

カルボニルストレス関連分子による統合失調症

バイオマーカーの探索

業務主任者 糸川昌成 東京都医学総合研究所

研究要旨：本研究の目的は、末梢血の終末糖化産物（AGEs；Advanced Glycation End-products）を含むカルボニルストレス関連分子の異常を客観的指標として、統合失調症の早期診断法を確立することである。我々は、カルボニル化合物の分解酵素 glyoxalase 1(GLO1)に 50%活性低下をもたらすフレームシフト変異を持った家系を同定し、それをきっかけとして内科合併症を持たない統合失調症の 46.7%で末梢血に AGEs の蓄積を同定した(Arai et al. Arch Gen Psychiatry 2010、読売新聞 6月8日)。AGEs は PANSS と関連し、治療による症状改善に伴って低下が認められたことからバイオマーカーとして応用可能であることが示唆された。さらに、未治療初発例で AGEs 上昇がみられたことから、早期診断に役立つ客観的指標となりうると考えた。GLO1 代謝系はグルタチオン代謝を介してホモシステインや葉酸の代謝経路と相互作用が示唆され、これらの系も検討したところ、葉酸は患者で有意に低下し($P<0.001$)、ホモシステインは患者で有意に上昇していた($P<0.001$)。そこで、統合失調症の末梢血、髄液、尿中の AGEs、ホモシステインや葉酸を含む代謝産物を計測し、PANSS、服薬歴、家族歴など臨床情報との関連を検討し、縦断研究によって症状推移とこれらカルボニルストレス関連分子の関連を明らかにして、統合失調症のバイオマーカーを確立することをめざす。精神症状がまだ顕在化しない前駆期に、末梢血で AGEs 蓄積を確認することで早期診断が可能となるため、精神疾患の早期介入や予防政策に貢献できる。

| 研究分担者指名 | 所属施設及び職名 |
|---------|---------------------------------|
| 吉田寿美子 | (独)国立精神・神経医療研究センター病院 臨床検査 部長 |
| 新里和弘 | 東京都立松沢病院 医長 |

である。我々は、カルボニル化合物の分解酵素 glyoxalase 1(GLO1)に 50%活性低下をもたらすフレームシフト変異を持った家系を同定し、それをきっかけとして内科合併症を持たない統合失調症の 46.7%で末梢血に AGEs の蓄積を同定した(Arai et al. Arch Gen Psychiatry 2010、読売新聞 6月8日)。AGEs は PANSS と関連し、治療による症状改善に伴って低下が認められたことからバイオマーカーとして応

A. 研究目的

本研究の目的は、末梢血のカルボニルストレス関連分子の異常を客観的指標として、統合失調症の早期診断法を確立すること

用可能であることが示唆された。さらに、未治療初発例で AGEs 上昇がみられたことから、早期診断に役立つ客観的指標となりうると考えた。GLO1 代謝系はグルタチオン代謝を介してホモシステインや葉酸の代謝経路と相互作用が示唆され、これらの系も検討したところ、葉酸は患者で有意に低下し($P<0.001$)、ホモシステインは患者で有意に上昇していた($P<0.001$)。そこで、統合失調症の末梢血、髄液、尿中の AGEs, ホモシステインや葉酸を含むカルボニルストレス関連分子を計測し、PANSS、服薬歴、家族歴など臨床情報との関連を検討し、縦断研究によって症状推移とこれら代謝物質の関連を明らかにして、統合失調症のバイオマーカーを確立することをめざす。精神症状がまだ顕在化しない前駆期に、末梢血でカルボニルストレス関連分子を確認することで早期診断が可能となるため、精神疾患の早期介入や予防政策に貢献できる。

B. 研究方法

(I) GLO1/ホモシステイン/葉酸代謝関連物質の測定 (糸川昌成担当)

統合失調症の末梢血、髄液、尿中の AGEs, GLO1 活性、ホモシステイン、葉酸、ビタミンなどカルボニルストレス関連分子を HPLC および ELISA 法を用いて計測する。また、プロテオミクス解析により、新たなバイオマーカーの検索も行う。臨床情報との関連を検討する。臨床症状の重症度や統合失調症の亜型下位分類、投薬内容など検討し、バイオマーカーとしての妥当性を検証する。

