

201027099A

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業・精神障害分野

# 精神障害者に対する包括的禁煙対策の確立

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岸本年史

平成 23 年（2011 年）5 月

# 目 次

## I. 総括研究報告書

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| 精神障害者における包括的禁煙対策の確立 . . . . . | 5 |
| (研究代表者) 奈良県立医科大学 精神医学講座 岸本 年史 |   |

## II. 分担研究報告書

|   |    |
|---|----|
| 1. 活性酸素とニコチン依存の実験的研究 . . . . .                  | 11 |
| (分担研究者) 熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学分野 赤池 孝章             |    |
| 2. 統合失調症患者の喫煙に関する予後の疫学調査 . . . . .              | 16 |
| (分担研究者) 成増厚生病院 院長 新貝 憲利                         |    |
| 3. 統合失調症における長期禁煙が統合失調症 . . . . .                | 21 |
| (研究代表者) 奈良県立医科大学 精神医学講座 岸本 年史                   |    |
| 4. 精神障害者の禁煙プロトコール及び精神科病院の禁煙化のロードマップ作成 . . . . . | 23 |
| (分担研究者) 奈良女子大学 保健管理センター 高橋 裕子                   |    |
| 5. 多能性幹細胞誘導 (iPS 細胞) を用いた実験的研究 . . . . .        | 27 |
| (分担研究者) 奈良県立医科大学 精神医学講座 深見 伸一                   |    |

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . . | 29 |
|-------------------------------|----|

# 1. 総括研究報告書



## 精神障害者に対する包括的禁煙対策の確立

研究代表者 岸本年史 奈良県立医科大学精神医学講座 教授

### 研究要旨

我が国での禁煙の動きとしては平成12年に健康日本21が公表され、平成15年には健康増進法の制定により受動喫煙の防止が義務づけられた。かかる状況において精神障害者の喫煙対策が健常人と同様に行われる必要があるが、統合失調症患者やうつ病患者では喫煙率が高く、また禁煙の成功率が低いことが知られており、精神障害者の禁煙治療、さらに精神科病院での敷地内全面禁煙を行うことは容易ではない。財団法人日本医療機能評価機構による病院機能評価では、「全面禁煙」が基準である中、精神科ではそれが当てはめられておらず、精神科病院での禁煙化には慎重な姿勢が見られる。しかし、精神科における禁煙化も徐々に進んでおり、大学医学部附属病院の精神科病棟では、77の精神科病棟のうち52の病棟で全面禁煙が実施されており、精神科病院においても、敷地内禁煙に成功している例も見られ始めており、これらの病院を調査することは意義深いと考える。

統合失調症患者に対してのニコチンの効果については、これまで我々が行った研究で、喫煙により感覚情報処理機能が改善することが示され、また、他の研究でも、抗精神病薬による副作用を軽減させる作用や、認知機能を改善させる作用が報告されており、ニコチンの有効性も明らかとなってきた。このような統合失調症への保護的な役割の一方で、統合失調症患者の寿命が一般人口より20%ほど短く、死因の主たる原因は心血管障害であることが報告されており、また、我々の研究により喫煙者に再入院率が高いことから予後へ悪影響を及ぼすことも示され、精神科における禁煙対策は重要である。

我々はこれまでに動物実験によるニコチンと統合失調症の相互作用において、その行動に影響を与える遺伝子を同定し、また、喫煙、統合失調症の双方に関連のある酸化ストレスについての研究も進めてきた。以上の点を踏まえ、本研究では、様々な観点から総合的に精神科禁煙対策を提言することを目的とし、具体的には以下のような検討を行う。1) 精神疾患を有する喫煙者への治療プロトコルの作成及び、治療の現状を踏まえた精神病棟を有する病院での禁煙化のロードマップを作成する。2) 統合失調症患者への喫煙の影響をプロスペクティブに評価し、精神症状、社会的能力などの予後への影響について調査する。3) ヒトにおける統合失調症とニコチンの相互作用に関連する遺伝子の解析と酸化ストレスとの関連を調査する。

**赤池孝章**分担研究者は活性酸素とニコチン依存の実験的研究を行った。

喫煙は生体に活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）などをもたらし、様々な病態に関与することが知られている。我々はこれまで種々の感染・炎症モデルを用いて、NO・ROSによる蛋白質、核酸、脂質といった生体分子の酸化・ニトロ化修飾による酸化ストレスにつ

いて解析を行ってきた。その結果、内因性あるいは外来性の NO と活性酸素によって、3-ニトロチロシン (3-NT) や、NO の2次シグナル分子である cGMP がニトロ化された新しい環状ヌクレオチドである 8-ニトロ-cGMP が生成することを、免疫組織染色法や HPLC-電気化学検出 (ECD) 法により証明し、酸化ストレスのバイオマーカーとしての有用性について報告した。近年、統合失調症の病態形成に酸化ストレスが関与していることが指摘され、とくに喫煙が病態に及ぼす影響について関心が高まっている。そこでまず、喫煙に伴う酸化ストレスを評価するために、統合失調症症例と健常喫煙者を対象として、血漿蛋白質中の 3-NT レベルを解析した。その結果、2 例の喫煙者において比較的高いレベルの 3-NT を検出した。次に、神経細胞における 8-ニトロ-cGMP の生成について、ニコチンとの関連性に着目して解析を行ったところ、神経型 NO 合成酵素に依存してその生成が誘導されることがわかった。今後さらに症例数を増やし、喫煙による 3-NT レベルと統合失調症の病勢との関連性について検討するとともに、シグナル分子 8-ニトロ-cGMP の、ニコチンによる産生誘導メカニズムとそのシグナルの下流の反応について詳細な解析を進める予定である。

