

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5月7日現在

機関番号：13101
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22790245
 研究課題名（和文） 抗酸化剤による精神疾患モデル動物の認知機能障害の改善とその作用メカニズム
 研究課題名（英文） Antipsychotic potential of antioxidative agents in animal model for schizophrenia
 研究代表者
 水野 誠（MIZUNO MAKOTO）
 新潟大学・脳研究所・特任准教授
 研究者番号：20345515

研究成果の概要（和文）：統合失調症と酸化ストレスの関与が示唆されている。統合失調症モデルを作製、利用して行動解析を行い、抗酸化剤の抗精神病薬作用を解析した。これらの統合失調症モデルへ各種抗酸化剤を経口投与した。抗酸化剤を慢性投与し、プレパルスインヒビション測定と社会性行動試験を行った。その結果、統合失調症モデルで見られた数々の異常行動が慢性投与した群で改善した。抗酸化剤は様々な認知機能障害を改善することが認められた。

研究成果の概要（英文）：We established the model for schizophrenia and examined the antipsychotic actions of antioxidants. Administration of antioxidants for a week significantly ameliorated deficits of social interaction and prepulse inhibition of the schizophrenia model rats. These results suggest that antioxidants may be a new class of antipsychotic drugs for schizophrenia.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：栄養因子、活性酸素、ドパミン、認知、統合失調症

1. 研究開始当初の背景

幼若期に炎症性サイトカインである上皮成長因子（EGF）やインターロイキン-1を投与したラット（EGFモデル、IL-1モデル）は成長後に認知機能障害を呈し、発達障害仮説に基づく精神疾患モデル動物として利用できることを研究代表者の所属する研究室から報告している。さらに、研究代表者は成熟期にミニ浸透圧ポンプを利用して線条体内にEGFを持続投与すると、ドパミン代

謝および運動量が亢進し、同時に認知行動の異常を示すことを発見し、サイトカインによる行動変化はドパミン神経系の変調が関与することが明らかとなった。脳は体重当たりの大きな重量を占め、多くの酸素を消費し、それにより多量の活性酸素（ROS; reactive oxygen species: 活性酸素種）が発生している。この活性酸素は炎症性サイトカイン、ドパミン、グルタミン酸のような興奮性伝達物質などにより誘導さ

れる。活性酸素は細胞分化やシグナル伝達において重要な働きがあるが、反対に多くの疾患の発症にも関連し、精神疾患の初期起因であると提唱されている。最近では統合失調症における認知機能障害にも活性酸素が関与していることが報告されている。統合失調症では抗酸化物質のグルタチオン濃度の低下が見られ、グルタチオン前駆体である N-アセチルシステイン投与が有効であると報告がある。このように現在までに統合失調症と活性酸素に関して研究が進んでいる。精神疾患モデル動物の情動や認知機能が活性酸素発生量により影響されること、抗精神病薬の一部には抗酸化作用があることが知られている。しかし、活性酸素が実際の認知行動においてどのような機序で病理的影響を及ぼしているのかについてはわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では免疫炎症物質を負荷して作製した統合失調症モデルを用い、認知行動障害誘発とその制御について解析する目的である

3. 研究の方法

(1) EGF 投与のモデルラット、腹側海馬破壊および LPS(lipopolysaccharide) 投与による統合失調症モデルラットの作製。EGF 投与ラットの作製および妊娠後期 E15 の母体ラットへ LPS を投与してその仔ラットをモデル動物として利用する。また、これまで数多く報告されており、有用な統合失調症モデルである腹側海馬破壊(VHL)のモデル動物を作製する。

(2)モデルラットの行動解析

一般行動として自発運動量の測定、学習行動解析、プレパルスインヒビション測定、社会性行動試験を行う。固執性異常の解析に有効なラテントインヒビションを測定する。

(3)活性酸素の産生量分布部位の特定

上記の免疫刺激、脳障害負荷時(胎仔や新生仔脳)とその成長後の脳内におけるROS産生量を測定する。血中過酸化脂質を測定する方法であるTBARS法を用いて、活性酸素やフリーラジカルの酸化生成物を測定する。脳内活性酸素量や脳内分布との関係を調べる。

