

201446024A

厚生労働科学研究委託費
障害者対策総合研究事業
(障害者対策総合研究開発事業<精神障害分野>)
H26-精神-一般-014

厚生労働科学研究委託費

障害者対策総合研究事業
(障害者対策総合研究開発事業<精神障害分野>)

うつ病診断及び向精神薬治療反応性・副作用予測

バイオマーカーの同定

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 岩田 仲生

(藤田保健衛生大学医学部 精神神経科学)

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業障害者対策総合研究事業（障害者対策総合研究開発事業〈精神障害分野〉）による委託業務として、学校法人藤田学園が実施した平成26年度「うつ病診断及び向精神薬治療反応性・副作用予測バイオマーカーの同定」の成果を取りまとめたものです。

委託業務成果報告書目次

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）	
うつ病診断及び向精神薬治療反応性・副作用予測バイオマーカーの同定-----	2
岩田仲生 藤田保健衛生大学医学部 （資料）図1：プロジェクト全体図	
II. 委託業務成果報告（業務項目）	
1 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究 -----	8
岩田仲生 藤田保健衛生大学医学部	
2 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究 -----	11
代謝変容を基軸とした抑うつバイオマーカー検索 斉藤邦明 京都大学医学部	
3 リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索 -----	15
1) 周産期領域のうつ病バイオマーカーの探索 2) 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索 尾崎紀夫 名古屋大学医学部	
4 リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索 -----	19
新規および既知の候補遺伝子の代謝・活性調節能の検討とバイオマーカーの開発 野田 幸裕 名城大学薬学部	
III. 学会等発表実績 -----	22
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	26

うつ病診断及び向精神薬治療反応性・副作用予測バイオマーカーの同定

業務主任者 岩田 仲生 藤田保健衛生大学医学部 教授

研究要旨

精神疾患の病態生理は、遺伝要因と環境要因が複雑に絡み合っており発症に至ることが想定されているため、その解明は困難を極めている。従って、本研究では、「病態生理」解明をスキップして、精神疾患における診断及び治療反応性・副作用予測バイオマーカーの同定を目的とした1) 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究（抗精神病薬反応性、ラモトリギン誘発性皮膚障害の薬理ゲノム学研究など）、2) リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究（産科リエゾン領域の抑うつ状態、口腔外科リエゾン領域の抑うつ状態、健常人リソースと健康情報のデータベース化）を行った。

1) においては、遺伝子多型単独での「確実な」リスクファクターは同定できなかったが、抗精神病薬のターゲットとなりうる分子の異常が、統合失調症の疾患リスクになりうることを間接的に支持する結果が得られた。さらに、抗てんかん薬・気分調整薬であるラモトリギンによる皮膚障害は、他の薬剤で報告されている遺伝子領域が、同様にリスクとなりうる可能性を示唆する所見を得た。また、サイトカインの高発現により誘導された、うつ様マウスモデルを解析し、ターゲット遺伝子の候補としてセロトニン系に加えて、トリプトファン-キヌレニン代謝の変容が重要である可能性を明らかにした。

2) における産科領域の抑うつに関しては、網羅的メチル化解析の結果、メチル化頻度に抑うつ群と非抑うつ群の間で有意差のある領域は転写不活性化と関連することを見出し、かつ口腔外科領域の抑うつに関しては、特定のサイトカインが抑うつのバイオマーカーとなる可能性を示した。また、健常人バイオリソースの健康情報をデータベース化し、より効率的に抑うつバイオマーカーを検索する足がかりとなるシステムが構築された。データベースより効率的に抽出した血液を解析し、トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性を示した。さらに、閾値下うつのバイオマーカーの候補分子であるセロトニントランスポーターあるいはノルアドレナリントランスポーターのユビキチン化のヒト末梢血での測定条件を確立、産後うつ病患者において血小板中のセロトニントランスポーター量の増加傾向を確認し、口腔内疼痛性障害患者の血小板中のユビキチン化セロトニントランスポーター量が少なく、抑うつ重症度が高い傾向を同定した。

本研究結果から、精神疾患における薬理ゲノム学の有用性ととも、均一な表現型を用いたうつ状態へのアプローチがバイオマーカー同定の可能性を上昇させることを示唆するものであり、今後の臨床応用への足がかりとなる結果である。

①薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

藤田保健衛生大学医学部教授 岩田仲生
京都大学大学院医学研究科教授 齋藤邦明
名城大学薬学部教授 野田幸裕

②リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究

名古屋大学大学院医学系研究科教授 尾崎紀夫
京都大学大学院医学研究科教授 齋藤邦明
名城大学薬学部教授 野田幸裕

A. 研究目的

精神疾患の病態生理解明に向けた研究が積極的に進められているにもかかわらず、必ずしも成功に至っていないことは、極めて複雑な要因がその「病態生理」に関与していることが一因であると想定される。従って、本研究では、「病態生理」をスキップすることで、精神疾患における診断及び治療反応性・副作用予測バイオマーカーの同定を目的とする。

精神疾患の多くはほぼ生涯にわたって内服を継続する必要があるので、良好なアドヒアランス維持が重要であ

る。また早期の診断・治療介入が予後を左右するため、適切な薬物を必要用量で当初から使用することが求められている。薬剤反応性に関与する遺伝子多型を同定する解析、薬理ゲノム学研究 (PGx) は、多型毎の効果量が大きいと考えられており、未だ不明である精神疾患の病態生理をスキップした上で、現状の試行錯誤的薬物選択を脱却できる蓋然性が高い。従って、「薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究」では、治療選択に直接反映可能である向精神薬の治療反応性および副作用に関与する分子の同定を目指す(資料1)。

他方、精神疾患、特にうつ病の診断は、症候論を基盤とした診断基準であることが問題であると指摘され続けている。すなわち、「病態生理」説明がより困難である理由は、その表現型が不均一であることが考えられる。従って、より均一な表現型を検討することが、効果量の(相対的に)大きなリスク・バイオマーカー同定へのもう一つの方向性である。こうした背景のもと、本研究では、うつ病のリスクである身体疾患に着目したサンプリングを行う。特に、出産直後の女性や、口腔外科領域の慢性疼痛患者はうつ病のリスクであると報告されており、実際、それら患者の総合病院における自殺は大きな問題である。一方、現状の医療体制では、リエゾンが出来る総合病院は限られており、多くは院内外の精神科へコンサルテーションが為されていることも事実である。しかし、非精神科の医師では、どの症例をコンサルトすべきか決定しがたいというジレンマがあり、閾値下の抑うつ状態群とうつ病群を峻別するマーカーが待望されている。従って、「リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究」では、気分障害の発症率が約10%と比較的高い産後うつ状態や、口腔外科領域で合併する抑うつ傾向を示す患者を対象に、抑うつ状態に関与する分子・バイオマーカー同定を目指す(資料1)。

B. 研究方法

1) 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

統合失調症の抗精神病薬反応性(107名)ならびに抗てんかん薬・気分安定薬の皮膚副作用[ラモトリギン(LTG):101名のLTG誘発性皮膚障害と、197名のLTG投与コントロール]のPGx解析(双方とも全ゲノムSNP解析を施行)を施行した。また、抗精神病薬反応性の解析においては、治療反応性と統合失調症感受性の遺伝的共通性を検討するため、874名の統合失調症と962名の正常対照者を対象とした。

加えて、モデル動物と患者サンプルを用いた新規バイオマーカー開発を目指し、A) サイトカインの高発現により誘導されたうつ様マウスモデルを作製し、ターゲット遺伝子の機能解析と新規バイオマーカーの開発を目指した。さらに、B) うつ様モデル動物として幼若期社会的敗北ストレス負荷マウスを作製、モデル動物の脳あるいは血液サンプルを用いた遺伝子発現の網羅的解析を行い、患者サンプルで同定された新規の候補遺伝子との関連解析を行った。

2) リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究

産科リエゾン領域の抑うつ状態に関わる研究では、産後に抑うつを呈したサンプルにおける網羅的メチル化解析を行った(産後抑うつ群:12例、産後非抑うつ群:12例)。口腔外科リエゾン領域の抑うつ状態に関わる研究では、口腔外科領域の慢性疼痛患者を対象とした前向きコホート研究を行い、治療前後での血漿サンプル(48名)を収集した。

また、リエゾン領域で発症するうつ病を解析するための基礎データとして、ターゲット分子をより効率的に解析するために抑うつを対象にしたバイオリソースと個人の健康情報をデータベース化した。解析したサンプルは健康科学リソースセンターで歴年的に保存されている2085名のCES-D、GHQ28およびBSIDなど質問紙による調査データならびに人間ドック検診項目ほかを対象とし、解析で必要となる健常群を抽出、リエゾン領域で発症するうつ病の新規バイオマーカー探索を行うためのシステムを構築した。抽出したサンプルは、ターゲット分子の1つであるトリプトファンキヌレン代謝系代謝産物について多成分の測定を行った。

さらに、抑うつ候補遺伝子であるセロトニントランスポーター(SERT)あるいはノルアドレナリントランスポーター(NAT)のユビキチン化の測定条件について、一般ボランティア(男性:15例、女性:21例)の末梢血サンプルを用いた検討を行った。妊産婦(妊娠中期あるいは産後1ヶ月:17例)および口腔内疼痛性障害患者(初診あるいは治療12週間後:20例)の前向きコホート研究から得られた末梢血サンプルでも、ユビキチン化SERTの発現量を測定し、閾値下の抑うつ状態とうつ病症例と弁別するバイオマーカーの可能性を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究課題の一部は、精神疾患群、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究である。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に即して編成された藤田保健衛生大学倫理審査委員会、名古屋大学倫理審査委員会において本研究課題に直結するゲノム研究に関する課題の研究計画書を提出し、承認を受け、これまでも研究を遂行してきた。

平成18年度以降、試料提供者へのインフォームド・コンセント、個人情報データの厳重な管理(匿名化)などを徹底し、倫理的配慮を持って研究を進めている。

実験動物を用いた研究では、京都大学医学部、名城大学薬学部と名古屋大学医学部動物実験委員会で承認され、各機関の動物実験指針および The Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health Publication 85-23, revised 1996) に準じて行った。

健常人バイオリソースと健康情報の使用については、ヘルシンキ宣言の倫理規定および厚生労働省による臨床研究指針を遵守し、被験者の同意の自由、同意の取り下げの自由があり、プライバシーの保護(個人情報保護)に配慮し、人権保護を再優先した上で使用することを徹底している。実験計画は京都大学大学院医学研究科・医学部および医学部附属病院の医の倫理委員会に関係書類を提出し承認を得ている。

C. 研究結果

1) 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

全ゲノム SNP 解析の結果、抗精神病薬反応性、ラモトリギン誘発性皮膚障害におけるリスクとして、genome-wide significance (5×10^{-8}) を下回る SNP は同定できなかった。しかし、統合失調症の抗精神病薬反応性 PGx 解析では (N=109)、多数の「治療反応性関連アレル(緩い有意水準を設定: $P < 0.5$)」は、統合失調症患者に有意に多く重複することが確認され、治療反応性に関わる遺伝子と、疾患感受性遺伝子の共通性を報告した。他方、ラモトリギン皮膚副作用の PGx 解析 (N=298) では、多くの薬剤誘発性皮膚障害で過去に他の薬剤で報告されている遺伝子領域において関連の傾向を同定した ($P \sim 10^{-5}$: 論文準備中のため詳細は現在報告できない)。

一方、サイトカインの高発現により誘導された、うつ様マウスモデルを解析し、行動薬理的解析を行った結果、ターゲット遺伝子の候補としてとセロトニン系に加

えて、トリプトファン-キヌレニン代謝の変容が重要であることを確認した。

また、幼若期社会的敗北ストレス負荷 2 時間後および 24 時間後の脳および血液サンプルを採取し、DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現解析用のサンプル調整は終了した。

2) リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究

産科リエゾン領域では、網羅的メチル化解析を行った。非抑うつ群と産後抑うつ群とにおいて、メチル化頻度に確定的有意差のある領域の特定はできなかったが、2 群間で差のある領域が転写不活性化と有意な関連傾向を見出した。口腔外科リエゾン領域では、抗うつ薬による治療の前後において、複数のサイトカイン血中濃度が有意に変動することを確認した。

サイトカイン高発現誘導マウスの行動薬理的解析より、トリプトファン-キヌレニン系代謝変動と抑うつ様症状の発症との関係を示唆する結果が認められた。また、抑うつ、ストレス調査データ (CES-D, GHQ28 および BSID) ならびに人間ドック検診項目ほかを解析し、リエゾン領域で発症するうつ病の新規バイオマーカー探索を行うための基礎的解析を進めるためのデータベース化を行った。さらに、本データベースを利用し、健常人血清を用いたターゲット分子の探索を行うために、抗うつ薬を服用していない質問紙による抑うつ陽性群 42 名 (男性 28 名、女性 14 名) と平均年齢がほぼ同じ健常群 42 名 (男性 25 名、女性 17 名) を抽出し、ターゲット分子について解析を行った。その結果、データベースから抽出した血清トリプトファン-キヌレニン代謝産物は、抑うつ陽性群は健常人に比べ有意なトリプトファン-キヌレニン代謝系の上昇が認められた。

一般ボランティアの男性あるいは女性サンプル (各15 あるいは21例) のユビキチン化SERTおよびNATの発現解析の結果、採血管の抗凝固剤の種類 (EDTAおよびクエン酸) に関わらず末梢血の血小板よりユビキチン化SERTおよびNATが検出された。ユビキチン化SERTあるいはNATの発現量は、日内 (9:00~20:00)、日間 (1~3日間) や採血後の室温放置 (0~24時間) において変動は認められなかった。そこで、ユビキチン化SERTあるいはNATの発現量と気質性格との関連を検討した所、様々な気質と有意な相関が認められた (男性: 自己超越性で正の相関、自己志向、報

酬依存で負の相関、女性：自己志向・協調性で正の相関、損害回避で間に負の相関）。

一方、産科リエゾン領域での検討において、妊産婦（17例）の血小板中のユビキチン化 SERT 量は周産期のエストロゲン変化との関連が、また産後抑うつでは血小板中の SERT 量の増加傾向が認められた。また、口腔外科リエゾン領域において、口腔内疼痛性障害患者（20 例）の血小板中のユビキチン化 SERT が少ないほど、ハミルトンうつ病評価尺度（HAM-D）のスコアが高い傾向が認められた。

D. 考察

抗精神病薬反応性と統合失調症のリスクの共通性を同定したことは、これまで抗精神病薬のターゲットを用いたモデル動物の意義に一定の証左を示したことであり、重要な知見となった。また、ラモトリギン誘発性皮膚障害のリスクに迫っており、臨床応用への足がかりとなりうる知見である。

リエゾン領域では、非抑うつ群と産後抑うつ群とにおいて、メチル化頻度に、確定的有意差を持つ領域同定には至っていない。現在もサンプリングを継続中であり、今後例数を増やして更に解析を進める。また、口腔外科リエゾン領域の閾値下抑うつ状態群とうつ病群を峻別するクリアなバイオマーカーの同定には至らなかったものの、特定のサイトカインがバイオマーカー探索の足がかりとなる可能性を示したため、今後さらに解析を進める。

健康人バイオリソースの健康情報をデータベース化し、より効率的に抑うつバイオマーカーを検索する足がかりとなるシステムが構築された事の意義は大きい。データベースを用いる事で、今回トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性を示し、ターゲット遺伝子候補をマウスで遺伝子改変することにより機能解析を可能とした。今後は、個々人の歴年的なバイオリソースを用いた検索ならびに産科あるいは口腔外科リエゾン領域の患者サンプルについてトリプトファン-キヌレニン代謝産物を測定し、関連分子であるサイトカイン系の変動と比較検討することによりリスクファクターに関するプロファイル解析が期待できる。

