

201224061A

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岸本年史

平成 25 年 (2013 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 15
(分担研究者) 成増厚生病院 新貝 憲利
3. 統合失調症における長期禁煙についての臨床的研究 17
(研究代表者) 奈良県立医科大学 精神医学講座 岸本 年史
4. 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 22
(分担研究者) 滋賀県立成人病センター研究所 谷垣 健二
5. 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 24
(分担研究者) 奈良女子大学 保健管理センター 高橋 裕子
6. 多能性幹細胞誘導 (iPS 細胞) を用いた実験的研究 30
(分担研究者) 奈良県立医科大学 精神医学講座 深見 伸一
7. 喫煙が薬物血中濃度に与える影響—メタアナリシス— 32
(分担研究者) 弘前大学大学院医学研究科神経精神医学講座 古郡 規雄

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 37

I . 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。喫煙により生体に取り込まれる活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）などは、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 の二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。昨年度までの研究において、生体内で生成する硫化水素関連物質が酸化ストレス応答の細胞内シグナル伝達を制御していることが明らかになった。そこで本年度は、各種硫化水素関連物質の生体内産生動態を調べるとともに、これらの化合物と 8-ニトロ-cGMP との反応機構について解析した。質量分析法を用いた詳細な解析の結果、マウスの各種臓器ホモジネートやヒトの血漿中に、各種チオール化合物に硫黄原子が付加した化合物 (ポリスルフィド; R-S-S_(n)H) が主要な硫化水素関連物質として存在していることが分かった。さらに、これらのポリスルフィドは、8-ニトロ-cGMP と反応し新規環状ヌクレオチド 8-SH-cGMP を生成することにより、8-ニトロ-cGMP の分解・代謝に関わっていることが示された。これらのことから、生体内で生成する各種ポリスルフィドや 8-SH-cGMP は、酸化ストレス応答のバイオマーカーとしての有用性が示唆された。今後、生体内での各種ポリスルフィド、8-SH-cGMP、8-ニトロ cGMP などの生成動態をさらに詳細に解析することにより、喫煙と統合失調症病態における酸化ストレスの役割の解明が進んでゆくものと思われる。

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。統合失調症患者の喫煙群では非喫煙群に比べて、再入院率が高い傾向が認められた。

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するものである。

昨年までの本研究において、潜在的鬱状態が禁煙不成功の要因であり、鬱傾向を有する喫煙者の禁煙治療に関しては別途のプロトコールの必要性が示された。統合失調症を有する喫煙者に関しては無煙環境の重要性が示唆された。一方、禁煙化を実施した精神科医療機関のキーパーソンインタビューから、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ものの、救急医療を担当する病院においては禁煙化への懸念が出された。また禁煙化を未実施の精神科病棟での職員の意識調査を実施し、一般病棟と比較して職員の知識不足が精神科病棟の禁煙化の障碍となっていることを明確にした。また精神科病棟の禁煙化ロードマップの一部をなす禁煙対策評価シートを作成した。

今年度は、精神科病棟の環境測定を実施し、禁煙化実施前後を比較した。また精神疾患を有する喫煙者のうち禁煙が継続できている事例にインタビュー調査を実施し、禁煙継続の要因を明確にした。以上を踏まえて精神科疾患を有する喫煙者への禁煙支援について提言をおこなった。

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。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、QTL 解析によって染色体 18 番 D18Mit186.1 と X 染色体 DXMit19.1 の近傍に MK801 とニコチンの相互作用影響を及ぼす遺伝子座を見出してきた。しかし、DXMit19.1 近傍には 816 個の SNP が、D18Mit186.1 の近傍には 5901 個の SNP が存在することから、統合失調症様行動異常に与える SNP を同定するためには、その SNP が統合失調症様行動異常に与える影響を効率よくスクリーニングする系が必要である。我々は、レンチウイルスを用いて生体内神経細胞遺伝子導入法を樹立し、22q11 欠損症候群モデルマウスを用い、統合失調症様行動異常を指標とした遺伝子機能解析が成体で可能であることを証明した。この手法は SNP による機能変化のスクリーニングにも応用可能であると考えられる。

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。喫煙困難な集団の効果的な禁煙方法の開発やそのエビデンスを得ることは、全体の禁煙率を向上させる上でも有益なことである。統合失調症を罹患する患者の喫煙率は、非常に高率であり禁煙の成功率も低いことが知られる。これには、何らかの生物学的な原因が存在すると考えられているが直接その原因組織である中枢神経系を調べることは困難である。そこで、本研究では、近年確立された人工多能性幹細胞 (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作製技術を確立した。さらに、統合失調症発症に関与が示唆される遺伝子産物の発現レベルを健常者のものと比較した。これらの系は、高率な喫煙率や禁煙の困難さの原因を細胞生物学的に探る基盤になると考えられる。

