

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、閾値下うつ病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。

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

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行わ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」解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。

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 ID0 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, 舩渡 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

