

D-セリンシグナル調節系の解明と統合失調症の病態解析および治療法開発への応用

海野真一, 海野麻未, 石渡小百合, 早川 叶, 小林桃子, 西川 徹

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 精神行動医科学分野

【研究の背景】

申請者らは、1980 年代から NMDA 型グルタミン酸 (Glu) 受容体の遮断薬が、統合失調症様の陽性・陰性・認知症状を引き起こすことに着目し、NMDA 受容体の機能低下が、本症の抗精神病薬反応性・抵抗性双方の症状に関与すると考え、難治性症状にも効果が期待できる、NMDA 受容体を活性化する新規治療法を検討してきた¹⁾。この考え方は広く受け入れられ、臨床的には、NMDA 受容体 Gly 調節部位を刺激し、本受容体機能を促進する、グリシン (Gly) や Gly 輸送体阻害薬を中心とした薬物の二重盲検試験が進められたが、十分な治療効果を得ることが難しかった。そこで、本研究では、NMDA 受容体機能を促進する異なる方法を開拓した。

【目 的】

本研究では、内在性 D-セリンが、脳優位で NMDA 受容体と類似した脳内分布を示し、本受容体の Glu による活性化に必須のコアゴニストであり、Gly 調節部位に選択的に作用する点^{1, 2, 3)}に着目し、従来から創薬の標的とされてきた細胞外グリシンシグナルではなく D-セリンシグナルを調節する統合失調症治療薬を開発する基礎的研究を行う。申請者らの研究より、大脳新皮質で NMDA 受容体に作用する細胞外 D-セリン濃度の調節には、グリアおよび神経^{1, 4)}と、AMPA 型 Glu 受容体⁵⁾や GABAA 受容体³⁾が関係することが明らかになった。今回は、AMPA 受容体への作用薬について、統合失調症動物モデルに対する改善効果を検討する。また、未知の D-セリンシグナル調節系を探索するため、前頭葉白質における細胞外 D-セリンの動態の研究を行う。

【方 法】

NMDA 受容体機能が低下すると、代償的な細胞外 L-Glu の放出が上昇し、カルシウム透過性 AMPA 受容体 (CP-APMA 受容体) が刺激されることによって、細胞外 D-セリン放出が抑制される。この結果生ずる NMDA 受容体機能のさらなる低下の悪循環を改善する目的で、CP-APMA 受容体選択的遮断薬 IEM1460 (*N,N,N*-trimethyl-5- [(tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]dec-1-ylmethyl) amino]-1-pentanaminium bromide hydrobromide) の統合失調症動物モデルへの影響を調べた。モデルとしては、ヒトに統合失調症様症状を引き起こす phencyclidine (PCP) または methamphetamine (MAP) を投与したマウス (雄 C57BL/6J) を用い、行動変化を室町機械製スーパーメックスで計測した⁶⁾。細胞外 D-セリンは *in vivo* ダイアリシス法を用い、自由運動下のマウス前頭葉の白質 (forceps minor) または灰白質 (medial frontal cortex) から細胞外液を回収し、キラルアミノ酸を蛍光検出器付 HPLC により分離・定量することによって解析した^{2, 3, 4, 5)}。

なお、本研究の動物を用いた実験は、東京医科歯科大学倫理委員会 (動物実験委員会) の承認を得て行った。

【結 果】

CP-AMPA 受容体選択的遮断薬 IEM1460 (5~20mg/kg、皮下投与 (s.c.)) により、基礎的活動量が変化することなく、NMDA 受容体遮断薬 PCP (7.5mg/kg、s.c.) が引き起こす過剰な活動が用量依存的に抑制された [一部 6 で発表]。また、

IEM1460(20mg/kg, s.c.)はドーパミン作動薬の MAP(4.8mg/kg, s.c.)または NMDA 受容体遮断薬 MK-801(0.5mg/kg, s.c.)の投与後に見られる行動量増加を低下させた[一部 6 で発表]。

マウス前頭葉においては、グリアが豊富な白質とニューロンが中心の灰白質の細胞外液中 D-セリン濃度には有意な差が認められず、いずれも神経活動を刺激する脱分極剤の veratridine 灌流によって対照群(リンゲル液)に比して減少し、神経伝導遮断薬の tetrodotoxin により上昇傾向を示した。

【考 察】

以上の行動薬理学的実験結果から、CP-AMPA 受容体遮断が、統合失調症の NMDA 受容体機能低下モデル・ドーパミン伝達亢進モデルの双方に対して改善作用を持つことがわかり、統合失調症の治療に役立つ可能性が支持された。さらに詳しい行動解析を行っており、今後、治療効果が見られる精神症状に関する情報が得られることが期待される。

In vivo ダイアリスのデータは、ヒトの脳皮質白質と灰白質の組織中 D-セリン濃度が同等⁷⁾であることと矛盾しない。また、脱分極によって、同時に測定した神経伝達物質アミノ酸の L-Glu が著明に増加したため、細胞外 D-セリンは白質、灰白質ともに神経伝達物質とは異なる調節を受けることが示唆された。細胞外 D-セリン濃度は、グリアの活動性低下によっても低下することを考え合わせると、白質および灰白質においてグリアとニューロンの双方によって制御されていると推測される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究計画は、統合失調症の新規治療法開発に関するトランスレーショナルレサーチの一環として位置づけられる。ここで見出された、脳内 D-セリンの細胞外濃度を調節するカルシウム透過性 AMPA 受容体の遮断薬の抗 PCP および抗 MAP 作用から、NMDA 受容体機能の回復や維持をもたらす、新しい作用メカニズムの統合失調症治療薬の標的分子の手がかりが得られたと考えられる。また、統合失調症患者における上記関連分子の変化を明らかにすることは、臨床応用の際の標的分子としての合理性の評価に役立つと考えられる。

【参考・引用文献】

1. Nishikawa T. Analysis of free D-serine in mammals and its biological relevance. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 879:3169–3183, 2011.
2. Ishiwata S, Umino A, Balu D, Coyle JT, Nishikawa T. Neuronal serine racemase regulates extracellular D-serine levels in the adult mouse hippocampus, *J Neural Transm*, 122(8):1099–1103, 2015.
3. Umino M, Umino A, Nishikawa T. Effects of a selective antagonist of the calcium-permeable AMPA receptor antagonist on phencyclidine- and methamphetamine-induced hyperactivity in the mouse. *J Neural Transm*, 125(4):705–711, 2018.
4. Umino A, Ishiwata S, Iwama H, Nishikawa T. Evidence for Tonic Control by the GABAA Receptor of Extracellular D-Serine Concentrations in the Medial Prefrontal Cortex of Rodents. *Front Mol Neurosci*, 2017.
5. Ishiwata S, Umino A, Nishikawa T. Involvement of neuronal and glial activities in control of the extracellular D-serine concentrations by the AMPA glutamate receptor in the mouse medial prefrontal cortex. *Neurochem Int.* 119: 120–125.
6. Ishiwata S, Umino A, Umino M, Yorita K, Fukui K, Nishikawa T. Modulation of extracellular d-serine content by calcium permeable AMPA receptors in rat medial prefrontal cortex as revealed by in vivo microdialysis. *Int J Neuropsychopharmacol Jul;16(6):1395–406*, 2013.
7. Kumashiro S, Hashimoto A and Nishikawa T. Free D-serine in post-mortem brains and spinal cords of individuals with and without neuropsychiatric diseases. *Brain Res.* 681: 117–125, 1995.