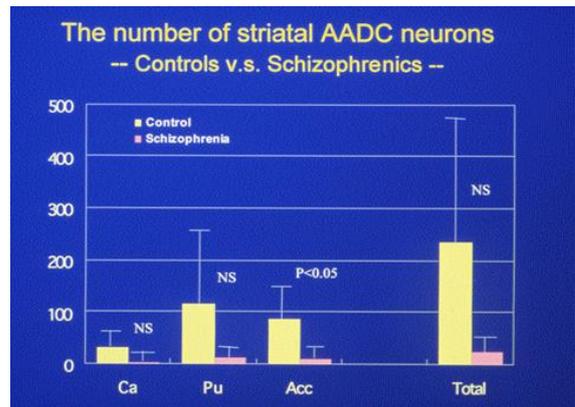


図2

線条体 AADC 陽性ニューロンは、統合失調症では顕著に減少していた。これらは、ほぼすべて D-ニューロンである。死後から固定までの時間 (PMI) が長いサンプルでは、50µm 切片 1 枚あたりの陽性ニューロン数が減少するため、PMI が 8 時間の脳サンプルを使用して比較検討した。

Controls: n = 5 (27-64 歳),

Schizophrenics: n = 6 (51-78 歳)

統合失調症の「D-細胞仮説」 (Ikemoto, 2012)

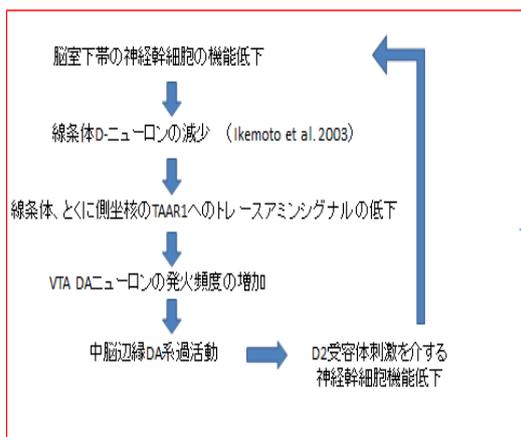


図3

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 29 件)

1. Ikemoto K: Why D-neuron? J Neurol Neurophysiol, 3(2): 42, 2012
2. Ikemoto K: NSC-induced D-neurons are decreased in striatum of schizophrenia: Possible cause of mesolimbic dopamine hyperactivity : Stem Cell Discovery, 2(2): 58-62, 2012
3. Ikemoto K: Are D-neurons and trace amine-associated receptor, type 1 involved in mesolimbic dopamine hyperactivity of schizophrenia? Medicinal Chemistry, 2(2), 2012 <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000111>
4. Ikemoto K: D-cell hypothesis: Pathogenesis of mesolimbic dopamine hyperactivity of schizophrenia. Journal of Behaviour and Brain Science, 2: 411-414, 2012
5. Ikemoto K: "D-cell hypothesis" of schizophrenia: possible theory for mesolimbic dopamine hyperactivity. World Journal of Neuroscience, 2: 141-144, 2012
6. Ikemoto K: Why D-neuron?

Direction from psychiatric research. J Neurol Neurophysiol, S11-022, 2012

7. Ikemoto K: Why D-neuron? Importance in schizophrenia research. Open Journal of Psychiatry, 2: 393-398, 2012
8. Kunii Y, Ikemoto K, Niwa SI, et al.: Detailed DARPP-32 expression profiles in post-mortem brains from patients with schizophrenia: An immunohistochemical study. Med Mol Morphol, 44(4) : 190-199, 2011
9. Nishiura K, Ikemoto K, Niwa SI, et al.: Profiles of DARPP-32 in the insular cortex with schizophrenia: A postmortem brain study. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry, 35(8): 1901-1907, 2011
10. Wada A, Ikemoto K, Niwa S, et al.: Increased ratio of calcineurin immunoreactive neurons in the caudate nucleus of patients with schizophrenia, Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry, 37(1): 8-14, 2012
11. Yang Q, Ikemoto K, Niwa SI, et al: DNA methylation of the Monoamine Oxidases A and B genes in postmortem brains of subjects with schizophrenia. Open Journal of Psychiatry, 2: 374-383, 2012
12. Matsumoto J, Ikemoto K, Setou M, Niwa SI, et al: Abnormal phospholipids distribution in the prefrontal cortex from a patient with schizophrenia revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry. Anal Bioanal Chem, 400(7): 1933-1943, 2011
13. Ikemoto K, Oda T, Nishi K, et al.: Dopamine Neurons in the Ventral Tegmental Area: An Autopsy Case of Disorganized Type of Schizophrenia, Case Reports in Neurological Medicine, Volume 2011, Article ID 381059, doi:10.1155/2011/381059, <http://www.hindawi.com/crim/nm/2011/381059/>
14. Okada T, Hashimoto R, Ikemoto K, Takeda M, et al : Expression analysis of a novel mRNA variant of the schizophrenia risk gene