さらに、一般ボランティアにおける血小板のユビキチン化 SERT および NAT を安定して測定することは実現可能であり、発現量と抑うつに関連した気質・性格との相関も認められたことから、バイオマーカーとして実用性が高いものと示唆された。実際に、口腔外科リエゾン領域において抑うつ症状の重症度との関連性が一部認められたことから、抑うつ症状の初期診断や治療薬選択判断のバ

イオマーカーへの応用が期待できると考えられる。現在もサンプリングを継続中であり、例数を増やしてさらに解析を進める。

E. 結論

本研究により、抗精神病薬反応性と統合失調症とリスクとの重複を同定した。また、ラモトリギン誘発性皮膚障害のリスクとなりうる候補を絞り込んだ。本結果は、ラモトリギン誘発性皮膚障害の臨床応用、すなわち試行錯誤的薬物選択脱却への第一歩であり、オーダーメイド医療実践の足がかりを形成した。

他方、リエゾン領域の抑うつ状態に関わる研究のうち、産科リエゾン領域では、2群間で差のある領域が転写不活性化と密接に関与することを確認するなど、一定の成果を得ている。また、口腔外科リエゾン領域では、特定のサイトカインが抑うつ状態のバイオマーカー探索の足がかりとなる可能性を示した。

さらに、1) トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性、2) ユビキチン化 SERT および NAT が抑うつ状態のバイオマーカーとして臨床応用可能な根拠となる重要な知見となり、臨床応用が期待できる。

また、人間ドックの歴年的検診データなど抑うつ、ストレスなどの解析結果をデータベース化し、効率的に解析サンプルを抽出することで、新規バイオマーカー探索を可能としたことを示唆するデータが得られたことの行政的意義は大きい。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Ikeda M, Yoshimura R, Hashimoto R, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Ohi K, Tochigi M, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Sasaki T, Tokunaga K, Kasai K, Takeda M, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N (2015). "Genetic overlap between antipsychotic response and susceptibility to schizophrenia." *Journal of clinical psychopharmacology* 35(1): 85-88.

・ Hatano M, Ikeda, M, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Esaki K, Umene-Nakano W, Yoshimura R, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N (2015). "No support for replication of the genetic variants detected by a recent mega-analysis

of the treatment response to antidepressants” Journal of Human Genetics, In Press.

・ Ohoka H, Koide T, Goto S, Murase S, Kanai A, Masuda T, Aleksic B, Ishikawa N, Furumura K, Ozaki N: Effects of maternal depressive symptomatology during pregnancy and the postpartum period on infant-mother attachment. Psychiatry Clin Neurosci: 68 (8):631-9, 2014

・ Kubota C, Okada T, Aleksic B, Nakamura Y, Kunimoto S, Morikawa M, Shiino T, Tamaji A, Ohoka H, Banno N, Morita T, Murase S, Goto S, Kanai A, Masuda T, Ando M, Ozaki N: Factor structure of the Japanese version of the edinburgh postnatal depression scale in the postpartum period. PLoS One: 9 (8):e103941, 2014

・ Tokura T, Kimura H, Ito M, Nagashima W, Sato N, Kimura Y, Arao M, Aleksic B, Yoshida K, Kurita K, Ozaki N: Temperament and character profiles of patients with burning mouth syndrome. J Psychosom Res: (in press)

・ 松尾雄志, 桜井雅史, 齊藤邦明. 先制医療への挑戦 - バイオマーカー開発に求められる方向性- : 先制医療に必要なバイオリソース/データバンク 臨床化学 43(4) 302-312. 2014.

・ 桜井雅史, 松尾雄志, 村上由希, 山本康子, 竹村正男, 松波英寿, 齊藤邦明. データヘルス計画とはなにか 健康管理のデータベース化と解析手法 機器・試薬 37(4) 2014.

2. 学会発表

・ 齊藤邦明: 免疫調節因子 IDO と抑うつとの関わり 第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 44 回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (名古屋, 2014 年 11 月 22 日)

・ 竹田 真由, 加奈山憲代, 桜井 雅史, 村上 由希, 山本康子, 竹村 正男, 林 慎, 松波 英寿, 松尾 雄志, 船渡 忠男, 登 勉, 齊藤 邦明: 先制医療の実現に向けたバイオリソースバンクでのデータベース構築 (第 1 報) 第 61 回 日本臨床検査医学会 (福岡, 2014 年 11 月 25 日)

・ 村上 由希, 齊藤邦明: 個別化医療の実現に向けたデータベース構築 第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 30 回 日本健康科学会 (浜松, 2014 年 9 月 20 日)

・ 毛利彰宏, 野田幸裕, 渡辺 研, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 鍋島俊隆: 妥当性に基づく精神疾患モデルの開発とその臨床応用: うつ病モデル動物としての MAGE-D1 遺伝子欠損マウスの妥当性と診断薬開発の試み。第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 44 回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (名古屋, 2014 年 11 月 21 日)

・ 毛利彰宏, 横山美里, 石原歩美, 肥田裕丈, 國本正子, 渡辺 研, 尾崎紀夫, 鍋島俊隆, 野田幸裕: 幼若期社会的敗北ストレスによるセロトニントランスポーターのユビキチン化の低下とうつ様行動。第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 44 回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (名古屋, 2014 年 11 月 21 日)

・ 横山美里, 毛利彰宏, 木村真理, 椿井 朋, 肥田裕丈, 木村宏之, 徳倉達也, 吉見 陽, 河野直子, 國本正子, 尾崎紀夫, 鍋島俊隆, 野田幸裕: 血症板におけるユビキチン化セロトニントランスポーターの発現レベルとパーソナリティとの関連性。第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 44 回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (名古屋, 2014 年 11 月 21 日)

・ 木村真理, 毛利彰宏, 横山美里, 椿井 朋, 肥田裕丈, 木村宏之, 徳倉達也, 吉見 陽, 河野直子, 國本正子, 尾崎紀夫, 鍋島俊隆, 野田幸裕: うつ様症状の診断や治療薬選択のバイオマーカーの開発: セロトニントランスポーターの代謝調節機構からのアプローチ。第 8 回精神科専門薬剤師セミナー (名古屋, 2014 年 11 月 23 日)

・ 山本文哉, 肥田裕丈, 森健太郎, 毛利彰宏, 石原歩美, 尾崎紀夫, 野田幸裕: ストレス負荷によって惹起されるうつ様行動におけるセロトニントランスポーターのリン酸化制御の関与 日本薬学会第 135 年会 (神戸, 2015 年 3 月 26 日予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