(II) 統合失調症の末梢血、尿および臨床情

報の収集 (新里和弘担当)

統合失調症の末梢血、尿および PANSS、投薬内容、DSM-IV、年齢、性別、発症年齢、家族歴など臨床情報を収集する。6 カ月の間隔をあけて 2 回採取し、PANSS の得点変化を含む臨床情報の変化と血液、髄液、尿中のカルボニルストレス関連分子の推移の関連を検討する。

(III) 統合失調症の髄液、末梢血、尿の収集 (吉田寿美子担当)

臨床検査使用後の余剰検体として廃棄予定の髄液、末梢血、尿を収集する。(I) で検討され末梢でバイオマーカーとして有望なカルボニルストレス関連分子が髄液中での動態を反映しているか検討するために活用する。

C. 研究結果

最初に報告した被験者 (統合失調症 45 例、健常対照 61 例 Arch Gen Psychiat 2010) とは独立に都立松沢病院にて分担研究者の新里和弘医師が新たな被験者を収集した。対象は DSM-IV で統合失調と診断され 18 歳以上、65 歳未満で AGEs を増加させる炎症性疾患、悪性腫瘍、糖尿病、腎機能障害を持たない被験者とした。健常対照として都立松沢病院に勤務する職員で上記除外基準に該当しない成人とした。AGEs はペントシジンを HPLC を用いて計測し、ビタミン B6 については ELISA 法を用いて測定した。これらの被験者ペントシジンとビタミン B6 を用いて糖尿病と腎機能障害を除外した 163 名の統合失調症患者を 4 群に分類し、カルテ調査と統合失調症の精神症状評価尺度である Positive And Negative Syndrome Scale (PANSS) を実施して臨床特徴を比較検討

した。その結果、カルボニルストレスを呈する患者群(カルボニル群、group 4)では、カルボニルストレスの無い患者群(非カルボニル群、group 1)と比較して、入院患者の割合が高く(カルボニル群:80.8%、非カルボニル群:23.9%、 $p<0.0001$)、入院期間が4.2倍と長期に及び(カルボニル群:17.4±16.9、非カルボニル群4.2±9.2、 $p<0.001$ 、単位:年)、投与されている抗精神病薬の量が多い(カルボニル群:1143.9±743.6、非カルボニル群773.8±652.4、 $p<0.05$ 、単位:mg/日、CP換算)という特徴が明らかになった(Miyashita *et al.* **Schizoph. Bull.** 2014)。

統合失調症を対象とし、Manchester Scale 日本語版によって精神症状を評価し、Wechsler Adult Intelligence Scale 3rd と Wisconsin Card Sorting Test 慶応 F-S version により認知機能を調べた。ペントシジンとピリドキサールの濃度により被験者を4群に分けて認知機能検査、精神症状評価の結果を統計解析した。29名の被験者のデータを収集し解析を行った。その結果、カルボニルストレス性統合失調症では作動記憶、視覚的長期記憶、即時記憶の低下、概念を見失う傾向にあることが確認された(Kobori *et al.* CBSM2014-Yonsei BK21plus Joint symposium 2014)。

(独)国立精神・神経医療研究センター病院において、分担研究者の吉田寿美子医師が平26年度は年齢と性別をマッチさせ

た統合失調症(Sz)患者16名と健常者14名、大うつ病性障害(MDD)13名の髄液(CFS)のAGEsの計測を行ったところ、有意差はなかった。0.5ng/mlを超える高値はSzにのみ認められ、Total PANSSスコ

アは59と60だった。

D.考察

血液中のAGEsは脳血管関門を通過して脳に移行すると考えられている。CFSのAGEsをSz、MDD、健常群で比較したが、検体数も少なく有意差は認められなかった。一方、0.5ng/mlを超える高値はSzにのみ認められ、いずれの症例でも中程度の重症度だった。この所見は血液を検体として検討した業務主任者らのSchizophrenia Bulletin, 2014の報告と矛盾しないことから、CFSは血液中のAGEsの動態をある程度反映していると推測した。