古郡規雄分担研究者は抗精神病薬の血中濃度に対する禁煙の影響について検討した。喫煙は薬物代謝酵素を誘導し、薬物血中濃度を低下させる。一方、喫煙している人が禁煙した場合、薬物代謝酵素の誘導がなくなり、血中濃度が上昇し、中毒症状が起こる可能性がある。今回はオランザピンとクロザピンに関するこれまでの文献に関して検索エンジンを用い、解析に適切な文献を抽出し、メタアナリシスを実施した。13 個の論文が抽出され、オランザピンに関して喫煙者は非喫煙者に比べて平均 C/D 比が 0.87 (ng/ml)/(mg/day) [95%信頼区間: -0.64, -1.11] 低かった。クロザピンに関しては、喫煙者は非喫煙者に比べて平均 C/D 比が 1.11 (ng/ml)/(mg/day) [95%信頼区間: -0.70, -1.53] 低かった。いずれも統計学的に有意であった。今回の結果より、喫煙がオランザピン及びクロザピンの血中濃度を下げることが明らかとなった。

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。禁煙治療を行い、長期禁煙が統合失調症に与える

影響について調査した。「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、感覚情報処理機能について評価を行った。11名の統合失調症患者を禁煙治療を導入した。禁煙治療終了時点で禁煙を継続できていたのは4名で、そのうち禁煙治療終了後4週間で禁煙を継続できていたのは1名であった。後の7名は途中で中断、もしくは治療終了時点において喫煙を継続していた。感覚情報処理機能については統計学的な有意差は認めなかったものの、禁煙治療開始後、禁煙によって感覚情報法処理機能は悪化するものの、12週間の禁煙治療終了時には改善し、禁煙治療終了後においても禁煙の継続でそれが維持される可能性が示された。

◆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

古郡規雄：弘前大学大学院医学研究科神経精神医学講座 准教授

<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

喫煙により生体に取り込まれる活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）などは、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の二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。昨年度までの研究において、生体内で生成する硫化水素関連物質が酸化ストレス応答の細胞内シグナル伝達を制御していることが明らかになった。そこで本年度は、各種硫化水素関連物質の生体内産生動態を調べるとともに、これらの化合物と8-ニトロ-cGMPとの反応機構について解析した。質量分析法を用いた詳細な解析の結果、マウスの各種臓器ホモジネートやヒトの血漿中に、各種チオール化合物に硫黄原子が付加した化合物（ポリスルフィド；R-S-S_(n)H）が主要な硫化水素関連物質として存在していることが分かった。さらに、これらのポリスルフィドは、8-ニトロ-cGMPと反応し新規環状ヌクレオチド8-SH-cGMPを生成することにより、8-ニトロ-cGMPの分解・代謝に関わっていることが示された。これらのことから、生体内で生成する各種ポリスルフィドや8-SH-cGMPは、酸化ストレス応答のバイオマーカーとしての有用性が示唆された。今後、生体内での各種ポリスルフィド、8-SH-cGMP、8-ニトロcGMPなどの生成動態をさら詳細に解析することにより、喫煙と統合失調症病態における酸化ストレスの役割の解明が進んでゆくものと思われる。

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-cGMPが生じることを報告してきた。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二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での生成・分解機序やその役割については未だ不明な点が多い。昨年までの研究において、統合失調症と喫煙に伴う酸化ストレス応答の指標としての血中硫化水素関連物質の有用性や、神経細胞における 8-ニトロ-cGMP の生成とニコチンとの関連について検討してきた。本年度は、内因性の硫化水素関連物質として、各種チオール化合物に硫黄原子が付加した化合物 (ポリスルフィド; R-S-S_(n)H) に注目し、その生体内レベルおよび 8-ニトロ-cGMP との反応性について解析を行った。

B. 研究方法

- 1) 生体内に存在する各種低分子チオール化合物 (システイン, ホモシステイン, グルタチオンなど) のポリスルフィド誘導体の安定同位体標識体を合成し、HPLC-タンデム質量分析 (MS/MS) を用いた各種ポリスルフィドの定量法を確立した。還元型ポリスルフィドは不安定なため、試料をチオール反応試薬であるモノブロモピマンと反応させた後、ポリスルフィド-ピマン付加体として定量を行った。この定量法を用いて、マウスの各種臓器 (心臓, 脳, 肝臓) ホモジネートおよび血漿中のポリスルフィドレベルを測定した。また、健常ボランティアから採取したヒト血漿中のポリスルフィドレベルも同様に測定を行った。
- 2) 生体内でのポリスルフィドの生成メカニズムを明らかにするために、システイン代謝系の酵素であるシスタチオニン β-シンターゼ (CBS) およびシスタチオニン γ-リアーゼ (CSE) の組換え蛋白質を用いて、各種基質 (システイン, ホモシステインなど) 添加後の酵素反応生成物を HPLC-MS/MS により定量解析した。
- 3) 酸化ストレス応答シグナルの制御におけるポリスルフィドの役割を明らかにするために、試験