**新貝憲利分担研究者**は統合失調症患者の予後に対して、喫煙が与える影響について調査を行った。

我々の以前行った後方視的な調査では、統合失調症において喫煙群が非喫煙群に比べて再入院率が高いというものであり、喫煙により統合失調症の予後が悪化する可能性が考えられる。今回はこのことについて前方視的に調査を行った。入院中の統合失調症患者を対象とし、その退院時をベースライン、再入院をエンドポイントと設定し、その間の精神症状の変化について喫煙群と非喫煙群にわけて検討した。平成 22 年 3 月 31 日時点で、全退院患者 159 名のうち、フォロー可能で同意を得られた患者は 60 名であった。今後も引き続き経過を追っていく。

**高橋裕子分担研究者**は精神障害者の禁煙プロトコール及び精神科病院の禁煙化のロードマップ作成を目標としつつ、精神障害を有する患者に対しての禁煙対策・禁煙治療の成果と限界を明確化するとともに、精神科病棟や外来における禁煙対策・禁煙治療のあり方を提言することを最終目標としている。

昨年までの本研究において、禁煙治療に関しては精神障害者の禁煙外来受診時での禁煙成功率が低く、潜在的鬱状態が禁煙不成功の要因であり鬱係数は喫煙状況のパラメーターと関連強いことが示唆された。また精神科医療機関の禁煙化実態調査から、先進的に取り組んだ病院に比して最近の禁煙化では混乱が少なかったことが示唆された。

今年度はさらに調査病院数を増やすとともに、精神科救急医療を実施している病院を含めた実態調査とすることで精神科病棟の禁煙化の障碍の所在を明確にすることを試みた。また禁煙外来受診者の疾患別禁煙成功率から、精神障害者の禁煙治療には元疾患に応じた対応が必要とされることが示唆された。

**谷垣健二分担研究者**は統合失調症モデルマウスを用いて QTL 解析を行い統合失調症様行動を修飾するニコチン感受性遺伝子同定を行った。

今までに、NMDA 受容体拮抗薬 MK801 による pre-pulse inhibition の障害、行動量亢進の異常といった統合失調症様行動異常とニコチンの急性投与、慢性投与の相互作用が遺伝学的背景の違いに大きな影響を受けることを見出してきた。今回、我々は、ヒトで高頻度で統合失調症を発症する 22q11 欠損症候群のモデルマウスを用い、その統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用と遺伝的背景の関与の検討を行なった。その結果、22q11 関連領域の欠損による行動異常とニコチンの相互作用が遺伝的背景の違いから受ける影響は、MK801 による統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用が受けるものとは異なることが明らかとなった。このことは、統合失調症のサブタイプの違いにより、その行動異常を修飾する遺伝子群が大きく異なることを示唆している。

**深見伸一**分担研究者は多能性幹細胞誘導 (iPS 細胞) を用いた実験的研究を行った。

統合失調症を罹患する患者の喫煙率は、社会的要因等を勘案しても突出して高率であり、しかもヘビースモーカーであることが知られている。禁煙の成功率も低率であることから何らかの生物学的要因が存在すると考えられている。死後脳研究から、統合失調症患者において様々な喫煙に関与するタンパク質や mRNA の発現の増減が健常者に比較して報告されているが、加齢の影響や性差などに加え投薬の影響もあり厳密な対照をとることは困難である。中枢神経系の細胞を直接採取することも困難であるため、我々は人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 作製技術を用い統合失調症患者由来のニューロンを作製することを試みた。健常者、統合失調症患者各 2 名より iPS 細胞の樹立を行い、ニューロン誘導培養系の確立に成功した。しかしながら、誘導時間に多くの時間を必要とするため、さらに短期間で誘導可能な培養系の確立も平行して試みている。

**岸本**研究代表者は長期禁煙が統合失調症に与える影響について、精神症状、感覚情報処理機能の変化を評価することで検討した。

これまでに、統合失調症患者を対象に、短期間の禁煙後の再喫煙による影響について感覚情報処理機能を指標に評価した結果、再喫煙により、改善する傾向があることが示された。今回は長期間の禁煙が精神症状、感覚情報処理機能などにどのような影響を与えるかを検討する。「禁煙治療のための標準手順書 (第 4 版)」に基づきバレニクリンを用いて 12 週間の禁煙治療を行い、この間の精神症状、感覚情報処理機能の変化について検討をおこなった。これまでに 4 名に禁煙治療を導入したが、2 名は途中で中止となり、2 名は現在進行中である。今後は、症例数の確保の方法を検討し、さらに症例を増やしすすめていく予定である。

#### ◆分担研究者

赤池孝章：熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学分野 教授  
新貝憲利：医療法人社団翠会成増厚生病院 院長  
高橋裕子：奈良女子大学保健管理センター 教授

谷垣健二：滋賀成人病センター研究所 専門研究員

深見伸一：奈良県立医科大学精神医学講座 助教

**<健康危険情報>**

特記事項なし

# II. 分担研究報告書



## 活性酸素とニコチン依存の実験的研究

研究分担者 赤池孝章 熊本大学大学院生命科学研究部 微生物学分野 教授

### 研究要旨

喫煙は生体に活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）などをもたらし、様々な病態に関与することが知られている。我々はこれまで種々の感染・炎症モデルを用いて、NO・ROSによる蛋白質、核酸、脂質といった生体分子の酸化・ニトロ化修飾による酸化ストレスについて解析を行ってきた。その結果、内因性あるいは外来性のNOと活性酸素によって、3-ニトロチロシン（3-NT）や、NOの2次シグナル分子であるcGMPがニトロ化された新しい環状ヌクレオチドである8-ニトロ-cGMPが生成することを、免疫組織染色法やHPLC-電気化学検出（ECD）法により証明し、酸化ストレスのバイオマーカーとしての有用性について報告した。近年、統合失調症の病態形成に酸化ストレスが関与していることが指摘され、とくに喫煙が病態に及ぼす影響について関心が高まっている。そこでまず、喫煙に伴う酸化ストレスを評価するために、統合失調症症例と健常喫煙者を対象として、血漿蛋白質中の3-NTレベルを解析した。その結果、2例の喫煙者において比較的高いレベルの3-NTを検出した。次に、神経細胞における8-ニトロ-cGMPの生成について、ニコチンとの関連性に着目して解析を行ったところ、神経型NO合成酵素に依存してその生成が誘導されることがわかった。今後さらに症例数を増やし、喫煙による3-NTレベルと統合失調症の病勢との関連性について検討するとともに、シグナル分子8-ニトロ-cGMPの、ニコチンによる産生誘導メカニズムとそのシグナルの下流の反応について詳細な解析を進める予定である。