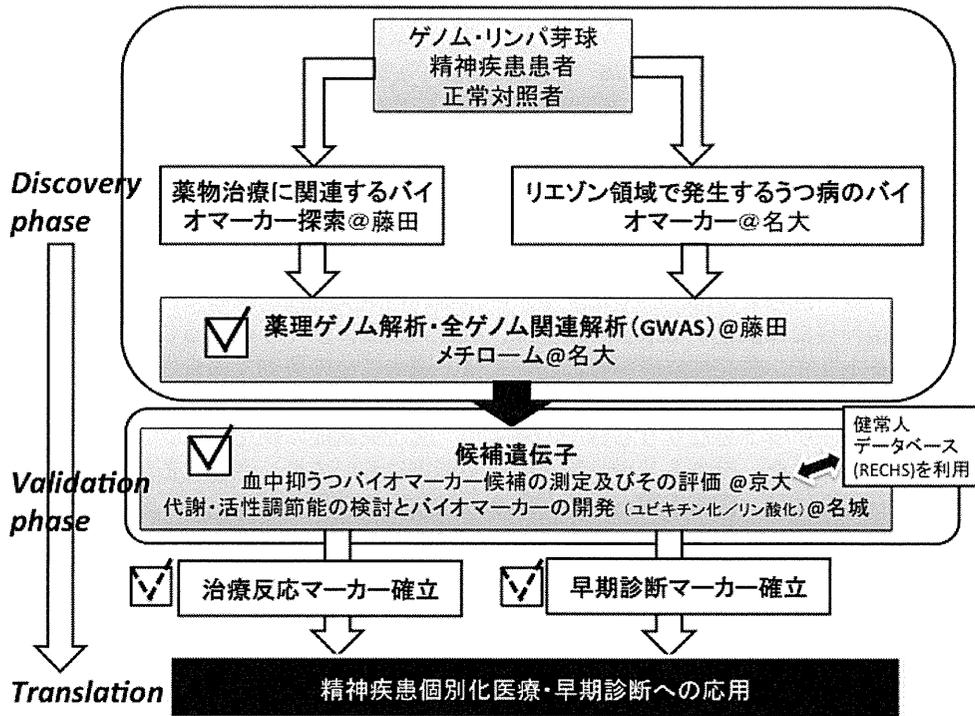
2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

(資料1) プロジェクト全体図



薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

業務主任者 岩田 伸生 藤田保健衛生大学医学部 教授

研究要旨

治療反応性や副作用などの薬理ゲノム学的（PGx）表現型を規定する遺伝子多型の effect size は疾患感受性のそれに比し、大きいと想定されている。本研究では、アドヒアランスが重要な精神疾患における PGx 研究を、1) 抗精神病薬反応性、および2) 抗てんかん薬・気分調整薬であるラモトリギンが誘発する皮膚障害を対象に、バイオマーカー探索を目的に行った。1) の抗精神病薬反応性に関して、有意な予測因子を同定できなかったが、抗精神病薬に関連する遺伝子多型は、統合失調症に多く存在することを示唆する結果を得た。また、2) のラモトリギン誘発性皮膚障害においては、過去に他の薬剤で報告されている遺伝子領域の関連傾向を得た。

本結果は、抗精神病薬のターゲットとなりうる分子の異常が、統合失調症の疾患リスクになりうることを間接的に支持するものであり、また、ラモトリギン誘発性皮膚障害においても、さらなる検討で有意なリスク遺伝子多型を同定できた場合には、臨床応用への足がかりとなりうる結果である。

A. 研究目的

精神疾患の多くはほぼ生涯にわたって内服を継続する必要があるため、良好なアドヒアランス維持が重要である。また早期の診断・治療介入が予後を左右するため、適切な薬物を必要用量で当初から使用することが求められている。薬剤反応性に関与する遺伝子多型を同定する解析、薬理ゲノム学研究（PGx）は、多型毎の effect size は大きいと考えられており、未だ不明である精神疾患の病態生理をスキップした上で、現状の試行錯誤的薬物選択を脱却できる蓋然性が高い。即ち予測因子としてのバイオマーカーを同定することで臨床への直接還元が期待される。実際、過去の候補遺伝子研究では同定できなかった予測因子が、最近の網羅的ゲノム解析により、例えばカルバマゼピンに対する Stevens/Johnson 症候群（SJS）・中毒性表皮壊死症（TEN）の予測因子が判明、臨床応用が期待されている。本研究では、既に収集している PGx 表現型を具備したサンプルの PGx を行い、未知の予測因子同定を目指す。これらサンプルでは、治療反応性として1) 抗精神病薬反応性 PGx を、副作用予測として2) ラモトリギン（LTG）誘発性皮膚障害 PGx を対象とする。

B. 研究方法

1) 対象

-抗精神病薬反応性 PGx

107 名の初発統合失調症にリスペリドンを単剤投与し

たサンプルを対象とした。このサンプルでは、初診時と8週後に精神病症状の評価尺度である PANSS を施行し、その変化率を計算する。また、後述する polygenic component 解析においては、874 名の統合失調症と 962 名の正常対照者を対象とした。

-LTG 誘発性皮膚障害 PGx

101 名の LTG 誘発性皮膚障害（SJS/TEN および播種状紅斑丘疹：MPE）と、197 名の LTG 投与コントロール（LTG を投与しても皮膚障害を生じない群）を対象とした。

2) DNA チップ

抗精神病薬反応性 PGx では、Affymetrix 6.0 chip を、また、LTG 誘発性 PGx では、Illumina OmniExpressExome chip を用いた。

3) Quality control (QC)

QC として、SNP call rate (>99%)、主成分分析を用いた集団の構造化を評価し、outlier となるサンプルを除外した。引き続き minor allele frequency が 1% 以上のみの SNP を対象とした。

4) 統計解析

SNP の対立遺伝子（アレル）の関連は、抗精神病薬反応性 PGx では linear regression 解析を、LTG 誘発性皮膚障害 PGx ではカイ二乗検定を用いた。

また、抗精神病薬反応性 PGx においては、「抗精神病薬反応性を規定する SNP は、疾患感受性と共通する」という仮説のもと、polygenic component 解析を行った。本解析で設定する有意水準は、genome-wide significance (5×10^{-8}) ではなく、非常に緩い有意水準を設定することで (P threshold という: P_T 例えば $P_T < 0.5$ など)、「リスク」を定義する。つまり、genome-wide significance を超えていない SNP をも対象とすることになる。この「リスク」同定を discovery セットで解析 (この場合、抗精神病薬反応性を規定する SNP)、「リスク」を決定する。次に独立した target セットでその「リスク」アレルの多寡を調べ、そして統合失調症と正常対照群でその総数の平均に差があるかを検討することで、本仮説を検証する。

(倫理面への配慮)

本研究課題は、精神疾患患者群、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究である。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に即して編成された藤田保健衛生大学倫理委員会において本研究課題に直結するゲノム研究に関する課題、「遺伝子解析によるこころの健康とこころの病気に対するかかりやすさ (発症脆弱性) や薬の効きめや副作用 (治療反応性) 等の解明に関する研究」の研究計画書を提出し、承認を受け、これまでも研究を遂行してきた。

平成18年度以降、試料提供者へのインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理 (匿名化) などを徹底し、倫理的配慮を持って研究を進めている。

また報告者は日本人類遺伝学会の臨床遺伝専門医として藤田保健衛生大学病院遺伝医療相談を担当しており、本研究のみならず様々な遺伝相談に応じる体制を構築し対応する環境を整備している。

C. 研究結果

1) 抗精神病薬反応性 PGx

GWAS における有意水準のベンチマークである genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) を超える SNP は同定できなかった。Best hit は、LIM and cysteine-rich domains 1 (LMCD1) 上流に位置する SNP で (rs223305)、 $P = 1.6 \times 10^{-6}$ であった (論文 1 参照: Ikeda M et al. Journal of clinical psychopharmacology)。

他方、polygenic component 解析の結果、緩い有意水準で定義された ($P_T < 0.5$) 治療反応性規定 SNP は、有意に

統合失調症に多く存在することが認められた ($P = 3.8 \times 10^{-3}$, 論文 1 参照: Ikeda M et al. Journal of clinical psychopharmacology)。

2) LTG 誘発性皮膚障害 PGx

GWAS における有意水準のベンチマークである genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) を超える SNP は同定できなかったが、多くの薬剤誘発性皮膚障害で過去に他の薬剤で報告されている遺伝子領域において関連の傾向を同定した ($P \sim 10^{-5}$: 論文準備中のため詳細は現在報告できない)。その他の領域では、intergenic 領域の関連傾向を認められたが、有望な遺伝子座におけるものではなかった。

D. 考察

抗精神病薬反応性 PGx においては、期待されるほど大きな effect size の規定 SNP は存在しない可能性が示唆された。他方、抗精神病薬治療反応性と関連する SNP が、統合失調症により多く認められることも同定された。本結果は、過去の「抗精神病薬」のターゲットに基づく候補遺伝子の妥当性を間接的に示唆する。

また、LTG 誘発性皮膚障害においては、過去に他の薬剤で報告されている遺伝子領域が関連する可能性を示唆している。今後、本領域の絞り込みを行うことで、より大きな effect size を持つリスク多型を同定する必要がある。

E. 結論

抗精神病薬と統合失調症のリスクの共通性を同定したことは、これまで抗精神病薬のターゲットを対象としたモデル動物の意義に一定の証左を示したことであり、重要な知見となった。

また、LTG 誘発性皮膚障害では、今後の結果によっては、臨床応用への展開が期待できる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ikeda, M, Yoshimura R, Hashimoto R, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Ohi K, Tochigi M, Kawamura Y, Nishida N, Miyagawa T, Sasaki T, Tokunaga K, Kasai K, Takeda M, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N (2015). "Genetic

overlap between antipsychotic response and susceptibility to schizophrenia." Journal of clinical psychopharmacology 35(1): 85-88.