管内にて 8-ニトロ-cGMP と各種ポリスルフィドを反応させ、反応機構の解析を行った。

(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) 今回確立した HPLC-MS/MS を用いたポリスルフィドの定量法により、マウス臓器中では様々なレベル (nM から μM) で各種ポリスルフィドが生成しており、特にグルタチオンポリスルフィドは 100 μM を超える高い濃度で存在していることが分かった。また、マウスやヒトの血漿中でも各種ポリスルフィドが検出され、定量可能なことが分かった。
- 2) CBS や CSE の酵素反応の解析により、これらの酵素がシステインやホモシステインを基質として、システインやホモシステインのポリスルフィド誘導体を生成することが示された。
- 3) グルタチオンポリスルフィドなどの各種ポリスルフィドと 8-ニトロ-cGMP を反応させ反応生成物を解析したところ、8-ニトロ-cGMP が分解して、新規環状ヌクレオチドである 8-SH-cGMP が生成することが分かった。

D. 考案

近年、生体内での硫化水素関連物質の産生システムが明らかになり、その生理機能が注目されている。昨年度までの研究で、統合失調症喫煙者では、統合失調症非喫煙者や健常喫煙者に比べ、硫化水素関連物質の血中レベルが高いことを明らかにした。今回、生体内の硫化水素関連物質として各種ポリスルフィドが高いレベルで生成していることが示され、このポリスルフィド生成には CBS や CSE が関与することが示唆された。

さらに今回、ポリスルフィドが 8-ニトロ-cGMP を分解・代謝し 8-SH-cGMP へと変換することを明らかにした。8-ニトロ-cGMP は、活性酸素と NO

の二次シグナル分子として、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などに関わることが示されている。今回の生体内ポリスルフィドの生成と 8-ニトロ-cGMP の代謝機構に関する解析結果は、喫煙による酸化ストレスが統合失調症の病態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られる。

E. 結論

生体内ポリスルフィドは、8-ニトロ-cGMP との反応を介して、酸化ストレス応答シグナルの主要な制御因子として機能していると考えられる。生体内ポリスルフィドや 8-SH-cGMP の生成動態と生理機能についてさらに詳細な解析を行うことにより、喫煙に伴う酸化ストレスと統合失調症病態との関連およびその分子メカニズムの解明が大きく進展することが期待される。

F. 健康危険情報：特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shigemoto Fujii and Takaaki Akaike. Redox signaling by 8-nitro-cyclic guanosine monophosphate: nitric oxide- and reactive oxygen species-derived electrophilic messenger. *Antioxid Redox Signal.* in press, 2013.
- 2) Md. Mizanur Rahaman, Tomohiro Sawa, Ahmed Khandaker Ahtesham, Shahzada Khan, Hirofumi Inoue, Atsuh Irie, Shigemoto Fujii, and Takaaki Akaike. S-Guanylation proteomics for redox-based mitochondrial signaling. *Antioxid Redox Signal.* in press, 2013.
- 3) Takahiro Joudoi, Yudai Shichiri, Nobuto Kamizono, Takaaki Akaike, Tomohiro Sawa, Jun Yoshitake, Naotaka Yamada, and Sumio Iwai. Nitrated cyclic GMP modulates guard cell signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* in press, 2013.
- 4) Takaaki Akaike, Motohiro Nishida, and Shigemoto Fujii. Regulation of redox signalling by an electrophilic cyclic nucleotide. *J Biochem.* 153:131-138, 2013.
- 5) Yuki Kurauchi, Akinori Hisatsune, Yoichiro Isohama, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike, and Hiroshi Katsuki. Nitric oxide/soluble guanylyl cyclase signaling mediates depolarization-induced protection of rat mesencephalic dopaminergic neurons from MPP(+) cytotoxicity. *Neuroscience.* 231:206-215, 2013.
- 6) Kaori Watanabe, Yu Ishima, Takaaki Akaike, Tomohiro Sawa, Teruo Kuroda, Wakano Ogawa, Hiroshi Watanabe, Ayaka Suenaga, Toshiya Kai, Masaki Otagiri, and Toru Maruyana. S-nitrosated α -1-acid glycoprotein kills drug-resistant bacteria and aids survival in sepsis. *FASEB J.* 27:391-398, 2013.
- 7) Kohta Oyama, Shahzada Khan, Tatsuya Okamoto, Shigemoto Fujii, Katsuhiko Ono, Tetsuro Matsunaga, Jun Yoshitake, Tomohiro Sawa, Junko Tomida, Yoshiaki Kawamura, and Takaaki Akaike. Identification of and screening for human *Helicobacter cinaedi* infections and carriers via nested PCR. *J Clin Microbiol.* 50:3893-3900, 2012.
- 8) Yohei Saito, Tomohiro Sawa, Jun Yoshitake, Chisato Ito, Shigemoto Fujii, Takaaki Akaike, and Hirokazu Arimoto. Nitric oxide promotes recycling of 8-nitro-cGMP, a cytoprotective mediator, into intact cGMP in cells. *Mol Biosyst.* 8: 2909-2915, 2012.
- 9) Motohiro Nishida, Tomohiro Sawa, Naoyuki Kitajima, Katsuhiko Ono, Hirofumi Inoue, Hideshi Ihara, Hozumi Motohashi, Masayuki Yamamoto, Makoto Suematsu, Hitoshi Kurose, Albert van der Vliet, Bruce A Freeman, Takahiro Shibata, Koji Uchida, Yoshito Kumagai, and Takaaki Akaike. Hydrogen sulfide anion regulates redox signaling via electrophile sulphydration. *Nat Chem Biol.* 8: 714-724, 2012.
- 10) Shang Guoguo, Takaaki Akaike, Jiang Tao, Chen Qi, Zhang Nong, and Li Hui. HGF-mediated inhibition of oxidative stress by 8-nitro-cGMP in high glucose-treated rat mesangial cells. *Free Radic Res.* 46: 1238-1248, 2012.
- 11) Yoshifumi Sato, Mitsutoki Hatta, Md. Fazlul Karim, Tomohiro Sawa, Fan-Yan Wei, Shoki Sato, Mark A. Magnuson, Frank J. Gonzalez, Kazuhito Tomizawa, Takaaki Akaike, Tatsuya Yoshizawa, and Kazuya Yamagata. Anks4b, a novel target of HNF4 α interacts with GRP78 and regulates endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in pancreatic β -cells. *J Biol Chem.* 287: 23236-23245, 2012.
- 12) Takatsugu Goto, Yoshitoshi Ogura, Hideki Hirakawa, Junko Tomida, Yuji Morita, Takaaki