### A. 研究目的

タバコの煙には2000種類以上もの様々な化学物質が含まれており、直接的に、あるいは間接的に生体に多彩な影響を及ぼすことが知られている。例えば、ニコチンは、アセチルコリンのアゴニストとして神経系において様々な生理・病理効果を示し、また、タバコの煙に含まれる一酸化窒素（NO）や活性酸素種（ROS）は呼吸器系をはじめとする様々な病態に関与することが示唆されている。我々は、様々な病態下で内因性に産生されるNO・ROSや、喫煙に伴う外来性のNO・ROSによって、蛋白質、核酸塩基、脂質といった生体分子が化学修飾（酸化ストレス）を受け、3-ニトロチロシン（3-NT）や8-ニトログuanin関連化合物が生じることを報告してきた。後者、なかでも8-ニトロ

-cGMPは、NOの2次メッセンジャーであるcGMPがニトロ化された新規環状ヌクレオチドであり、3-NTと同様、NO・ROSに依存して生体内で生じる。8-ニトロ-cGMPはプロテインキナーゼGの活性化といったcGMP本来の働きのほか、ホスホジエステラーゼ耐性、細胞膜透過性、レドックス活性といった元のcGMPには見られない特有の性質を持ち、さらに蛋白質のシステイン残基にcGMPを付加するというユニークな蛋白質翻訳後修飾（S-グアニル化）を介して、酸化ストレス応答の2次シグナル分子として働くことがわかってきた。

近年、統合失調症の病態形成に酸化ストレスが関与していることが報告され、本症に対する喫煙の影響について関心が高まっているが、これらニトロ化生体分子の生体内、特に神経系での生成機

序やその役割については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、まず 3-NT の血漿中レベルを解析し、統合失調症と喫煙に伴う酸化ストレスの指標としての有用性について検討した。さらに、神経細胞における 8-ニトロ-cGMP の生成についてニコチンとの関連性に着目して解析を行った。

## B. 研究方法

1) 2009 年に奈良県立医科大学病院にて加療を受けた統合失調症症例 (喫煙者 4 例, 非喫煙者 3 例) と健常喫煙者 (2 例) を対象とし、血漿蛋白質中の 3-NT レベルを、HPLC-電気化学検出器 (ECD) 法にて解析した。

2) ラット小脳顆粒初代培養細胞 (Cerebellar Granule Cell, 以下 CGC) を、生後 9-10 日齢の Wistar rat より調製し、12 日間培養を行った。水に溶解したニコチン (終濃度 50  $\mu\text{M}$ , コントロールとして水のみ) を培地に加え、さらに 24 時間培養した。8-ニトロ-cGMP 特異的モノクローナル抗体 (1G6 ; 10  $\mu\text{g/ml}$ ) を用いた蛍光免疫染色法により、8-ニトロ-cGMP の産生誘導の有無について解析した。

3) ニコチンによる 8-ニトロ-cGMP 産生誘導における神経型 NO 合成酵素 (nNOS) の関与を検討するため、神経細胞のモデル細胞として用いられているラット副腎皮質褐色細胞 (PC12 細胞) に、nNOS を恒常的に発現させた nNOS 発現 PC12 細胞株を用いて 8-ニトロ-cGMP の産生を解析した。コントロールとしては、lacZ 発現 PC12 細胞株を用いた。ニコチンを終濃度 50  $\mu\text{M}$  で、0~24 時間処理し、蛍光免疫染色法で 8-ニトロ-cGMP の産生を解析した。

### (倫理面への配慮)

本研究は、奈良県立医科大学倫理委員会の承認を受けた上で実施された。

## C. 研究結果

1) 研究対象とした症例の喫煙状況と 3-NT の測定

結果を表 1 に示す。2 例の喫煙者 (統合失調症症例, 健常者各 1 例) に高いレベルの 3-NT を検出した。統合失調症喫煙者群の 3-NT レベルは、 $0.86 \pm 0.49 \mu\text{mol/mol}$  で、統合失調症非喫煙者群の  $0.44 \pm 0.17 \mu\text{mol/mol}$ , 健常喫煙者群の  $0.52 \pm 0.57 \mu\text{mol/mol}$  に比べて高い傾向が見られたが、有意差は認めなかった (図 1)。

2) 蛍光免疫染色の結果、ニコチン処理した CGC では、強い 8-ニトロ-cGMP の免疫反応を細胞質に認めた。軸索の反応性は非常に弱かった。一方、ニコチン処理しない細胞では 8-ニトロ-cGMP の免疫反応性を認めなかった。

3) nNOS 発現 PC12 細胞株においては、ニコチン処理後 10 分で 8-ニトロ-cGMP が検出され、24 時間までその産生が維持されていた。コントロール細胞では、8-ニトロ-cGMP が検出されなかったことから、ニコチン誘導性 8-ニトロ-cGMP 産生には、nNOS が必須であることが示唆された。

## D. 考案

まず、血漿蛋白質中の 3-NT レベルについては、喫煙によって増加する傾向が見られ、特に 2 例の喫煙者 (統合失調症症例, 健常者各 1 例) において高いレベルの 3-NT を検出した。今後症例を集積し、統合失調症における喫煙に伴う酸化ストレスの指標としての有用性についてさらに検討したい。

次に今回、ニコチンの新しい作用として、神経細胞に作用して 8-ニトロ-cGMP 産生を誘導することを見いだした。この応答は、ニコチン処理後 10 分という短い時間で見られることから、nNOS の mRNA や蛋白質レベルでの誘導ではなく、酵素活性自体に影響を与えているものと推測される。今後 nNOS の活性発現に必要な細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度に対するニコチンの影響について検討する。