2) Hatano M, Ikeda, M, Kondo K, Saito T, Shimasaki A, Esaki K, Umene-Nakano W, Yoshimura R, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N (2015). "No support for replication of the genetic variants detected by a recent mega-analysis of the treatment response to antidepressants" Journal of Human Genetics, In Press.

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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

薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

代謝変容を基軸とした抑うつバイオマーカー検索

業務分担者 齊藤 邦明 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

うつ病は自殺の主たる原因になっており、最近では労働者のメンタルヘルス対策によりストレスチェックが法定で義務化されるなど、社会問題化している。そういった深刻な問題であるにもかかわらず、うつ病の診断に有用な生体指標の開発は発展途上にある。本研究では、健常人データベース解析から解析対象を効率的に抽出できるデータベースの構築および対象となるバイオリソースを用いた抑うつのバイオマーカー探索、さらには新たなターゲット因子の機能解析を行った。1) サイトカイン高発現により誘導される、抑うつ疾患動物モデルの解析結果より、ターゲット遺伝子の候補としてセロトニン系に加えて、トリプトファン-キヌレニン代謝の変容が重要であることを明らかにした。また、2) 歴年的バイオリソースおよび健康情報をデータベース化し、より効率的に抑うつバイオマーカーを検索する足がかりとなるシステムが構築された。さらに、データベースより効率的に抽出した血液を解析し、トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性を示した。本結果は、新たな抑うつのリスクとなるターゲットの存在を示唆する重要な知見であり、臨床応用が充分期待できる。また、人間ドックの歴年的検診データなど抑うつ、ストレスなどの解析結果をデータベース化し、効率的に解析サンプルを抽出することで、新規バイオマーカー探索を可能としたことの行政的意義は大きい。

A. 研究目的

メンタルヘルス対策の充実を目的として職員のストレスをチェックする事を義務化する労働安全衛生法の一部を改正する法案（ストレスチェック義務化法案）が本年成立した。しかし、ストレスによる不健康を見つけ出すためのバイオマーカー、確定診断、その間の治療と社会復帰等、その社会医療システム構築は発展途上である。特にストレスに関連した抑うつ症状の発症は、遺伝的素因と環境要因の間で生じる相互作用（gene-environment interaction）が深く関係している。本研究では、1) 抑うつ関連バイオマーカー検索として、サイトカインの高発現により誘導されたうつ様マウスモデルを作製し、ターゲット遺伝子の代謝変容を基軸とした機能解析を行う。2) ストレスならびに食習慣に関する調査データが付随した歴年的（経時的）に採取・保存された人間ドック、疾患バイオリソース（BR）を用いて、ビッグデータ解析を可能とするデータベースを作成する。さらに、効率的に選択したバイオリソースを用いて、新規バイオマーカー検索および抑うつの発症に伴い変動する疾患特異的代謝機能の変動を解析する。

B. 研究方法

1) 疾患動物モデル

サイトカインの高発現により誘導されたうつ様マ

ウスモデルを作製し、ターゲット遺伝子の1つとしてトリプトファン-キヌレニン代謝機能解析を行った。

1. サイトカイン遺伝子導入法：

野生型マウス（C57BL/6J、8週齢、♂）は清水実験材料株式会社より購入し、本学の動物舎（室温 25±1℃、湿度 55±5%、明暗サイクル 7:00-19:00）で飼育した。1週間の馴化期間後、IFN高発現群はLiuらの方法に従い、IFNpDNAをマウス体重の約9%量の生理食塩水に溶解し、尾静脈から5秒以内に全量注入した。コントロール群には、同様の方法で生理食塩水のみを尾静脈から注入した。ターゲット分子の1つとしてトリプトファン-キヌレニン代謝を変容させるID01遺伝子欠損マウス（C57BL/6J Background）を用いた。

2. 強制水泳試験法：

試験にはスキヤンネット MV-40 AQ（メルクエスト社）を用いた。実験開始1時間前よりマウスを実験室（室温 25±1℃、湿度 55±10%）にて実験室に馴化させた。シリンダーにはあらかじめ13.5 cmの高さまで水道水（22±1℃）を入れ、その中でマウスを6分間強制的に水泳させ、6分間のうち後半5分間の無動時間を測定した。シリンダーは試験毎に水道水で洗浄した。

2) 対象としたサンプル

リエゾン領域で発症するうつ病を解析するための基

礎データとして、ターゲット分子をより効率的に解析するために抑うつを対象にしたバイオリソースと個々人の健康情報をデータベース化した。解析したサンプルは健康科学リソースセンターで歴年的に保存されている 2085 名の CES-D、GHQ28 および BSID など質問紙による調査データならびに人間ドック検診項目ほかを対象とし、解析が必要となる健常群を抽出、リエゾン領域で発症するうつ病の新規バイオマーカー検索を行うためのシステムを構築した。抽出したサンプルは、ターゲット分子の1つであるトリプトファンキヌレニン代謝系代謝産物について多成分の測定を行った。抑うつの調査質問紙は下記に示したものを使用した。

1. CES-D

Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) は一般人のうつ症状の評価を目的として 1977 年に Radloff が作製した国際的に妥当性が示されている質問紙である。20 項目からなり、0, 1, 2, 3 点の 4 段階で 0~60 点で評価する。ガイドラインに従って 16 点以上を抑うつとした。

2. GHQ28

General Health Questionnaire (GHQ: 精神健康調査票) は神経症者の症状把握、評価、迅速な発見のために 1978 年に Goldberg が開発した質問紙で、国際的に妥当性が示されている。GHQ28 は GHQ60 の短縮版で、4 区分 28 項目 4 段階 (0, 0, 1, 1 点) の 0~28 点で評価する。日本語版 GHQ28 では健常者と神経症者との臨界点は 5/6 点、うつ状態を目的とした場合は 7/8 点が妥当であると報告されているため、8 点以上を抑うつとした。

3. BSID

うつ病の簡便な構造化面接法 (Brief Structured Interview for Depression: BSID) を用いた。

3) サンプル抽出

2012 年度の、解析した 2085 名中、抑うつ陽性であった 60 名 (男性 41 名、女性 19 名) (測定 55 名 (男性 37 名+女性 18 名) 分) のうち、抗うつ薬を服用している 6 名を除いた 49 名を解析対象とし、健常群と年齢をマッチさせることができた 42 名 (男性 28 名、女性 14 名) と健常群 42 名 (男性 25 名、女性 17 名) を抽出して比較検討した。なお、この健常群は「対照となる健常人の抽出」で選別された健常群のうち、GHQ28 < 8 点、CES-D < 16 点を共に満たす 61 名 (男性 29 名、女性 32 名) から年齢に応じて抽出した。

4) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

血清の 4 分の 1 量の 10% 過塩素酸を用いて除蛋白した。14000rpm、4°C で 10 分間遠心後、上清を高速液体クロマトグラフィー LC-20AD (島津製作所) に 50 μ l 注入し、上清中の kynurenine (Kyn)、tryptophan (Trp)、3-hydroxyanthranilic acid (3HAA)、kynurenic acid (KA)、anthranilic acid (AA) を測定した。移動相として 10mM 酢酸ナトリウム、0.5~1.25% アセトニトリル (pH 4.5) を調整し、流量を 0.9ml/min に設定した。カラムは TSKgel ODS-100v 3 μ m 4.6mm (ID) \times 15 cm (L) を用い、カラム温度 40 度で測定を行った。Trp、Kyn の測定には紫外線可視分光検出器 (SPD-20A、島津製作所) を用い、Kyn 測定は UV 波長 365nm、Trp 測定は UV 波長 280nm で行った。3HAA、KA、AA の測定には蛍光検出器 (RF-10AXL、島津製作所) を用い、3HAA、AA 測定は励起波長 320nm、蛍光波長 420nm で行い、KA 測定は励起波長 334nm、蛍光波長 380nm で行った。3HK 測定は、上記の方法とは別に血清の 4 倍量の 10% 過塩素酸を用いて除蛋白した。14000rpm、4°C で 10 分間遠心後、上清を高速液体クロマトグラフィー (エイコム) に 20 μ l 注入し、上清中の 3HK を測定した。移動相として 0.27mM EDTA、8.9mM 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム、0.59% リン酸、0.9% トリエチルアミン、1% アセトニトリルを調整し、流量を 0.5ml/min に設定した。3HK の測定には電気化学検出器 (Eicom ECD-300、エイコム) を用い、印加電圧は +500 mV に設定した。カラムは EICOMPAK SC-50DS 3.0mm (ID) \times 150mm (L) を用い、カラム温度 25°C で測定を行った。

5) 統計解析

データはすべて平均 \pm 標準偏差 (mean \pm SD) で表記した。2 群間での有意差の判定には t-test または Mann-Whitney test を用い、3 群以上での有意差の判定には ANOVA と Bonferroni post hoc test を用いた。P < 0.05 を統計学的に有意差ありと判断した。

(倫理面への配慮)

健常人バイオリソースと健康情報の使用については、ヘルシンキ宣言の倫理規定および厚生労働省による臨床研究指針を遵守し、被験者の同意の自由、同意の取り下げの自由があり、プライバシーの保護 (個人情報保護) に配慮し、人権保護を最優先した上で使用することを徹底している。実験計画は京都大学大学院医学研究科・医学部および医学部附属病院の医の倫理委員会に關係書類を提出し承認を得ている。実験動物

の使用に関しては、動物愛護法を遵守し、京都大学における動物実験の実施に関する規定に基づき、動物実験計画書を提出、動物実験委員会で承認、また遺伝子操作動物については組み替えDNA実験・研究用微生物安全委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) 薬物治療に関連するバイオマーカー探索に関する研究

サイトカインの高発現により誘導された、うつ様マウスモデルを解析し、行動薬理的解析を行った結果、ターゲット分子の1つである IDO1 分子を抑制する事により、抑うつが軽減、さらに、IDO1 遺伝子欠損マウスのフェノタイプ解析により IDO1 遺伝子の抑制により不安が軽減する事が明らかとなった。

2) リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に関する研究

抑うつ、ストレス調査データ (CES-D、GHQ28 および BSID) ならびに人間ドック検診項目ほかを解析し、リエゾン領域で発症するうつ病の新規バイオマーカー探索を行うための基礎的解析を進めるためのデータベース化を行った。さらに、本データベースを利用し、健常人血清を用いたターゲット分子の探索を行うために、抗うつ薬を服用していない質問紙による抑うつ陽性群 42 名 (男性 28 名、女性 14 名) と平均年齢がほぼ同じ健常群 42 名 (男性 25 名、女性 17 名) を抽出し、ターゲット分子について解析を行った。その結果、データベースから抽出した血清トリプトファン-キヌレニン代謝産物は、抑うつ陽性群は健常人に比べ有意なトリプトファン-キヌレニン代謝系の上昇が認められた。さらに、マウスの行動薬理的解析より、トリプトファン-キヌレニン系代謝変動と抑うつ様症状の発症との関係が認められた。すなわち、キヌレニン代謝基軸を変動させる事で、不安あるいは抑うつ状態を動物で検証可能であり、抑うつ疾患モデルマウスとして有用であることを示唆している。

D. 考察

健常人バイオリソースの健康情報をデータベース化し、より効率的に抑うつバイオマーカーを検索する足がかりとなるシステムが構築された事の意義は大きい。データベースを用いる事で、今回トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性を示し、ターゲット遺伝子候補をマウスで遺伝子改変することにより機能解析を可能とした。今後は、個々人の歴年的なバイオリソースを用いた検索な

らびに産科あるいは口腔外科リエゾン領域の患者サンプルについてトリプトファン-キヌレニン代謝産物を測定し、関連分子であるサイトカイン系の変動と比較検討することによりリスクファクターに関するプロファイル解析が期待できる。

E. 結論

トリプトファン-キヌレニン代謝の変容がセロトニン系に加えて新たな抑うつのリスクとなる可能性を示唆する重要な知見となり、臨床応用が期待できる。

また、人間ドックの歴年的検診データなど抑うつ、ストレスなどの解析結果をデータベース化し、効率的に解析サンプルを抽出することで、新規バイオマーカー探索を可能としたことの行政的意義は大きい。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 松尾雄志, 桜井雅史, 齊藤邦明. 先制医療への挑戦 - バイオマーカー開発に求められる方向性 - : 先制医療に必要なバイオリソース/データバンク 臨床化学 43(4) 302-312. 2014.
- 2) 桜井雅史, 松尾雄志, 村上由希, 山本康子, 竹村正男, 松波英寿, 齊藤邦明. データヘルス計画とはなにか 健康管理のデータベース化と解析手法 機器・試薬 37(4) 2014.

2. 学会発表

- 1) 齊藤邦明: 免疫調節因子 IDO と抑うつとの関わり 第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 44 回 日本神経精神薬理学会 合同年会 (名古屋、2014 年 11 月 22 日)
- 2) 竹田 真由、加奈山憲代、桜井 雅史、村上 由希、山本 康子、竹村 正男、林 慎、松波 英寿、松尾 雄志、船渡 忠男、登 勉、齊藤 邦明: 先制医療の実現に向けたバイオリソースバンクでのデータベース構築(第1報) 第61回 日本臨床検査医学会 (福岡、2014年11月25日)
- 3) 村上 由希、齊藤邦明: 個別化医療の実現に向けたデータベース構築 第 24 回 日本臨床精神神経薬理学会 第 30 回 日本健康科学会 (浜松、2014 年 9 月 20 日)

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

リエゾン領域に発生するうつ病バイオマーカーの探索

1) 周産期領域のうつ病バイオマーカーの探索

2) 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

分担研究者 尾崎 紀夫 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学・親と子どもの心療学分野 教授

研究要旨

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカーの探索

背景・目的：発症率が約10%と比較的高い産後うつ病を対象として、うつ状態に関与する分子同定を目指す。
方法：産後に抑うつを呈した妊産婦のDNAサンプルにおいて網羅的メチル化解析を行った。産後のメチル化頻度の比較のために、非抑うつ群（12例）と産後抑うつ群（12例）を対象とした。また、産前産後のメチル化状態の変化の確認のために、非抑うつ群（8例）と産後抑うつ群（4例）を対象とした解析を行った。
結果・結論：網羅的メチル化解析において、2群間で差のある領域が転写不活性化と密接に関与することを確認することができた。現段階では当初の目標例数には達しておらず、多重比較を考慮すると有意ではないため、例数を増やして検討する必要がある。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