- Akaike, Tetsuya Hayashi, and Yoshiaki Kawamura. Complete genome sequence of *Helicobacter cinaedi* strain PAGU611, isolated in a case of human bacteremia. *J Bacteriol.* 194: 3744-3745, 2012.
- 13) Yu Ishima, Hitomi Hoshino, Takuya Shinagawa, Kaori Watanabe, Takaaki Akaike, Tomohiro Sawa, Ulrich Kragh-hansen, Toshiya Kai, Hiroshi Watanabe, Toru Maruyama, and Masaki Otagiri. S-guanylation of human serum albumin is a unique posttranslational modification and results in a novel class of antibacterial agents. *J Pharm Sci.* 101: 3222-3229, 2012.
 - 14) 藤井重元, 赤池孝章. 硫化水素と炎症. 感染・炎症・免疫 42: 235-237, 2012.
 - 15) 赤池孝章. 概論：活性酸素によるレドックス制御の新たなパラダイム転換に迫る. 実験医学増刊：活性酸素・ガス状分子による恒常性制御と疾患（山本雅之監修, 赤池孝章, 一條秀憲, 森 泰生編集）30: 2690-2696, 2012.
 - 16) 澤 智裕, 赤池孝章. ROS・親電子リガンドとガス状分子のシグナルネットワーク. 実験医学増刊：活性酸素・ガス状分子による恒常性制御と疾患（山本雅之監修, 赤池孝章, 一條秀憲, 森 泰生編集）30: 2740-2745, 2012.
 - 17) 藤井重元, 赤池孝章. NOシグナリング NO signaling. イラストで徹底理解するシグナル伝達キーワード事典（山本 雅, 仙波憲太郎, 山梨裕司 編）. 羊土社, p.67-69, 2012.
2. 学会発表
- 1) Takaaki Akaike, Motohiro Nishida, and Tomohiro Sawa. Nitrate cyclic nucleotide mediates endogenous electrophilic signaling for Ras-dependent senescence and autophagy. The 33rd Naito Conference on Oxygen Biology: Hypoxia, Oxidative Stress and Diseases. (Sapporo, JAPAN), June 26-29, 2012.
 - 2) 赤池孝章. 硫化水素によるレドックスシグナル制御：新しいセカンドメッセンジャー 8-SH-cGMP の発見. 第12回日本NO学会学術集会. 神戸市, 6月, 2012.
 - 3) Takaaki Akaike, Hideshi Ihara, and Tomohiro Sawa. 8-SH-cGMP endogenously formed from 8-nitro-cGMP as a second messenger of hydrogen sulfide. The 7th International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Application of Nitric Oxide. (Edinburgh, UK), July 22-26, 2012.
 - 4) Takaaki Akaike. Hydrogen sulfide regulation for electrophile-mediated ROS signaling. Second International Conference on H₂S Biology and Medicine. (Atlanta, USA), September 20-22, 2012.
 - 5) 赤池孝章. 感染防御における活性酸素シグナル制御と破綻. 第65回日本細菌学会中国・四国支部総会. 徳島市, 10月, 2012.
 - 6) 赤池孝章. レドックスシグナル制御と酸化ストレスバイオマーカー. 第20回日本精神科救急学会学術総会. 奈良市, 10月, 2012.
 - 7) Takaaki Akaike. Persulfide regulation of redox signaling involving unique polysulfur biology. 第85回日本生化学会大会. 福岡市, 12月, 2012.
- 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