8-ニトロ-cGMP の生成が神経系においてどのような生理活性を発揮するかについては今後の検討課題であるが、例えば、シナプス小胞関連蛋白質の S-グアニル化を介した神経伝達物質の開口放出

に対する調節作用や、酸化ストレス応答を司る転写調節因子 Keap1 の S-グアニル化を介した細胞保護因子の誘導作用などを見いだしている。これらの結果は、喫煙が精神・神経系に及ぼす生理的あるいは病的な作用を理解する上で重要な知見であると考えている (図2)。

## E. 結論

統合失調症症例における血漿蛋白質中の 3-NT を HPLC-ECD 法により、検出・定量することに成功した。また神経細胞において、ニコチンが活性酸素の 2 次シグナル分子である 8-ニトロ-cGMP を誘導することも明らかにした。今後、喫煙に伴う酸化ストレスが統合失調症の病態に及ぼす影響について、脂質過酸化反応の指標であるアルデヒド (4-ヒドロキシノネナルやアクロレイン等) 修飾蛋白質の生成なども含め、さらに総合的な解析を進めていく予定である。

## F. 健康危険情報：特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hideshi Ihara, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomoaki Ida, Shingo Kasamatsu, Kouhei Kunieda, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Methodological proof of immunochemistry for specific identification of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formed in glia cells. Nitric Oxide. in press, 2011.
2. Hideshi Ihara, Tomohiro Sawa, Yusaku Nakabeppu, Takaaki Akaike. Nucleotides function as endogenous chemical sensors for oxidative stress signaling. J Clin Biochem Nutr 48: 1-7, 2011.
3. Yuki Kurauchi, Akinori Hisatsune, Yoichiro Isohama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Koichi Shudo, Hiroshi Katsuki. Midbrain dopaminergic neurons

utilize nitric oxide/cyclic GMP signaling to recruit ERK that links retinoic acid receptor stimulation to up-regulation of BDNF. J Neurochem 116: 323-333, 2011.

4. Yoshiko Tokutomi, Keiichiro Kataoka, Eiichiro Yamamoto, Taishi Nakamura, Masaya Fukuda, Hisato Nako, Kensuke Toyama, Yi-Fei Dong, Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Shokei Kim-Mitsuyama. Vascular responses to 8-nitro-cyclic GMP in nondiabetic and diabetic mice. J Pharmacol 162: 1884-1893, 2011.
5. Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Kit I. Tong, Tomoaki Ida, Tatsuya Okamoto, Ahmed Khandaker Ahtesham, Yu Ishima, Hozumi Motohashi, Masayuki Yamamoto, Takaaki Akaike. The critical role of nitric oxide signaling, via protein S-guanylation and nitrated cyclic GMP, in the antioxidant adaptive response. J Biol Chem. 285: 23970-23984, 2010
6. Takaaki Akaike, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara. Cell signaling mediated by nitrated cyclic guanine nucleotide. Nitric Oxide. 23: 166-174, 2010.
7. Tatsuya Okamoto, Shahzada Khan, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. A new paradigm for antimicrobial host defense mediated by a nitrated cyclic nucleotide. J Clin Biochem Nutr. 46: 14-19, 2010.
8. Tomohiro Sawa, Hiorokazu Arimoto, Takaaki Akaike. Regulation of redox signaling involving chemical conjugation of protein thiols by nitric oxide and electrophiles. Bioconjug Chem. 21: 1121-1129, 2010.
9. Tatsuya Okamoto, Mohammad Hasan Zaki, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Nitric oxide-mediated host immune response and microbial pathogenesis. Nitric Oxide Synthase

- Inhibitors: From Animal Studies to Clinical Implications (Tunctan B. Editor) in press, 2010.
10. Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides. □ Amino Acids. in press, 2010.
  11. Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Takaaki Akaike. Antioxidant effect of a nitrated cyclic nucleotide functioning as an endogenous electrophile. Current Topics Med Chem. in press, 2010.
  12. Yu Ishima, Shuichi Hiroyama, Ulrich Kragh-Hansen, Toru Maruyama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, Toshiya Kai, and Masaki Otagiri. One-step preparation of S-nitrosated human serum albumin with high biological activities. Nitric Oxide. 23: 121-127, 2010.
  13. 澤智裕, 小野勝彦, 赤池孝章. 活性酸素・一酸化窒素によるニトロ化シグナルと抗炎症作用. 感染・炎症・免疫. 41: 12-19, 2011.
  14. 藤井重元, 澤智裕, 赤池孝章. 8-Nitro-cGMP の発見と生理機能の解明. 化学と生物. 48: 22-27, 2010.
  15. 澤智裕, 赤池孝章. 毒性説から脱した活性酸素研究-シグナル分子としての活躍-. 現代化学. 469: 34-38, 2010.
  16. 岡本竜哉, 赤池孝章. 呼吸器疾患における酸化ストレスと制御シグナルの分子基盤: Molecular mechanisms of nitric oxide- and reactive oxygen species-mediated signalings in the respiratory diseases. 呼吸. 29: 859-866, 2010.
  17. 岡本竜哉, 澤智裕, 赤池孝章. Nitric oxide (NO) および NO 関連物質. 日本臨床増刊号広範囲血液・尿化学検査, 免疫学的検査-4. 982: 839-842, 2010.
1. Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Katsuhiko Ono, Tatsuya Okamoto, Philip Eaton, Takaaki Akaike. A unique signal transduction of NO and ROS mediated by cGMP-depend-ent protein kinase activated via S-guanylation. 第26回臨床フリーラジカル会議 (2010年1月, 大津)
  2. 赤池孝章. NO・活性酸素のヌクレオチドセンサーと親電子シグナル形成. 第83回日本薬理学会年会 (2010年3月, 大阪)
  3. Ahmed Khandaker Ahtesham, Katsuhiko Ono, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Nitrated 3',5'-cyclic diguanylic acid as a potential second messenger in bacteria. 第10回日韓国際微生物学シンポジウム(2010年3月, Yokohama, Japan)
  4. Takaaki Akaike. A New Paradigm for Antimicrobial Host Defense Mediated by NO and ROS: A Critical Role of Nitrated Nucleotides. 第83回日本細菌学会総会 (2010年3月, 横浜)
  5. Takaaki Akaike. Protein S-guanylation: a new post-translational regulation for redox signaling. The 20th World Congress of the International Society for Heart Research (2010年5月, Kyoto, Japan)
  6. Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Mie Tateyama, Shoji Kawachi, Thuy Thi Bich Phung, Liem Thanh Nguyen, Kazuo Suzuki, Takaaki Akaike. Detection of protein-bound 3-nitrotyrosine in plasma from pediatric patients with fulminant ARDS and avian influenza infection. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010年6月, Kyoto, Japan)
  7. Ahmed Khandaker Ahtesham, Tomohiro Sawa, Tomoaki Ida, Hideshi Ihara, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike. Chemical basis for mechanism of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic

2. 学会発表

monophosphate formation in cells. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010年6月, Kyoto, Japan) .

8. Shahzada Khan, Tatsuya Okamoto, Tomohiro Sawa, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike. Guanine nitration and oxidative stress responses during influenza virus pneumonia in mice. 6th International Conference on Biology, Chemistry and Therapeutic applications of NO 2010 (2010年6月, Kyoto, Japan)
9. Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Hideshi Ihara, Takaaki Akaike. Critical roles of nitric oxide signaling via 8-nitro-cGMP-induced protein S-guanylation in antioxidant adaptive responses. The 26th Kumamoto Medical Bioscience Symposium (2010年6月, Kumamoto, Japan)
10. 岡本竜哉, 藤井重元, 澤 智裕, 赤池孝章. イ

ンフルエンザウイルス肺炎・ARDSにおける血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンの定量的解析. 第47回日本ウイルス学会九州支部総会(2010年9月, 宮崎市)

11. 澤 智裕, 赤池孝章. 核酸分子の化学修飾による活性酸素シグナルのケミカルセンシング. 第83回日本生化学会大会(2010年12月, 神戸市)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

表1 対象症例と喫煙状況

| 症例        | 年齢   | 喫煙本数<br>(本/日) | 喫煙<br>年数 | FTND | 血中ニコチン<br>(ng/ml) | 血漿中 3NT/Tyr<br>( $\mu\text{mol/mol}$ ) |      |
|-----------|------|---------------|----------|------|-------------------|--|------|
| 1 統合失調症患者 | 喫煙者  | 42            | 25       | 20   | 6                 | 301                                    | 0.69 |
| 2 統合失調症患者 | 喫煙者  | 37            | 40       | 17   | 9                 | 269                                    | 1.58 |
| 3 統合失調症患者 | 喫煙者  | 46            | 40       | 28   | 9                 | 372                                    | 0.71 |
| 4 統合失調症患者 | 喫煙者  | 36            | 20       | 18   | 6                 | 260                                    | 0.46 |
| 5 統合失調症患者 | 非喫煙者 | 36            | -        | -    | -                 | -                                      | 0.6  |
| 6 統合失調症患者 | 非喫煙者 | 57            | -        | -    | -                 | -                                      | 0.46 |
| 7 統合失調症患者 | 非喫煙者 | 39            | -        | -    | -                 | -                                      | 0.27 |
| 8 健常者     | 喫煙者  | 28            | 10       | 9    | 4                 | 125                                    | 0.92 |
| 9 健常者     | 喫煙者  | 24            | 20       | 4    | 6                 | 89                                     | 0.12 |

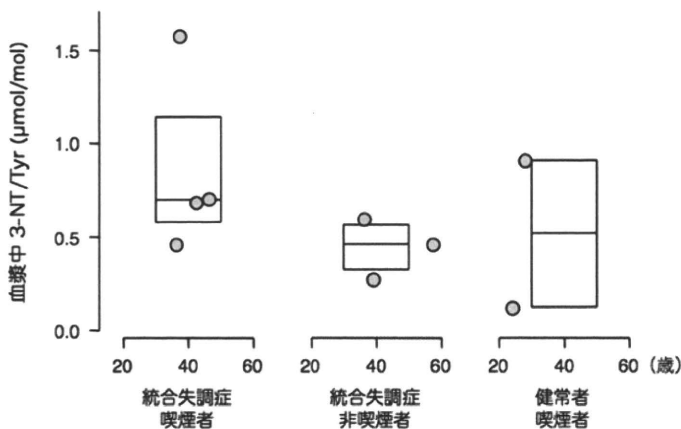


図1 各症例群における血漿蛋白質中の3-ニトロチロシン濃度

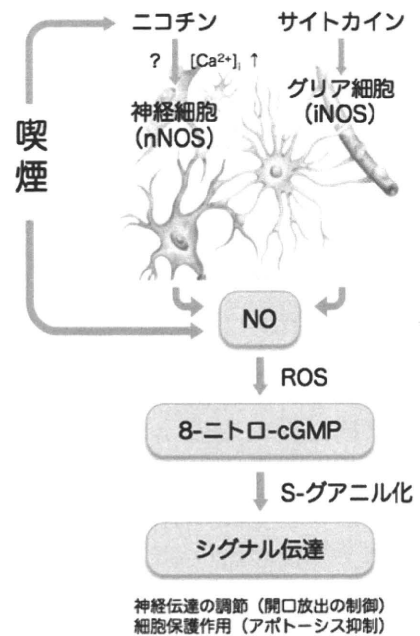


図2 喫煙に伴う神経系における8-ニトロ-cGMPの生成とその役割

## 統合失調症患者の喫煙に関する予後の疫学調査

分担研究者 新貝憲利 成増厚生病院院長

### 研究要旨

【目的】統合失調症患者の予後に対して、喫煙が与える影響について評価を行う。

【方法】入院中の統合失調症患者を対象とし、その退院時をベースライン、再入院をエンドポイントと設定し、その間の精神症状の変化について喫煙群と非喫煙群にわけて検討する。