背景・目的：口腔内疼痛という共通因子を持ち約40%と高頻度に抑うつ状態を呈する口腔外科領域の慢性疼痛患者を対象として、うつ病のバイオマーカーを探索する。
方法：口腔内慢性疼痛患者の抗うつ薬による治療前後の血漿（各48例）を収集し、各種うつ病バイオマーカー候補物質の血中濃度測定を行った。その治療前後での比較、および非抑うつ群・抑うつ群間での比較を行った。
結果・結論：治療前後において、複数の血中物質（具体的には、IL-2、MCP-1、MIP-1 α 、Eotaxin）の濃度が有意に変動することが確認できた。また、抑うつ群では、非抑うつ群に比して、特定の血中物質（具体的にはinterferon - γ 、MCP-1）の濃度が有意に高値であった。以上より、特定の血中物質がうつ病のバイオマーカー探索の足がかりとなる可能性を示すことができた。今後、例数を増やしてさらに解析を進める。

A. 研究目的

身体疾患はうつ病のリスクであり、精神科以外の患者におけるうつ病頻度は高く、総合病院での自殺は大きな問題である。一方、リエゾンが出来る総合病院は限られており、多くは院内外の精神科へコンサルテーションが為されている。しかし、非精神科の医師では、どの症例をコンサルトすべきか決定しがたいという問題があり、閾値下の抑うつ状態群と、うつ病群を峻別するマーカーが待望されている。そこで、身体科医師では困難な「うつ病」診断の補助を開発し、閾値下の「うつ状態」すなわちコンサルト不要な状態と、精神科治療が必要である患者の峻別、スムーズなリエゾン体制の構築を目的とし、リエゾン領域で発生するうつ病のバイオマーカー探索に

関する研究を実施した。

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカー探索

周産期におけるエピジェネティック機構を明らかにし、産後うつ病のバイオマーカーを探索することを目指した、網羅的メチル化解析を行った。本研究では、小規模サンプル数でも解析に耐えられるよう、うつ病の中でも、妊娠・出産・育児という共通したストレスを有する周産期うつ病を対象とした。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

うつ病のバイオマーカーを探索することを目指して、サイトカイン等の血中候補物質の測定・解析を行った。

本研究では、小規模サンプル数でも解析に耐えられるよう、口腔内疼痛という共通した因子を持つ口腔外科領域の慢性疼痛患者を対象とした。本患者群は約40%という高頻度でうつ状態を呈していることが事前の調査で分かっている。

B. 研究方法

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカー探索対象

研究についての説明を行い、文書同意が得られた20歳以上の妊産婦を対象とした。

方法

名古屋大学は、同一地域内で複数の産科医療機関と共同して妊産婦の前向きコホート研究(年間約100例ずつ包含)を遂行中であり、全例でエジンバラ産後うつ病自己評価票による産後の抑うつ状態の評価を実施している。加えて、人格傾向、ソーシャルサポート、養育体験などを含む心理検査および血液採取を実施し、データの集積を続けている。既に1,000例以上のデータを集積しており、本データセットを利用した研究を行った。

妊産婦の前向きコホート研究対象者のうち、非抑うつ群12例、産後抑うつ群12例に対し、Human Methylation 450 BeadChipを用いた網羅的メチル化解析を行い、非抑うつ群と産後抑うつ群において、産後に採血した末梢血由来のDNAメチル化頻度に差のある領域の特定を行った。また、前述の24例のうち、非抑うつ群8例、産後抑うつ群4例については、出産を機にしたメチル化頻度の変化を確認するために、産前に採血した末梢血由来のDNAと、産後に採血した末梢血由来のDNAの、メチル化頻度の比較を行った。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索対象

口腔内の慢性疼痛を訴えて口腔外科外来を初診した20歳以上の患者のうち、研究についての説明を行い、文書同意が得られた者を対象とした。

方法

名古屋大学は、関連医療機関と共同してリエゾン活動を行っており、上記患者を対象として前向きコホート研究を行っている。Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor (SNRI)に分類される抗うつ薬であるduloxetine (20-40mg/d)を用いて薬物治療を行い、治療開始時と12週時点で、ハミルトンうつ病評価尺度とベック抑うつ評価尺度を用いた抑うつ症状の評価を行い、加えて、人格傾向、ソーシャルサポート、養育体験などを

含む心理検査および血液採取を実施しており、データの集積を続けている。

この前向きコホート研究において採取した血漿(48例)を用いて、以下の血中うつ病バイオマーカー候補物質: interleukin(IL) -1b、IL-2、IL-6、IL-10、IL-17、interferon-inducible protein (IP) -10、high sensitivity C-reactive protein、tumor necrosis factor (TNF) - α 、interferon - γ 、monocyte chemotactic protein (MCP) -1、macrophage inflammatory protein (MIP) -1 α 、eotaxinの測定を行い、治療前後での血中濃度の変化、および初診時点の非抑うつ群・抑うつ群間での血中濃度の比較を行った。なお、ハミルトンうつ病評価尺度8点以上を抑うつ群、7点以下を非抑うつ群と定義した。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学大学院医学系研究科及び医学部附属病院生命倫理審査委員会、全参加施設の倫理委員会にて承認を得ている。全参加者から書面による研究同意を得た。

C. 研究結果

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカー探索

非抑うつ群と産後抑うつ群の、メチル化頻度の差の検定を実施した(t検定)。Benjamini-Hochberg法を用いて多重検定補正を実施したところ、補正後に $p < .05$ となるプローブは現時点では確認されず、非抑うつ群と産後抑うつ群において、メチル化頻度に差のある部位の特定はされなかった。多重検定補正前では、 $p < .05$ で、かつ、非抑うつ群と産後抑うつ群のメチル化頻度の差分値が0.15より大きいプローブは81確認された。そのうち、産後抑うつ群における低メチル化のCpGサイトが63%、高メチル化のCpGサイトが37%であった。産後抑うつ群と非抑うつ群でメチル化頻度に差がみられた領域の割合は、それぞれIsland(7%)、N_Shore(14%)、S_Shore(2%)、N_Shelf(8%)、S_Shelf(10%)であった。また、同一被験者の産前・産後のメチル化頻度についてもメチル化解析をおこなった。試行的な解析を行い、メチル化レベルに差のあるCpG siteが一部抽出されたが、産前・産後の比較については、非抑うつ群8例、産後抑うつ群4例と未だ例数が少なく、メチル化頻度に差のある領域の同定には至っていない。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

Wilcoxonの符号付き順位和検定を実施して、治療前後

での血中物質濃度の変化について検討した(n=48)。その結果、IL-2 (p<0.01)、MCP-1 (p<0.05)、MIP-1 α (p<0.01)、Eotaxin (p<0.01) において有意な濃度低下を認めた。他の物質ではいずれも有意差を認めなかったものの、IL-1b、IL-6、IL-10、IP-10、TNF- α では低下傾向を認めた。

48例のうち抑うつ群が20例、非抑うつ群が26例、不明が2例であった。Mann-Whitney検定を実施して非抑うつ群と抑うつ群での比較を行ったところ、interferon- γ (p<0.05)、MCP-1 (p<0.05) では、抑うつ群において血中濃度が有意に高値であった。

D. 考察

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカー探索

網羅的メチル化解析を行ったが、非抑うつ群と産後抑うつ群とにおいて、メチル化頻度に差のある領域の特定はできなかった。しかし、多重比較を考慮すると有意ではないものの、2群間で差のある領域が転写不活性化と密接に関与することを確認するなど、一定の成果を得ることができた。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

抗うつ薬であるduloxetineの治療前後において、複数の血中物質濃度が有意に変動することが確認できた。また、抑うつ群と非抑うつ群との比較でも、複数の血中物質の有意な濃度差を認めた。特に、各種炎症性疾患において単球やT細胞の組織浸潤に関与すると言われるMCP-1については、抑うつ群で有意に高く、また抗うつ薬の治療によって有意に低下するという結果が得られた。今回得られた結果をどのように解釈するかは今後の課題であるが、これらの血中物質と抑うつとの関連を示唆する報告も多数あり、意義のある結果が得られたと考える。閾値下抑うつ群とうつ病群を峻別する明瞭なバイオマーカーの同定には至らなかったものの、特定の血中物質、具体的には特定のサイトカインがバイオマーカー探索の足がかりとなる可能性を示すことができた。