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、エンドポイントを再入院、あるいは退院後 600 日までと設定し、喫煙群と非喫煙群にわけて再入院率を検討する。
【結果・結論】奈良県立医科大学附属病院精神科、成増厚生病院、秋津鴻池病院、万葉クリニックから計 153 名の統合失調症の退院患者の経過をおった。非喫煙者に比べ喫煙者で再入院率が有意に高いことがわかった。

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あるいは、平成 25 年 1 月 16 日の

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) を測定した。

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 22 年 4 月 1 日から平成 23 年 3 月 31 日までの奈良県立医科大学附属病院精神科を退院した統合失調症患者 62 名と平成 23 年 1 月 1 日から平成 23 年 5 月 31 日までに成増厚生病院、秋津鴻池病院、万葉クリニックを退院した統合失調症患者、

それぞれ 14 名, 26 名, 51 名について喫煙, 非喫煙による予後の影響について評価した.

対象患者の統計学的特徴は表に示した. 喫煙群, 非喫煙群で年齢, 性別, 再入院数, 入院回数で有意差を認めた.

また, 経過観察中に再入院していない割合を Kaplan-Meier の生存曲線を用いて図に示した. ログランク検定では $p=0.010$ で喫煙者の方が再入院率が高い傾向が認められた.

(表) 対象者の統計学的特徴

	喫煙者	非喫煙者
N(%)	62(40.5)	91(59.5)
年齢*	45.1±13.1	43.7±16.5
性別(女性, %)*	22(35.5)	51(56.0)
平均入院回数(回)*	4.3±3.4	3.2±2.6
平均退院時GAF	64.1±9.1	67.5±8.9
再入院者数*	34(54.8)	30(33.0)

(* $p<0.05$)

D. 考察

非喫煙者に比べ, 喫煙者で再入院率が高い傾向が示された. このことは喫煙者の方が予後が悪いことを示唆している可能性も有り, 統合失調症患者に禁煙を勧める一つの根拠となり得ることが考えられる. さらに調査施設からのデータを基に解析をすすめていくことを考えている.

E. 結論

統合失調症患者の喫煙群では非喫煙群に比べて, 再入院率が高い傾向が認められた.

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

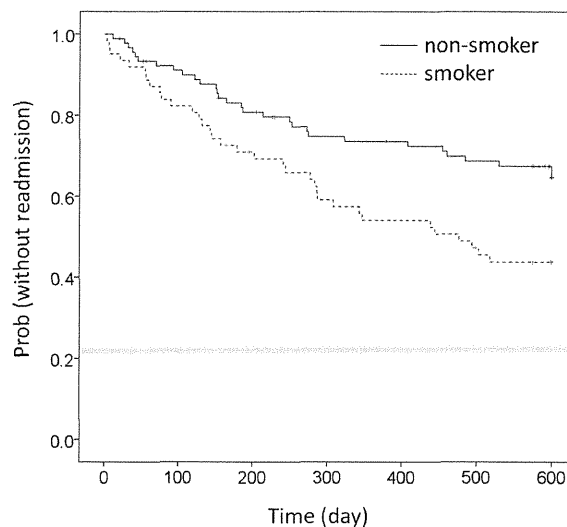
該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし



(図) 再入院率の比較

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】11名に禁煙治療を導入した。禁煙治療終了時点で禁煙を継続できていたのは4名で、そのうち禁煙治療終了後4週間で禁煙を継続できていたのは1名であった。後の7名は途中で中断、もしくは治療終了時点において喫煙を継続していた。感覚情報処理機能については統計学的な有意差は認めなかったものの、禁煙治療開始後、禁煙によって感覚情報処理機能は悪化するものの、12週間の禁煙治療終了時には改善し、禁煙治療終了後においても禁煙の継続でそれが維持される可能性が示された。

