

# 統合失調症の病態進行過程における ラモトリギンの影響に関する研究

－精神刺激薬モデルの観点から－

## 学位論文内容の要旨

【背景と目的】 統合失調症は common disease であり、その効果的な治療法の開発は急務の課題である。現在、統合失調症のドーパミン仮説を基に、統合失調症の治療にはドーパミン D<sub>2</sub> 型受容体遮断作用を有する治療薬（抗精神病薬）が使用されているが、抗精神病薬に反応しない統合失調症の治療には難渋している。統合失調症の急性期症状が改善した後は、統合失調症の再燃・再発防止目的で抗精神病薬の長期使用が推奨されている。しかし、抗精神病薬の長期使用によって不可逆的な運動障害が生じることは少なくない。そのためドーパミン D<sub>2</sub> 型受容体遮断作用以外の作用を持つ、長期的な副作用が少ない統合失調症治療薬が求められている。

メタンフェタミン (METH) などの精神刺激薬を用いた動物モデル（覚醒剤モデル）は統合失調症の病態の一部を反映しており、治療薬のスクリーニングに広く用いられている。しかし、統合失調症の症状および経過は一律ではなく、症状や病期に応じた治療法の使い分けが必要と考えられる。我々のグループは、①発病当初はドーパミン D<sub>2</sub> 型受容体遮断薬に反応するが再燃・再発を繰り返すうちにドーパミン D<sub>2</sub> 型受容体遮断薬に反応を示さなくなり、②認知機能障害が進行していき、③脳萎縮が進行する、という統合失調症の病態進行に着目した。我々のグループが開発した病態進行動物モデルではこの統合失調症の病態進行に類似した行動 [METH と N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体遮断薬である dizocilpine (MK-801) に対する行動感作形成、prepulse inhibition (PPI) 障害の形成] および神経組織学的変化 [terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) 染色陽性細胞の惹起] が認められる。そのため、この病態進行動物モデルは統合失調症治療薬の新たなスクリーニングツールとして有用であると考えている。また、これまでの脳内微小透析実験の結果から、統合失調症の病態進行への細胞外グルタミン酸濃度増加の関与が推測される。

本研究は、この病態進行動物モデルを用いて、グルタミン酸放出抑制作用を有する抗てんかん薬であるラモトリギン (LTG) が統合失調症の病態進行の基盤にあると推定される行動学的 (NMDA 受容体遮断薬に対する行動感作形成と PPI 障害の形成) および神経組織学的変化 (TUNEL 染色陽性細胞の惹起) に及ぼす影響を調べることを目的として行った。

【材料と方法】 実験動物として Sprague-Dawley 系雄性ラットを用いた。薬剤として METH、LTG と MK-801 を用いた。移所運動量測定には受動型赤外線センサーで水平方向の運動量を測定する SUPERMEX を使用し、PPI 測定には音刺激による驚愕反応を測定する SR-LAB system

を用いた。脳内微小透析法で回収した人工脳脊髄液は液体クロマトグラフィーを用いて解析し、グルタミン酸濃度を測定した。

一連の実験で使用する LTG の用量を決定する目的で、METH 2.5 mg/kg 投与 2 時間後に LTG 10 mg/kg および 30 mg/kg をラットに投与し移所運動量を測定した。次に、METH の反復投与に対する LTG の反復併用投与の影響を検討する目的で、METH 2.5 mg/kg と LTG の反復併用投与の後、十分な離脱期間を置いた時点での、METH 0.2 mg/kg または MK-801 0.15 mg/kg 投与後の移所運動量変化、PPI および内側前頭前野 (mPFC) における TUNEL 陽性細胞数を測定した。また、METH 2.5 mg/kg 急性投与後遅発性に生じる細胞外グルタミン酸濃度の上昇に対する LTG の影響も検討した。

**【結果】** METH 2.5 mg/kg 投与 2 時間後の LTG 30 mg/kg および 10 mg/kg 投与は移所運動量に影響を与えなかったため、一連の実験において LTG 30 mg/kg を使用した。移所運動量測定では、METH 2.5 mg/kg の反復投与によって METH および MK-801 への感受性亢進が形成された。LTG 30 mg/kg の反復併用投与は METH 2.5 mg/kg による MK-801 への感受性亢進形成を阻止した。驚愕反応測定では、METH 2.5 mg/kg の反復投与によって PPI 障害が形成された。LTG 30 mg/kg の反復併用投与は METH 2.5 mg/kg の反復投与による PPI 障害の形成を阻止し、LTG 30 mg/kg の単回投与は METH 2.5 mg/kg の反復投与により形成された PPI 障害の発現を抑制した。TUNEL 染色法を用いた検討では、METH 2.5 mg/kg の反復投与は mPFC での TUNEL 染色陽性細胞数を増加させたが、LTG 30 mg/kg の反復併用投与はその増加を阻止した。また、脳内微小透析法を用いた細胞外グルタミン酸濃度の測定では、METH 2.5 mg/kg は mPFC において遅発性の細胞外グルタミン酸濃度上昇を惹起したが、METH 2.5 mg/kg 投与 120 分後の LTG 30 mg/kg 投与により、その遅発性の細胞外グルタミン酸濃度上昇は抑制された。