【結果・結論】平成22年3月31日時点で、全退院患者159名のうち、フォロー可能で同意を得られた患者は60名であった。今後も引き続き経過を追っていく。

### A. 研究目的

喫煙の健康被害は周知のところであり、2003年には健康増進法が公布された。一般の喫煙率は25-33%であるのに対し統合失調症患者の喫煙率は70-90%と高く、禁煙の成功率も低い。また、精神科病院の非喫煙患者は受動喫煙の被害に常時曝されており、被る健康被害は深刻である。喫煙患者にはタバコによる健康被害だけでなく、喫煙行動に潜在する火災等の危険性から住居確保に困難があるなどの生活権被害も生じている。精神科においては、喫煙は比較的好ましい嗜好品として職員にも患者にも愛されてきた歴史があり、「喫煙をよし」とする独特の文化がある。このような状況で、精神障害者の禁煙対策が健常人と同様に行われる必要があるが、現実には簡単ではない。喫煙により感覚情報処理機能の改善や、抗精神病薬による副作用の軽減、認知機能の改善を認めることが報告されており、保護的な役割がある一方で、健康被害や予後の面から悪影響を及ぼす可能性が示唆されており、精神科における禁煙対策は重要な課題である。

我々が以前行った後方視的な調査では、統合失調症において喫煙群が非喫煙群に比べて再入院率が高いというものであった。一時的には上記のよ

うに自己治療的な効果は認められているが、喫煙により予後が悪化する可能性が考えられる。このことについてプロスペクティブに再度調査することは、統合失調症患者に禁煙を勧める上での重要な根拠になり得ると考える。

### B. 研究方法

入院中の統合失調症患者が退院した時点をもとにベースラインとして、その退院患者を対象とし、エンドポイントを再入院時と設定し、その間の症状を評価した。

ベースラインでは、患者背景として、1日の喫煙本数、喫煙期間、ファガストロームニコチン依存テスト(FTND)、血中CO-Hb濃度を測定した。また精神症状はPositive and Negative Syndrome Scale (PANSS)、The Global Assessment of Functioning (GAF)を、抗精神病薬によるパーキンソンニズムの評価としてDrug-induced Extrapyrarnidal Symptoms Scale (DIEPSS)を用いて評価を行った。退院後は3か月おきに喫煙状況、精神症状の変化について経過を追った。

最終的には、喫煙群と非喫煙群とに分け、症状の経過を比較し、統合失調症患者における喫煙による予後への影響について評価する。



## C. 結果

平成 23 年 3 月 31 日時点での各施設での退院患者 158 名のうちフォロー可能で同意を得られた患者は 60 名であった。現在、各症例において経過の評価を行っている。

## D. 考察

エントリー症例数が少なく統計学的評価を行うに足る症例数を確保するために、エントリー期間の延長などの検討が必要であると考える。

## E. 結論

統合失調症患者の予後に対して、喫煙が与える影響を調査中である。登録症例数が少ないため、エントリー期間の延長などの検討が必要である。

## F. 健康危険情報

該当無し

## G. 研究発表

特記事項無し

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

## 統合失調症患者における長期禁煙についての臨床的研究

研究代表者 岸本年史 奈良県立医科大学精神医学講座 教授

### 研究要旨

【目的】禁煙治療を行い、長期禁煙が統合失調症に与える影響について調査する。

【方法】「禁煙治療のための標準手順書（第4版）」に基づきバレニクリンを用いて12週間の禁煙治療を行う。この間の精神症状、感覚情報処理機能について評価する。

【結果】これまでに4名に禁煙治療を導入したが、2名は途中で中止となり、2名は現在進行中である。今後も症例を増やし、検討していく。

研究協力者 橋本和典 奈良県立医科大学精神医学講座 助教

### A. 研究目的

喫煙の健康被害は周知のところであり、2003年には健康増進法が公布された。一般の喫煙率は25-33%であるのに対し統合失調症患者の喫煙率は70-90%と高く、禁煙の成功率も低い。また、精神科病院の非喫煙患者は受動喫煙の被害に常時曝されており、被る健康被害は深刻である。喫煙患者にはタバコによる健康被害だけでなく、喫煙行動に潜在する火災等の危険性から住居確保に困難があるなどの生活権被害も生じている。精神科においては、喫煙は比較的好ましい嗜好品として職員にも患者にも愛されてきた歴史があり、「喫煙をよし」とする独特の文化がある。このような状況で、精神障害者の禁煙対策が健常人と同様に行われる必要があるが、現実には簡単ではない。喫煙により感覚情報処理機能の改善や、抗精神病薬による副作用の軽減、認知機能の改善を認めることが報告されており、保護的な役割がある一方で、健康被害や予後の面から悪影響を及ぼす可能性が示唆されており、精神科における禁煙対策は重要な課題である。