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。

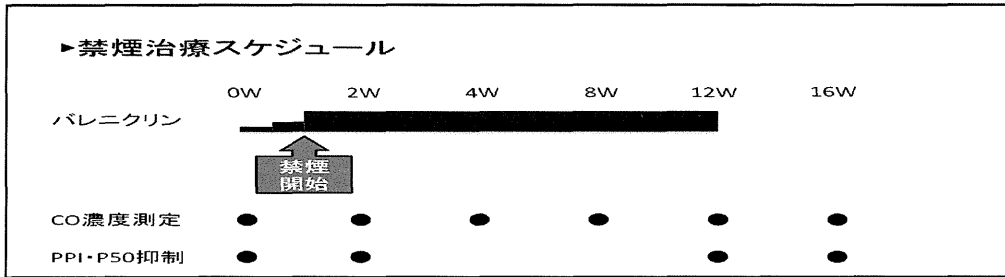
これまでに、統合失調症患者を対象に、短期間の禁煙後の再喫煙による影響について感覚情報処理機能を指標に評価した。今回は長期間の禁煙が精神症状、感覚情報処理機能などにどのような影響を与えるかを検討する。

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11名である。

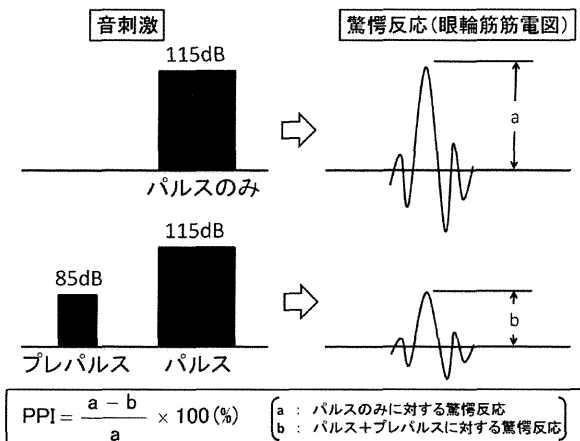
禁煙治療のための標準手順書（第4版）に基づきバレニクリン（チャンピックス®）を用いて12週間の禁煙治療を行い、その間の変化について評価を行った。評価項目としては、精神症状の評価はPositive and Negative Syndrome Scale (PANSS)を用いた。感覚情報処理機能の評価についてはプレパルスインヒビション (PPI) 及び事象関連電位の一つであるP50抑制を用いた。また、喫煙状況及び、禁煙中の評価についてはファガストロームニコチン依存テスト (FTND)、呼気中CO濃度、ミネソタ式ニコチン禁断症状調査票 Minnesota Nicotine Withdrawal Scale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

Smoking Urges (BQSU) によって評価した。



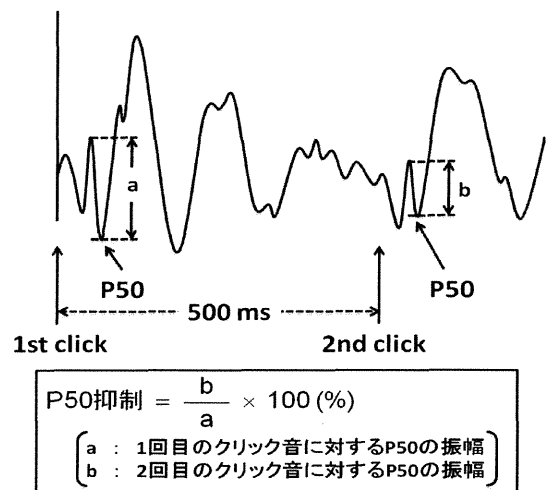
1. プレパルスインヒビション (PPI)

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 回を行った。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 60 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、基準電極は両耳朶の平均電位とした。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 ± 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。



<倫理面での配慮>

本研究は奈良県立医科大学倫理委員会で承認を受けた上で実施された。

C. 研究結果

対象者 11 名中 5 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。4 名は禁煙治療終了時点で禁煙を継続できていたものの、そのうち 3 名は治療終了後 4 週の時点で喫煙を再開していた。禁煙治療は終了したものの禁煙に至らなかった対象者は 2 名であった。ベースラインでの 11 人の統計学的背景を表 1 にまとめた。

バレニクリンの服用状況と喫煙状況別に PPI, P50 抑制の結果を表 2 に示す。varenicline - /smoking - は禁煙治療終了 4 週間後においても禁煙を継続していたという状態を表しているが、その対象は 1 名であった。このため、各バレニクリン、喫煙の状況の違いによる統計学的検討は行うことができなかった。

図 2 では治療開始からの週数別に喫煙状況の違いによる PPI のベースラインからの変化量をグラフにした。統計学的に有意な変化は認められなかったが、禁煙治療開始 2 週間後（禁煙開始 1 週間後）に禁煙できていた場合は PPI は悪化する傾向があり、さらに禁煙治療開始 12 週間後（禁煙治療終了時）に禁煙している群では禁煙治療開始 2 週間後に比べて改善している傾向がみられた。また、禁煙治療開始 2 週間後（禁煙開始 1 週間後）に喫煙を続けていた場合は PPI に悪化はみられなかったが、禁煙治療開始 12 週間後（禁煙治療終了時）では PPI の悪化が見られた。また、禁煙終了 4 週間後（治療開始 16 週間後）では喫煙を行っていた場合、ベースラインより PPI の悪化していた。