(4)抗酸化剤投与実験

各種抗酸化剤をモデルラットに経口投与し、

活性酸素の抑制効果と認知行動との関連を調べる。

使用した各種抗酸化剤；

Edaravone(3-Methyl-1-Phenyl-2-Pyrazolin-5-one) (#M70800-5G, Sigma)

Trolox(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic

acid) (#238813-1G, Sigma-aldrich)

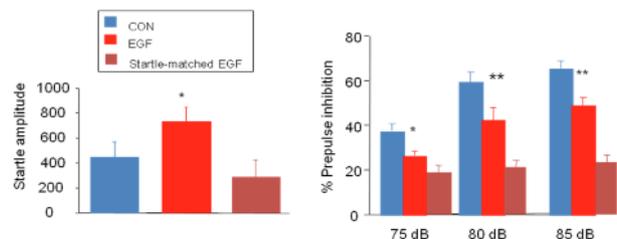
(5)脳内モノアミン含量の測定

行動変化と関連が高い前頭皮質、海馬、線条体、側座核、淡蒼球のモノアミン(ドパミン、セロトニン代謝物)発現量の変化をHPLCシステムで測定する。

4. 研究成果

(1)生後2日から10日までの仔ラットへEGFを過剰に投与した。その成熟後のラットを実験に使用した。また、妊娠後期のE15歳の母体ラットへLPSを投与してその仔ラットをモデル動物として利用した。VHLモデルは作製数が少なかったため、行動解析することができなかった。

(2)(1)で作製したラットの行動の解析を行った。自発運動量を計測したところ、EGF投与群やLPSを投与した仔ラットで運動量が亢進していた。学習行動を測定したところ、両投与群は対照群との有意な違いは認められなかった。これらのモデル動物ではプレパルスインヒビション障害が見られた。

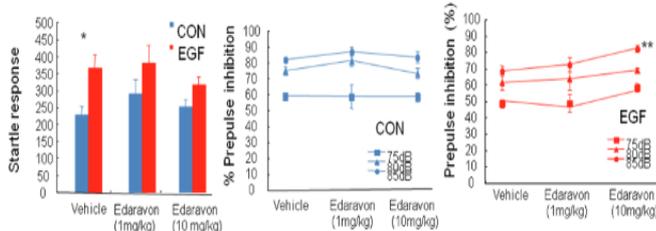


さらに、認知、固執性試験としてラテントインヒビションテストを行ったところ、ラテントインヒビションが阻害されていた。EGF投与群で認知機能が抑制され、さらに成熟ラット(LPS投与の仔ラット)で測定したところ、同様に認知機能が抑制され、固執性の増加が認められた。

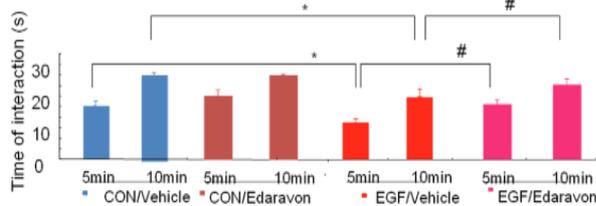
(3)(1)で作製したラットで活性酸素の産生量分布部位を測定した。行動試験の解析の後、脳を採取し、前頭皮質、海馬、線条体、側座核、淡蒼球に区分けした。しかし、全ての領域で活性酸素の産生量分布に有意な違いは認

められなかった。このように脳内のどの領域で抗酸化レベルが抑えられたかを解析したが特定できなかった。

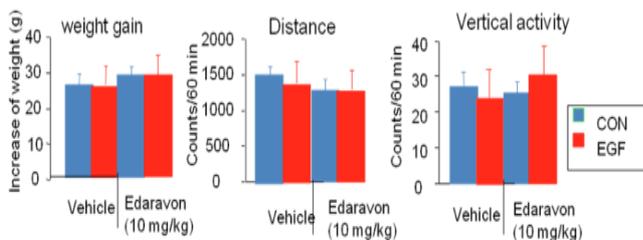
(4)(1)で作製したモデルラットを用いて認知機能への薬物効果を測定した。投与薬剤は、活性酸素の抑制効果を持つ抗酸化剤であるエダラボン1、10 mg/kg/dayで、この薬剤をモデル動物へソングを用いて経口投与を行った。7日間の投与後の8日目以降に行動試験を行った。対照群として溶媒注入群を同様に実施した(各10匹)。続いて、抗酸化剤エダラボンの経口慢性投与後にプレパルスインヒビション測定を行った。その結果、10 mg/kg/day投与でプレパルスインヒビションの異常に対して改善効果が得られた。低濃度の慢性投与や高濃度の単回投与の場合は、改善効果が認められなかった。