これまでに、統合失調症患者を対象に、短期間の禁煙後の再喫煙による影響について感覚情報処

理機能を指標に評価した。今回は長期間の禁煙が精神症状、感覚情報処理機能などにどのような影響を与えるかを検討する。

### B. 研究方法

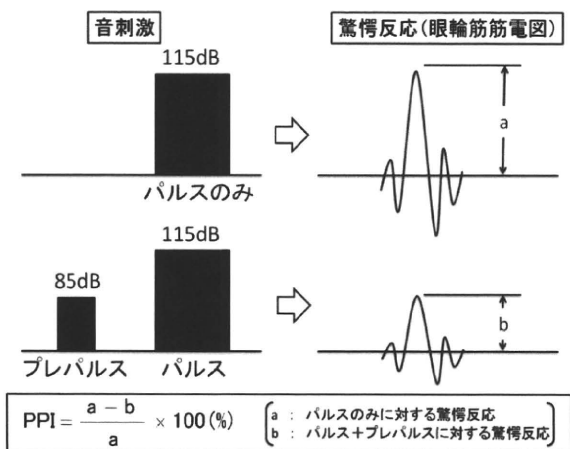
対象は喫煙をしている統合失調症患者で、禁煙希望のある4名である。

禁煙治療のための標準手順書（第4版）に基づきバレニクリン（チャンピックス®）を用いて12週間の禁煙治療を行い、その間の変化について評価を行った。評価項目としては、精神症状の評価は Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)を用いた。感覚情報処理機能の評価についてはプレパルスインヒビション (PPI) 及び事象関連電位の一つである P50 抑制を用いた。また、喫煙状況及び、禁煙中の評価についてはファガストロームニコチン依存テスト (FTND)、呼気中 CO 濃度、ミネソタ式ニコチン禁断症状調査票 (MNES)、喫煙衝動に関する調査票 (BQSU) によって評価した。

#### 1. プレパルスインヒビション (PPI)

PPI では音性驚愕刺激に対して相対的に弱い刺激を先行させた場合の瞬目反応の変化をみる。音

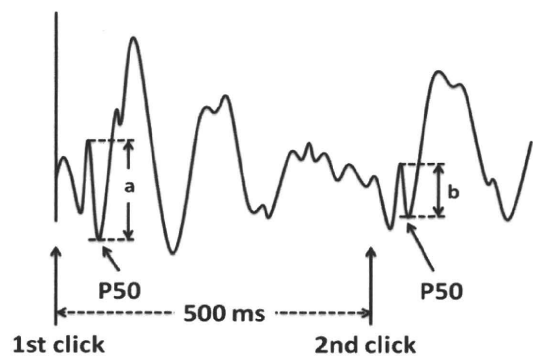
刺激は最初の 2 分間は順応のために 70dB の広域ホワイトノイズを聴かせ、引き続きテスト終了まで背景音として使用した。その後の音刺激は 3 ブロックに分けた。第 1 ブロックではプレパルスを与えないパルス (115dB の広域ホワイトノイズで持続時間 40ms) のみを 3 回あたえた。第 2 ブロックではパルスのみを試行と、パルスに先行して 85dB で持続時間 20ms のプレパルスを与える試行を行った。プレパルスとパルスの刺激間の間隔 (interstimulus interval ; ISI) は 30, 60, 120ms でランダムに出現させ、それぞれの試行を 6 回ずつ合計 24 回の行った。第 3 ブロックでは第 1 ブロックと同様にパルスのみを 3 回与えた。PPI は眼輪筋の筋電図の振幅を用い  $PPI(\%) = \{(\text{パルスのみに対する驚愕反応}) - (\text{プレパルス+パルスに対する驚愕反応})\} / (\text{パルスに対する驚愕反応}) \times 100$  で求めた。



## 2. P50 抑制

P50 抑制は、2 つの聴覚刺激 (試験刺激) をある間隔をおいて与えると 1 つめの聴覚刺激 (条件刺激) に比べて P50 の振幅が著しく減弱するというものである。2 つの刺激音には 90dB で持続時間 10 ms のクリック音を用い、刺激間の間隔は 500 ms と設定した。刺激音はヘッドホンより呈示し、10 秒間隔で 90 回程度与えた。記録電極は国際 10-20 法の Fz, Cz, Pz の 3 部位に置き、基準電極は両耳の平均電位とした。また、アースは前額部とした。P50 の同定については Nagamoto

ら[8]の方法を用いて、1 回目の刺激に対する P50 は刺激後 40 ms から 90 ms の間で最大の陽性ピークとし、2 回目の刺激にたいする P50 は 1 回目の刺激により誘発された P50 の潜時の  $\pm 10$  ms の範囲にある最大陽性ピークとした。P50 の振幅についてはそれぞれ直前の陰性波のピークとの差と定めた。P50 抑制については  $(P50 \text{ 抑制}(\%)) = \{ (2 \text{ 回目の刺激に対する P50}) / (1 \text{ 回目の刺激に対する P50}) \} \times 100$  で求めた。



$$P50 \text{ 抑制} = \frac{b}{a} \times 100 (\%)$$

( a : 1 回目のクリック音に対する P50 の振幅  
b : 2 回目のクリック音に対する P50 の振幅 )

## <倫理面での配慮>

本研究は奈良県立医科大学倫理委員会にて承認を受けた上で実施された。

## C. 研究結果

対象者 4 名中 2 名は治療期間終了までに本人の希望により中止となっている。後の 2 名については現在禁煙治療進行中である。ベースラインでの 4 人のデータを表にまとめた。

## D. 考察

現在、症例数が 4 名と少なく、禁煙治療を完遂した対象者はない状態であり、評価ができない。今後は症例を増やすための方法を検討した上、さらに研究を進めていきたいと考えている。

## E. 結論

禁煙治療を開始した症例は 4 名で、うち 2 名は

途中で中止となり，現在 2 名が禁煙治療進行中である．今後も症例を増やし検討を行う．

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

【論文発表】

1. 橋本和典，岸本年史．禁煙に伴う抑うつとその対策．呼吸器内科．17(5)．494-498．2010 表

|      | 年齢 | 罹病期間 | 呼気中 CO 濃度 | FTND | BQSU | PANSS Total | 転帰     |
|------|----|------|-----------|------|------|-------------|--------|
| 患者 A | 38 | 18   | 29        | 7    | 34   | 74          | 希望にて中止 |
| 患者 B | 34 | 7    | 26        | 6    | 53   | 64          | 副作用で中止 |
| 患者 C | 60 | 28   | 24        | 7    | 60   | 68          | 治療継続中  |
| 患者 D | 34 | 13   | 14        | 4    | 28   | 78          | 治療継続中  |