- ZNF804A. Schizophr Res. 141(2-3): 277-278, 2012
15. Ravid R and Ikemoto K: Pitfalls and practicalities in collecting and banking human brain tissues for research on psychiatric and neurological disorders : Fukushima Journal of Medical Science, 58(1): 82-87, 2012
  16. 池本桂子 : D-ニューロンの謎、日仏生物学会誌, 50: 96-98, 2010
  17. 池本桂子 : 施設入所中の知的障害あるいは身体障害にともなう統合失調症に対してアリピプラゾールへの切り替えによって施設内適応を見た3症例、最新精神医学、15: 539-544, 2010
  18. 池本桂子 : 臨床医学の展望 2010 精神医学 (丹羽真一) 5.睡眠覚醒障害, 日本医事新報, 4492:63, 2010
  19. 池本桂子 : 気になる脳部位「腹側被蓋野」, 分子精神医学, 10:214-218, 2010
  20. 國井泰人, 池本桂子, 他: 福島精神疾患死後脳バンクの歩みと課題, 日本生物学的精神医学会誌, 21(2): 105-112, 2010
  21. 池本桂子, 丹羽真一 : ブレインバンクの必要性和その現状, 心と社会, 141: 46-52, 2010
  22. 池本桂子, 吉田浩幸, 金子泰之, 他 : 睡眠時無呼吸症候群を含む睡眠障害とうつ病 -終夜睡眠ポリグラフ検査実施症例における予備調査-, 睡眠医療 5: 449-452, 2011
  23. 池本桂子, 駒沢大輔, 小山敦, 他 : 福島第一原子力発電所の最寄りの中核総合病院における震災後のこころのケア—第3次救命救急センター受診後入院した自殺企図症例の検討, 総合病院精神医学, 23: 142-147, 2011
  24. 池本桂子 : 統合失調症の中脳辺縁ドーパミン系過活動に対する「D-細胞仮説」. 日仏生物学会誌. 52: 59-72, 2012
  25. 池本桂子 : 精神疾患の神経病理学的研究: 統合失調症の「D-細胞仮説」, 総合病院精神医学誌, 24, 388-397, 2013
- [学会発表] (計 33 件)
26. Ikemoto K: Insomnia, depression, and sleep apnea, NeuroTalk2010, Singapore, June 26, 2010 (invited)
  27. Ikemoto K: D-neurons and neuropsychiatric diseases, 6th International Stroke Summit, Nanjing, China, July 10, 2010 (invited)
  28. Ikemoto K, Nishimura A, Oda T, Nishi K: Morphological study of midbrain dopamine neurons of post-mortem brains of patients with schizophrenia: Using tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. 10<sup>th</sup> World Congress of Biological Psychiatry, Prague, Czech, May 31, 2011
  29. Ikemoto K, Wada A, Yang Q, Matsumoto J, Shiga T, Nishiura K, Niwa SI: Activities of Fukushima Psychiatric Brain Bank in Japan and recent progress. 10<sup>th</sup> World Congress of Biological Psychiatry, Prague, Czech, June 1, 2011
  30. Ikemoto K : Trace amines and sleep disturbance of schizophrenia, Worldsleap2011, symposium, Kyoto, October 19, 2011
  31. Ikemoto K, Jouvret A, Kitahama K, et al: Do D-neurons produce psychostimulants? Worldsleap2011, Kyoto, October 19, 2011
  32. Ikemoto K, Jouvret M, Kitahama K, et al: Are D-neurons endogenous psychostimulant-producing cells? Neuroscience 2011, Yokohama, September 17, 2011
  33. Ikemoto K: Why D-neuron? Neuro-2012, Las Vegas, USA, Mai 4, 2012 (invited)
  34. Ikemoto K: D-neuron-trace amine theory of schizophrenia, International Congress of Neuropsychopharmacology, (CINP), Stockholm, Sweden, June 5, 2012
  35. Ikemoto K: Trace amines in pathogenesis of schizophrenia. Molecular and Cellular Cognition Society Meeting, New Orleans, USA, October 11, 2012
  36. Ikemoto K: D-cell hypothesis for mesolimbic dopamine hyperactivity of schizophrenia, Dopamine 2013, Alghero, Italy, May 28, 2013
  37. Ikemoto K, Murao R, Koyama A, et al: Initial pharmacotherapy by