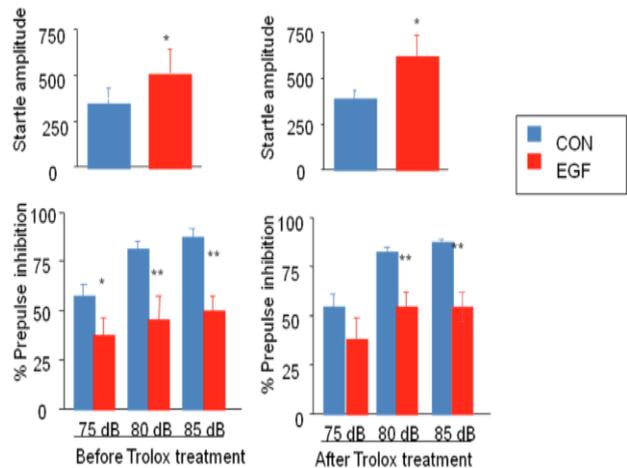
次に、エダラボンの経口慢性投与後に社会性行動試験を行った。その結果、改善効果が得られた。



低濃度の慢性投与や高濃度の単回投与の場合は、改善効果が認められなかった。一方で、エダラボンの経口慢性投与後の体重と運動量(運動距離と垂直運動)に変化は見られず、副作用に対する抗酸化剤の影響はなかった。



別種の抗酸化剤であるトロロックス1、10 mg/kgの経口慢性投与後のプレパルスインヒビションと社会性行動試験を行った(各10匹)。その結果、高濃度の投与で改善効果は認められた。しかしながら、10 mg/kgの単回投与では改善しなかった。



(5)行動試験の解析の後、脳を採取し、前頭皮質、海馬、線条体、側座核、淡蒼球に区分けした。モノアミン量と代謝を測定したところ、EGF投与群の線条体でドパミン量とその代謝産物が増加していた。両抗酸化剤を投与したところ、増加していたドパミン量とその代謝産物が低下した。

以上の結果から、周産期障害仮説に基づくモデル動物に対して抗酸化剤が作用し、モデル動物の認知機能障害を改善することが認められた。

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)

Sotoyama H, Zheng Y, Iwakura Y, Mizuno M, Aizawa M, Shcherbakova K, Wang R, Namba H, Nawa H

Pallidal Hyperdopaminergic Innervation Underlying D2 Receptor-Dependent Behavioral Deficits in the Schizophrenia Animal Model Established by EGF. PLoS One 査読有;6,2011, e25831.

Mizuno M, Kawamura H, Ishizuka Y, Sotoyama H, Nawa H.

The anthraquinone derivative emodin attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion and startle response in

The anthraquinone derivative emodin attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion and startle response in

rats.

Pharmacol Biochem Behav.

査読有;97,2010,392-398.

Mizuno M, Shibuya M, Zheng Y, Sotoyama H, Eda Y, Iwakura Y, Kato T, Takasu K, Nawa H.

Antipsychotic potential of quinazoline ErbB1 inhibitors in a schizophrenia model established with neonatal hippocampal lesioning.

J Pharmacol Sci 査読有; 114,2010,320-331.

Qi S, Mizuno M, Yonezawa K, Nawa H, Takei N.

Activation of mammalian target of rapamycin signaling in spatial learning.

Neurosci Res 査読有;68, 2010,88-93.

〔学会発表〕(計2件)

水野誠

Antipsychotic potential of thalidomide and lenalidomide in immune/inflammatory models for schizophrenia

Advancing Drug Discovery for Schizophrenia

2011年3月

ニューヨーク、アメリカ合衆国

水野誠、森田影介、那波宏之

Effects of antioxidative agents on behavioral impairments in schizophrenia models

第40回北米神経科学会 2010年11月

サンディエゴ、アメリカ合衆国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野 誠 (ミズノ マコト)

新潟大学・脳研究所・特任准教授

研究者番号：20345515

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：