## 統合失調症モデルマウスQTL解析による統合失調症様行動異常を修飾する ニコチン感受性遺伝子の同定

研究分担者 谷垣 健二 滋賀県立成人病センター研究所

**研究要旨：**統合失調症者での喫煙率の高さから統合失調症とニコチンの関係が示唆されている。我々はNMDA受容体拮抗薬MK801によるpre-pulse inhibitionの障害、行動量亢進の異常といった統合失調症様行動異常とニコチンの急性投与、慢性投与の相互作用が遺伝学的背景の違いに大きな影響を受けることを見出してきた。今回、我々は、ヒトで高頻度で統合失調症を発症する22q11欠損症候群のモデルマウスを用い、その統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用と遺伝的背景の関与の検討を行なった。その結果、22q11関連領域の欠損による行動異常とニコチンの相互作用が遺伝的背景の違いから受ける影響は、MK801による統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用が受けるものとは異なることが明らかとなった。このことは、統合失調症のサブタイプの違いにより、その行動異常を修飾する遺伝子群が大きく異なることを示唆している。

### A. 研究目的

統合失調者は喫煙率が高く、禁煙することが難しいことが報告されていることから、統合失調症とニコチンの関与が注目されている。統合失調症に対するニコチンが及ぼす影響を明らかにし、その作用に関与する遺伝子群を同定できれば、統合失調症者においても、禁煙を可能とする新たな治療法の開発に結びつくと期待される。そこで、我々は、NMDA受容体拮抗薬であるMK801が惹起する統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用に影響を及ぼす遺伝子群を遺伝学的手法によって同定を行ってきた。今回、我々は、統合失調症モデルの違いによって遺伝的背景の違いの効果に影響がどうかを、ヒトで統合失調症を多発する22q11欠損症候群モデルマウスを用いて検討を行なった。

統合失調症は多因子遺伝病であるため、ヒトでの解析は困難である。そのため、統合失調症とニコチンの相互作用に関与する候補遺伝子を絞り込むために、モデルマウスを用いた遺伝学的解析は非常に

有用であると考えられる。

### B. 研究方法

[動物・行動試験]

マウスはC57B16, 129SvのF2のオスのみを用いた。行動試験は12-18週齢で行った。prepulse inhibition (PPI)の測定, Nicotine 1mg/Kg, MK801 0.1mg/Kg i.p. 後のPPI測定, Nicotine 1mg/Kg, MK801 0.32mg/Kg i.p. 後のopen field の測定を1週間ごとに行った後に、osmotic pump (Alzet)を用いてNicotine 2.4mg/Kg/dayを21日間投与した後、Nicotine 投与を継続しつつMK801 0.32mg/Kg i.p. 後のopen field の測定, PPI測定, MK801 0.1mg/Kg i.p. 後のPPI測定を3日ごとに行った。

(倫理面への配慮)

今回の動物実験は、滋賀成人病センター研究所が定める動物取り扱い倫理規定に準拠して行った。

### C. 研究結果

C57B16, もしくは、C57B16と129SvのF1, F2の

遺伝学的背景の22q11欠損症候群モデルマウスを用いた行動試験によって、ニコチンの慢性(2.4mg/kg/day)投与がPPIとMK801による行動量亢進に及ぼす影響と遺伝的背景の関与について検討を行った。PPIに関しては、C57B16と129Svの遺伝的背景の違いはコントロールマウスにおいては全く影響を与えなかった。それに対し、22q11欠損症候群モデルマウスにおいては、遺伝学的な違いはPPIに大きな影響を与えた。

次に、ニコチン慢性投与がMK801が惹起する行動量亢進に与える影響をOpen Fieldによって測定を行なった。C57B16, F2の遺伝的背景のコントロールマウスにおいては、ニコチンの慢性投与はMK801が惹起する行動量亢進を憎悪する傾向が認められた。それに対し、22q11欠損症候群モデルマウスではC57B16, F1の遺伝学的背景では改善が、F2の遺伝学的背景においてのみ憎悪の効果がニコチンの慢性投与に認められた。

#### D. 考察

今回の行動試験で、我々は、22q11欠損症候群モデルマウスの統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用もC57B16と129Svの遺伝的背景の違いを受けることが明らかとなった。しかも、その遺伝的背景の違いのニコチンとの相互作用への影響は、MK801投与による統合失調症様行動異常に対するものと大きく異なることが明らかとなった。その原因となる候補遺伝子群の同定は、2つの統合失調症モデルの質的差異の解明につながると考えられる。

#### E. 結論

今回の解析で明らかになった22q11欠損症候群モデルマウスの統合失調症様行動異常とニコチンの相互作用に影響を及ぼす候補遺伝子群をQTL解析によって同定を進めている。候補遺伝子のリストが作成できれば、共同研究者の岸本年史教授の研究によって、ヒトでの対応遺伝子の同定、ヒトでの統合失調症の病態とニコチン消費状況と同定された対

応遺伝子の関係を明らかにしていただくことを計画している。

#### G. 研究発表

1. 論文発表
  1. Notch signaling regulates the development of a novel type of Thyl-expressing dendritic cell in the thymus. Ishifune C, Maekawa Y, Nishida J, Kitamura A, Tanigaki K, Yagita H, Yasutomo K., Eur J Immunol. 2011 May;41(5):1309-20.
  2. Two opposing roles of RBP-J in Notch signaling. Tanigaki K, Honjo T. Curr Top Dev Biol. 2010;92:231-52.
2. 学会発表
  1. The mapping of quantitative trait loci underlying strain difference in nicotine effect on MK801-induced locomotion between C57B16 and 129Sv Neuro2010, Kobe, Japan
  2. The mapping of quantitative trait loci underlying strain difference in nicotine effect on MK801-induced locomotion between C57B16 and 129Sv Society for Neuroscience, 2010, Sandiego, USA
  3. ニコチンと統合失調症の遺伝学的側面 第30回日本社会精神医学会, 2011年3月4日, 奈良, 日本

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当無し
2. 実用新案登録  
該当無し
3. その他  
該当無し