- dopamine stabilizer, aripiprazole, for inpatients due to suicidal attempt, Dopamine 2013, Alghero, Italy, May 28, 2013
38. 國井泰人, 池本桂子, 丹羽真一, 他: 統合失調症上側頭回における DARPP-32 のプロフィール—死後脳研究、第 6 回統合失調症研究会、東京、H22.2.6
39. 池本桂子, 北浜邦夫, 西克治, 他: 神経精神疾患の病態における D-ニューロンの役割、第 33 回日本神経科学会、神戸、H22.9.3.
40. 西浦継介, 國井泰人, 池本桂子, 他: 統合失調症島皮質における DARPP-32 のプロフィール—死後脳研究、第 32 回日本生物学的精神医学会、北九州、H22.10.9.
41. 松本純弥, 池本桂子, 瀬藤光利, 他: 質量顕微鏡法による統合失調症死後脳解析、第 32 回日本生物学的精神医学会、北九州、H22.10.9.
42. 和田明, 池本桂子, 丹羽真一, 他: カルシニューリン阻害薬使用歴のある統合失調症症例における死後脳組織カルシニューリンの発現について、第 7 回日本統合失調症学会、H24.3.16. 名古屋
43. 小野千晶, 池本桂子, 富田博秋, 他: 微量脳組織における pH 測定とその組織内発現プロファイルへの影響 ~死後脳研究とブレインバンク運営に有用な方法論の検討~, 第 7 回日本統合失調症学会、H24.3.16. 名古屋
44. 松本純弥, 池本桂子, 瀬藤光利, 他, 質量顕微鏡による統合失調症死後脳の脂質解析、第 7 回日本統合失調症学会、H24.3.16. 名古屋
45. 池本桂子: トレースアミンと芳香族アミノ酸脱炭酸酵素ニューロンが関わる統合失調症病態仮説、第 35 回日本神経科学会、H24.9.20. 名古屋

[図書] (計 8 件)

46. Ikemoto K: Effects of sun-bathing on insomnia, behavioural disturbance and serum melatonin level, In: Melatonin, Sleep and Insomnia (Yolanda E. Soriento, Ed) pp. 329-336, Nova Science Publishers, New York, 2010
47. 池本桂子 編著: ブレインバンクが切り拓く精神疾患研究, 新興医学出版, 東京, 2010
48. 池本桂子: 第 1 章 「エピジェネテ

イクス」と「神経幹細胞」、池本桂子編著: ブレインバンクが切り拓く精神疾患研究, pp.1-8, 新興医学出版, 東京, 2010

49. 國井泰人, 池本桂子, 丹羽真一 他: 第 5 章 統合失調症死後脳における DARPP-32 とカルシニューリンの免疫組織化学的検討、池本桂子編著: ブレインバンクが切り拓く精神疾患研究, pp.26-29, 新興医学出版, 東京, 2010
50. 池本桂子: 第 8 章 精神神経疾患とモノアミン神経系、池本桂子編著: ブレインバンクが切り拓く精神疾患研究, pp.35-36, 新興医学出版, 東京, 2010
51. 池本桂子, 丹羽真一: 第 10 章 精神疾患ブレインバンクの運営と関連諸問題、池本桂子編著: ブレインバンクが切り拓く精神疾患研究, pp.44-49, 新興医学出版, 東京, 2010
52. 池本桂子, 丹羽真一: 13. バイオロジカルマーカー、遺伝子「ブレインバンク」、松下正明総編集: 『キーワード 279 で読み解く精神医学』中山書店, 東京, pp.589-590, 2011
53. 池本桂子: ブレインバンクはなぜ必要か、加藤忠史 & 生物学的精神医学会ブレインバンク設立委員会編, II 脳研究の実際, 4 神経病理学研究の実際, 光文社新書, 東京 pp.151-160, 2011

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 「ヒト D-細胞の可視化方法」

発明者: 池本 桂子

権利者: 池本 桂子

種類: 特願

番号: 2013-013800

出願年月日: 平成 25 年 1 月 28 日

国内外の別: 国内

[その他]

以下で公開

1. 福島精神疾患ブレインバンクのホームページ <http://www.fmu-bb.jp/kenkyu.htm>
2. 福島県立医科大学研究者データベース <http://www.fmu.ac.jp/kenkyu/Profiles/7/0000649/profile.html>
3. つばめ会会報
4. 磐城共立病院医報

6. 研究組織

研究代表者

池本桂子 (Keiko Ikemoto)

研究者番号: 90184449