対象者 11 人中、禁煙治療終了後 4 週間の時点で禁煙を続けていたのは 1 名であった。その 1 名の結果を表 3 に示した。禁煙開始後では感覚情報処理機能は悪化するものの、禁煙治療開始 12 週間後（禁煙治療終了時）ではベースラインの水準もしくはそれ以上の改善を示し、禁煙治療終了後もそ

れを維持することができていた。

バレニクリンの服用状況と喫煙状況別に BQSU, MNWS の結果を図 2, 3 に示す。BQNS では各状態により有意差を認め ($F = 5.1, p < 0.05$)、喫煙している状態より禁煙しているときの方が喫煙衝動は低いことがわかった。また、NMWS では各状態で有意差は認めなかった ($F = 1.0, p = 0.40$)。

D. 考察

11 名中禁煙治療の終了時点で禁煙を行っていたのは 4 名で、そのうち禁煙治療終了後 4 週間の時点で禁煙を継続できていたのは 1 名であった。対象症例数は少ないものの、統合失調症患者の禁煙は困難であることがわかる。

調査期間中の感覚情報処理機能の変化については、本来であれば、同じような禁煙治療経過を示した対象者について統計学的な検討をすべきであったが、個々により禁煙治療経過は様々であり、さらに症例数も少なかつたため、行うことができなかった。そこで、今回はバレニクリンの投与の有無と喫煙状況別、あるいは、喫煙治療開始後の週数と喫煙状況別についての検討を行った。バレニクリンの投与の有無と喫煙状況別に感覚情報処理機能を検討したが、統計学的に有意な傾向は認めなかった。さらにバレニクリンの投与の有無だけでは、禁煙治療開始直後なのか、終了が近い時点なのか不明であるため、治療開始からの週数と喫煙の有無について PPI を用いて検討した。禁煙開始直後では PPI は悪化するものの、治療開始 12 週間後ではそれが改善している傾向があった。唯一禁煙治療終了 4 週間後においても禁煙を継続できていた症例の経過を見ても、一旦禁煙によって悪化した感覚情報処理機能は禁煙治療終了時には元のレベル改善し、さらにその 4 週間後においても、その状態を維持できており、長期禁煙によって、感覚情報処理機能は改善していく可能性が示唆された。

このことについては、統合失調症患者に禁煙を

推進する大きな根拠となり得ることが期待される。

E. 結論

11名の統合失調症患者を対象に禁煙治療を行ったが、禁煙治療終了時点で禁煙できていたのはそのうち4名で終了後4週間でも禁煙を継続できていたのは1名であった。今回の研究から、長期禁煙によって感覚情報処理機能が改善していく可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

【学会発表】

橋本和典. 統合失調症と喫煙. 第20回日本精神科救急学会. 2012.10 奈良

H. 知的財産権の出願・登録状況なし

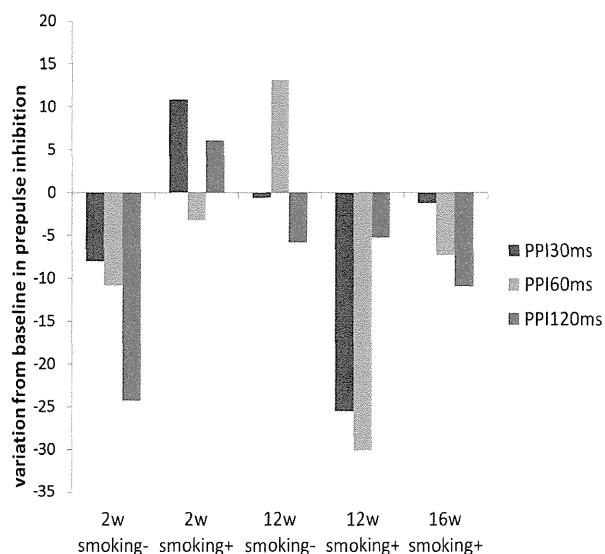
(表1) 統計学的背景

性別(男性)	7
年齢	42.9 ± 10.0
FTND	6.1 ± 1.6
呼気中CO濃度(ppm)	25.0 ± 9.5
罹病期間(年)	18.18 ± 7.7
PANSS	68 ± 9.3
BQNS	41.7 ± 16.8