末梢血のAGEsを含む代謝産物がバイオマーカーとして妥当である可能性が示唆された。治療抵抗性統合失調症のバイオマーカーの開発と治療法に道を開いたことは、長期の入院患者の改善において医療費抑制の可能性を示唆しており行政的意義があると考えられる。

E.結語

末梢血のAGEsを含む代謝物質がバイオマーカーとして妥当である可能性が示唆される。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1.論文等

1. 糸川昌成. 脳と心-分子生物学は精神疾患を解明するのか-. 科学哲学 47-2, 2015
2. Fabian N Bangel, Kazuo Yamada,

- Makoto Arai, Yoshimi Iwayama, Shabeesh Balan, Tomoko Toyota, Yasuhide Iwata, Katsuaki Suzuki, Mitsuru Kikuchi, Tasuku Hashimoto, Nobuhisa Kanahara, Norio Mori, Masanari Itokawa, Oliver Stock, Takeo Yoshikawa. Genetic analysis of the glyoxalase system in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2015 Jan 30. pii: S0278-5846(15)00015-9. doi: 10.1016
3. Miyashita M, Arai M, Kobori A, Ichikawa T, Toriumi K, Niizato K, Oshima, K, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Miyata T, Itokawa M. Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress. *Schizophr Bull*. 2014 Sep;40(5):1040-6
 4. Makoto Arai, Mitsuhiro Miyashita, Akiko Kobori, Kazuya Toriumi, Yasue Horiuchi, and Masanari Itokawa. Carbonyl stress and schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neuroscience* 2014 68:655-665, 2014
 5. Itokawa M, Miyashita M, Arai M, Miyata T. Carbonyl stress in schizophrenia. *Biochem Soc Trans* 42(2):468-72, 2014
 6. Arai M, Nihonmatsu-Kikuchi N, Itokawa M, Rabbani N, Thornalley PJ. Measurement of glyoxalase activities. *Biochem Soc Trans* 42(2):491-4, 2014
- 2.学会発表
1. 糸川昌成, 新井誠, 宮下光弘, 鳥海和也, 堀内泰江, 小堀晶子. 統合失調症のパーソナルゲノム研究. 新学術領域脳疾患パーソナルゲノム 平成 26 年度 班会議, 東京 [2015/01/31]
 2. 糸川昌成. 統合失調症の病態研究 - 症候群から疾患を抽出するところみ -. 九州大学先端融合医療レドックスナビ 研究拠点若手研究者主催シンポジウム, 福岡 [2015/01/27]
 3. 糸川昌成. [座長]. Over the dopamine hypothesis of schizophrenia; to the new horizon in early psychosis. the 9th International Conference on Early Psychosis, Tokyo. [2014/11/17]
 4. 糸川昌成. [シンポジウム]. 酸化ストレス・炎症と精神疾患. 第 36 回日本生物学的精神医学会, 奈良[2014/10/29]
 5. 糸川昌成. 代謝疾患としての統合失調症 - 希少症例からのアプローチ -. 第 54 回日本臨床化学会年次学術集会, 東京 [2014/09/06]
 6. 糸川昌成, 新井誠, 宮下光弘, 鳥海和也, 堀内泰江, 小堀晶子. 統合失調症のパーソナルゲノム研究. 新学術領域脳疾患パーソナルゲノム 平成 26 年度 班会議, 東京 [2014/07/20]
 7. 糸川昌成. [シンポジウム]. 希少症例を出発点とする統合失調症の病態研究と治療法の開発 - 異業種と複雑系 -. 第 110 回日本精神神経学会学術総会, 横浜[2014/06/27]
 8. Masanari Itokawa, Mitsuhiro Miyashita, Kazuya Toriumi, Akiko

Kobori, Makoto Arai. A novel concept of mental illness: Carbonyl stress induced schizophrenia – a Glyoxalase I deficit pedigree with psychosis. 2014 YONSEI BK21 [2014/06/19] PLUS-IGAKUKEN JOINT SYMPOSIUM, Seoul, Korea

9. 糸川昌成. 統合失調症の解明に挑む - 臨床家がなぜ研究をするのか - . 第 21 回脳機能とリハビリテーション研究会 学術集会, 千葉 [2014/04/20]

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