E. 結論

1. 周産期領域のうつ病バイオマーカー探索

網羅的メチル化解析の目標例数であった非抑うつ群(30例)、産後抑うつ群(30例)の解析が完了しておらず、非抑うつ群と産後抑うつ群とにおいて、メチル化頻度に差のある領域の同定には至っていない。現在もサンプリングを継続中であり、今後例数を増やしてさらに解析を進める。

2. 口腔外科領域のうつ病バイオマーカーの探索

特定のサイトカインがバイオマーカー探索の足がかりとなる可能性を示すことができた。現在もサンプリングを継続中であり、今後例数を増やしてさらに解析を進める。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohoka H, Koide T, Goto S, Murase S, Kanai A, Masuda T, Aleksic B, Ishikawa N, Furumura K, Ozaki N: Effects of maternal depressive symptomatology during pregnancy and the postpartum period on infant-mother attachment. *Psychiatry Clin Neurosci* 68 (8):631-9, 2014

2) Kubota C, Okada T, Aleksic B, Nakamura Y, Kunimoto S, Morikawa M, Shiino T, Tamaji A, Ohoka H, Banno N, Morita T, Murase S, Goto S, Kanai A, Masuda T, Ando M, Ozaki N: Factor structure of the Japanese version of the edinburgh postnatal depression scale in the postpartum period. *PLoS One* 9 (8):e103941, 2014

3) Adachi Y, Kimura H, Sato N, Nagashima W, Nakamura K, Aleksic B, Yoshida K, Fujimoto Y, Nakashima T, Ozaki N: Preoperative Level of Depression is a Predictor of Postoperative Levels of Depression in Patients with Head and Neck Cancer. *Jpn J Clin Oncol* 44 (4):311-7, 2014

4) Tokura T, Kimura H, Ito M, Nagashima W, Sato N, Kimura Y, Arao M, Aleksic B, Yoshida K, Kurita K, Ozaki N: Temperament and character profiles of patients with burning mouth syndrome. *J Psychosom Res*: (in press)

2. 学会発表

1) 越路文香、足立康則、木村宏之、山本崇正、太田愛美、伊藤陽菜、六鹿雅登、藤本和朗、碓氷章彦、尾崎紀夫: 補助人工心臓装着術後の抑うつ症状の縦断的調査, in 第27回日本総合病院精神医学会総会, つくば国際会議場, 2014

2) 高木麻里、川口綾、齋藤真衣子、間島野花、吉村香那、木村宏之、西田徹也、村田誠、中村みゆき: 同

種造血幹細胞移植後に食欲不振が持続した患者への取り組み～リエゾン精神医療とのチーム医療～, in 第36回日本造血幹細胞移植学会総会. 沖縄, 2014

3) 鈴木信幸、木村宏之、西岡和郎、尾崎紀夫: 疼痛性障害に伴う胸痛に対してリスペリドンが有効であった一例, in 第172回東海精神神経学会. 名古屋大学 鶴舞キャンパス, 2014

4) 鈴木伸幸、砂田紗季、岸辰一、藤城弘樹、木村宏之、岡田俊、尾崎紀夫、山口尚子、坪井千里、亀井秀弥、大西康晴、小倉靖弘: 生体肝移植ドナー候補者における精神医学的合併症, in 第27回日本総合病院精神医学会総会. つくば国際会議場, 2014

5) 近藤康史、玉越悠也、永田紘一郎、木村宏之、小野木千恵、須賀研治、西尾直樹、小出悠介、平松真理子、藤本保志、入谷修司、尾崎紀夫: 自殺企図の自傷行為によって耳鼻咽喉科に搬送されたうつ病患者の精神科対応の報告, in 第27回日本総合病院精神医学会総会. つくば国際会議場, 2014

6) 牧野拓也、棟近孝之、鈴木太、宇野洋太、岡田俊、尾崎紀夫: 小児がんリエゾンにおける臨床心理士の働き～介入初期に焦点を当てて～, in 東海精神神経学会. 愛知, 2014

7) 森川真子、岡田俊、宇野洋太、尾崎紀夫: 母親を支える妊娠期からのソーシャルサポートが産後うつ状態に与える影響, in 第55回日本児童青年精神医学会. アクトシティ浜松, 2014

8) 森川真子、岡田俊、中村由嘉子、國本正子、久保田智香、宇野洋太、安藤昌彦、尾崎紀夫: 産後の抑うつ状態とソーシャルサポート, in 第11回うつ病学会総会. 広島, 2014

9) 杉本啓之、廣岡芳樹、川嶋啓揮、大野栄三郎、鷺見肇、林大樹朗、桑原崇通、森島大雅、河合学、須原寛樹、古川和宏、船坂好平、中村正直、宮原良二、安藤昌彦、鈴木美穂、木村宏之、尾崎紀夫、後藤秀実: 膵癌患者における健康関連 QOL と予後との関連, in 日本消化器病学会雑誌, 2014, p A962

10) 杉下美保子、十九浦宏明、宮崎雅之、原万里子、木村宏之、尾崎紀夫、高橋義行、小島勢二、百田洋之、若林俊彦、安藤雄一: 根治が難しい小児がん患児における化学療法の実状, in 日本緩和医療学会学術大会, 2014, p 490

11) 木村宏之: アルコール性肝不全の肝移植適応-(6-months rule)とRecidivism, in 第10回伊豆肝臓カンファレンス. 伊豆, 2014

12) 峯岸静乃、山内彩、岡田俊、西岡和郎、尾崎紀夫: 当院における周産期・母子保健、産科リエゾンとその課題, in 第172回東海精神神経学会. 名古屋大学 鶴舞キャンパス, 2014

13) 山本崇正、足立康則、太田愛美、伊藤陽菜、越路文香、木村宏之、藤本和朗、六鹿雅登、碓氷章彦、尾崎紀夫: 補助人工心臓装着術後の抑うつ症状の縦断的調査, in 第71回日本循環器心身医学会総会. 北海道大学 学術交流会館, 2014

14) 山内彩、岡田俊、西岡和郎、尾崎紀夫: 総合周産期母子医療センターにおける心理的介入と課題—大学病院における実践から—, in 第27回日本総合病院精神医学会総会. つくば国際会議場, 2014

15) 尾崎紀夫: シンポジウム4 周産期うつ病患者への) 応周産期のうつ病患者を理解し、妥当性の承認 (validation of perception)へ, in 第11回 日本うつ病学会. 広島, 2014

16) 尾崎紀夫: ライフサイクルから見た女性のうつ, in 日本臨床死生学会ランチョンセミナー. 川崎, 2014

17) 坪井千里、山口尚子、亀井秀弥、大西康晴、石上雅敏、矢崎慧、大林晶子、木村宏之、尾崎紀夫、小倉靖弘: 当院におけるアルコール性肝硬変に対する肝移植の現状と今後の課題 アルコール依存症専門クリニックでの経験をふまえて, in 移植学会, 2014, pp 141-142

18) 北山真敬、足立康則、木村宏之、徳倉達也、千石大介、岸辰一、砂田紗季、伊藤陽菜、村田誠、西田徹也、寺倉精太郎、清井仁、尾崎紀夫: 同種造血幹細胞移植患者のせん妄および抑うつ症状に関する研究, in 第27回日本総合病院精神医学会総会. つくば国際会議場, 2014

19) 久保田智香、岡田俊、中村由嘉子、國本正子、森川真子、安藤昌彦、尾崎紀夫: 前向きコホート調査による産後うつ病予見因子の検討, in 第11回うつ病学会総会. 広島, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

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