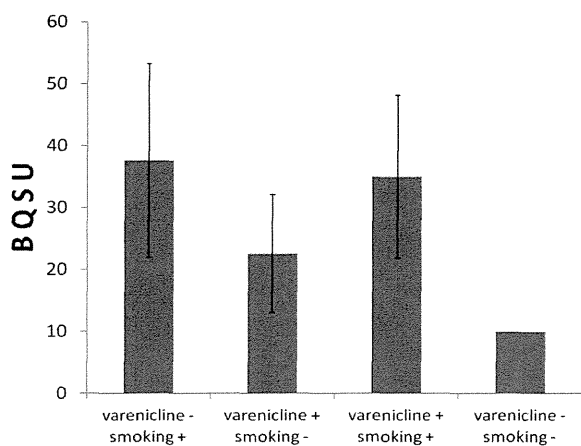
(表2) バレニクリン服用、喫煙状況別、感覚情報処理機能

	valenicrine - smoking +	valenicrine + smoking -	valenicrine + smoking +	valenicrine - smoking -
n	15	9	7	1
PPI 30ms	16.7 ± 18.9	12.1 ± 22.1	19.7 ± 21.7	21.9
PPI 60ms	38.1 ± 28.8	37.4 ± 27.3	33.7 ± 28.4	63.7
PPI 120ms	36.6 ± 31.2	31.4 ± 27.4	43.7 ± 31.6	65.6
Habituation	73.9 ± 27.0	67.1 ± 35.7	75.3 ± 69.4	65.7
P50 suppression	107.0 ± 81.0	68.4 ± 44.8	93.2 ± 64.8	6.8

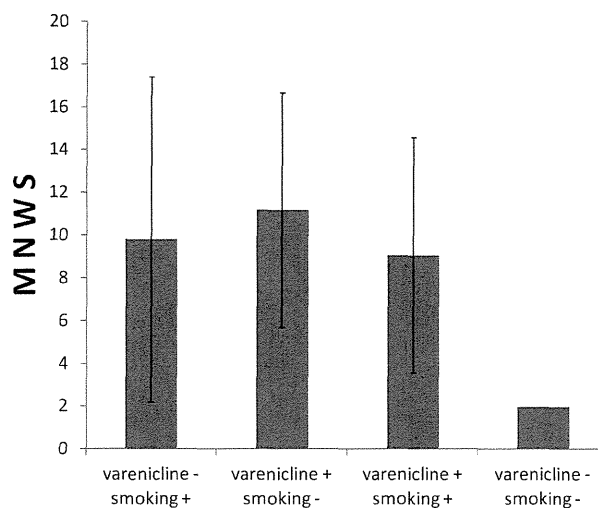
Data shows mean ± SD



(図1) 週数、喫煙状況別、PPIのベースラインから絵の変化量



(図2) バレニクリン服用, 喫煙状況別の BQSU



(図3) バレニクリン服用, 喫煙状況別の MNWS

(表3) 禁煙終了4週間後で禁煙を継続していた

1例の経過

	0w	2w	12w	16w
PPI 30ms (%)	38.1	17.8	38.6	21.9
PPI 60ms (%)	51.6	27	63.1	63.7
PPI 120ms (%)	59.1	9.2	59.5	65.6
P50 suppression (%)	45.2	149.7	5.9	6.9
呼気中CO濃度(ppm)	11	4	4	4

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

分担研究者 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，QTL 解析によって染色体 18 番 D18Mit186.1 と X 染色体 DXMit19.1 の近傍に MK801 とニコチンの相互作用影響を及ぼす遺伝子座を見出してきた。しかし，DXMit19.1 近傍には 816 個の SNP が，た，D18Mit186.1 の近傍には 5901 個の SNP が存在することから，統合失調症様行動異常に与える SNP を同定するためには，その SNP が統合失調症様行動異常に与える影響を効率よくスクリーニングする系が必要である。我々は，レンチウイルスを用いて生体内神経細胞遺伝子導入法を樹立し，22q11 欠損症候群モデルマウスを用い，統合失調症様行動異常を指標とした遺伝子機能解析が成体で可能であることを証明した。この手法は SNP による機能変化のスクリーニングにも応用可能であると考えられる。

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着目されている。統合失調症に対するニコチンが及ぼす影響に関与する遺伝子群を同定することができれば，統合失調症者においても，禁煙を可能とする新たな個別化療法の治療法の開発が可能となると考えられる。現在までに，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同定するために，QTL 解析を行い，MK801とニコチンの相互作用影響を及ぼす遺伝子座がDXMit19.1とD18Mit186.1の近傍に存在すること，そして，DXMit19.1近傍には816個のSNPが，た，D18Mit186.1の近傍には5901個のSNPが存在することを明らかにしてきた。この領域に存在するどのSNPが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

補遺伝子のものか同定するため，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SNPの機能解析を可能とするスクリーニング手法の開発を行った。

B. 研究方法

[レンチウイルス]

機能解析を行う遺伝子を導入したレンチウイルスを stereotactic に前頭前野に注入することにより前頭前野特異的に遺伝子導入を行った。レンチウイルス感染後2週間にて，MK801 0.32mg/Kg i.p. 後の open field の測定を行い，統合失調症様行動異常に与える影響を検討した。

（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。