**【考察】** 内側前頭前野において細胞外グルタミン酸濃度を増加させうる量である METH 2.5 mg/kg の反復投与で惹起される MK-801 に対する行動感作形成、PPI 障害形成ならびに mPFC での TUNEL 陽性細胞数増加の 3 現象を LTG の反復併用投与が阻止したことより、LTG は統合失調症の病態進行の基盤を阻止する有用な薬剤であることが示唆された。METH による細胞外グルタミン酸濃度上昇を LTG が抑制したことより、LTG はこの抑制機序を介して、METH 反復投与で惹起される行動変化ならびに神経組織的变化を阻害した可能性がある。しかし、LTG にはグルタミン酸放出抑制作用以外にも gamma-aminobutyric acid 放出促進作用を有することなども報告されているため、本実験における LTG の作用機序についても更なる検討が必要である。

**【結論】** LTG と METH の反復併用投与は、METH 反復投与による行動異常ならびに神経組織学的異常の形成を阻止した。本研究の結果より、LTG は統合失調症の病態進行の阻止に対して有用な治療薬になりうると考えられた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 岡 充 弘  
副 査 教 授 小 山 司  
副 査 教 授 田 中 真 樹  
副 査 教 授 本 間 さ と  
副 査 教 授 渡 邊 雅 彦

学 位 論 文 題 名

## 統合失調症の病態進行過程における

## ラモトリギンの影響に関する研究

－精神刺激薬モデルの観点から－

統合失調症治療では、ドパミン受容体遮断作用を有する治療薬（抗精神病薬）が使用されているが、長期的なドパミン受容体遮断は不可逆的運動障害を生じうる。そのためドパミン受容体遮断以外の作用を持つ、統合失調症治療薬が求められている。本研究では、①発病当初はドパミン受容体遮断薬に反応するが再燃・再発を繰り返すうちにドパミン受容体遮断薬に反応を示さなくなり、②認知機能障害が進行していき、③脳萎縮が進行する、という統合失調症の病態進行に着目し、新たな統合失調症の病態進行動物モデルを用いて研究を行った。本モデルは、統合失調症の病態進行に類似した行動 [METH と N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体遮断薬であるジゾシルピンに対する交差行動感作形成、prepulse inhibition 障害形成] および神経組織学的変化 (TUNEL 陽性細胞の惹起) を表現している。本研究は、この病態進行動物モデルを用いて、抗てんかん薬であるラモトリギンが統合失調症の病態進行の基盤にあると推定される行動学および神経組織学的変化に及ぼす影響を調べることを目的として行われた。本研究の結果、ラモトリギンが、①メタンフェタミン急性投与後遅発性に生じる細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制し、メタンフェタミンの反復投与後に生じ、②ジゾシルピンに対する交差行動感作形成、③PPI 障害の形成およびその発現、④内側前頭前野における TUNEL 陽性細胞の惹起を抑制することが確認された。本研究より、ラモトリギンは統合失調症の病態進行基盤を阻止する有用な薬剤であることが示唆され、その臨床的応用が期待できる薬剤であると考えられた。

質疑応答では、渡辺雅彦教授から、ドパミンがグルタミン酸を放出させる機序について質問があった。これに対して申請者は、覚醒剤によるグルタミン酸濃度上昇はカルシウム independent であるため神経細胞からの放出ではなく、ナトリウム依存性のグルタミン酸トランスポーターを

介しての細胞外グルタミン酸濃度上昇が関与していると回答した。田中真樹教授からは、内側前頭前野での apoptosis をみているが統合失調症患者で前頭葉以外の部位、特にドパミン放出が亢進していてサーキットの一部である線状体の萎縮の有無についての質問があった。これに対して申請者は、現在統合失調症で脳萎縮が確認されている部位は左上側頭回や前頭前野皮質であり、統合失調症の画像研究で線状体の萎縮は確認されていないと回答した。本間さと教授から、グルタミン酸の放出を抑制するラモトリギンの機序についての質問があった。これに対して申請者は、ラモトリギンが神経細胞膜上にある sodium channel に直接作用して、その脱分極からの回復を遅延させることにより神経細胞膜を安定化させ、グルタミン酸の放出を抑制すると回答した。吉岡充弘教授からは、内側前頭前野での apoptosis について、内側前頭前野を腹側と背側に分けて検討を行ったか否かとの質問があった。これに対して申請者は、今回の研究では内側前頭前野をひとまとめにして観察検討しているが、内側前頭前野の腹側と背側の機能に違いがあることが示唆されているので、今後の検討課題としたいと回答した。次いで、小山司教授からは、本研究を踏まえての今後の展望について質問があった。これに対して申請者は、統合失調症の病態進行に関わる詳細な分子メカニズムの検討、統合失調症の病態進行に対するラモトリギンの効果の臨床的検討と本動物モデルを用いた新規統合失調治療薬のスクリーニングを実施する予定であると回答した。

本論文は、統合失調症の病態進行を的確に捉えた新しい動物モデルを用いて、統合失調症の病態進行を正確に基礎実験に反映している。また、その理論の展開も精巧かつ現実的で、最終的には実験結果を臨床に反映させる考察もなされている。上述した患者群の病態メカニズムの解明とその防止に関する臨床及び基礎研究の総合的な論文として高く評価される。今後、統合失調症患者の病態の進行防止に関する前方視的な調査などの臨床応用によって、本患者群の病態進行の防止が可能となることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。