

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15423

研究課題名(和文) 脳脊髄液のメタボローム解析を用いた双極性障害の病態解明に関する研究

研究課題名(英文) Metabolomics analysis of CSF from bipolar disorder patients

研究代表者

橋本 謙二 (Kenji, Hashimoto)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：双極性障害患者および年齢等を合致させた健常者の脳脊髄液のメタボローム解析を実施した結果、双極性障害患者のイソクエン酸濃度が健常者と比較して有意に高い事を発見した。また、双極性障害患者の死後脳を用いた研究から、イソクエン酸の代謝酵素イソクエン酸脱水素酵素(IDH)のサブタイプ(IDH3A)の遺伝子発現やタンパク発現が双極性障害患者群で減少していることを見出した。IDH3Aは細胞のミトコンドリア内にあるクエン酸回路に存在することから、今回の発見は、双極性障害の脳では、ミトコンドリア内のクエン酸回路のIDH3Aの減少により、イソクエン酸濃度が高くなっていると推測される。

研究成果の概要(英文)：Although evidence for mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of bipolar disorder (BD) has been reported, the precise biological basis remains unknown, hampering the search for novel biomarkers. In this study, we performed metabolomics of cerebrospinal fluid (CSF) from male BD patients and age-matched male healthy controls. After multivariate logistic regression, isocitric acid (isocitrate) was significantly higher in the CSF from BD patients than healthy controls. Furthermore, gene and protein expression of IDH3A in the postmortem brain from BD patients was higher than that of controls. These findings suggest that abnormality in the metabolism of isocitrate by IDH3A and IDH3B in the mitochondria plays a key role in the pathogenesis of BD, supporting the mitochondrial dysfunction hypothesis of BD. Therefore, IDH3 in the citric acid cycle may potentially be a novel therapeutic target for BD.

研究分野：精神神経科学

キーワード：脳・神経疾患 双極性障害 バイオマーカー クエン酸回路 ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

双極性障害は、統合失調症と並ぶ代表的な精神疾患であるが、その病因は未だ不明である。これまでの多くの研究から、生体内でエネルギー産生に重要な役割を果たしているミトコンドリアの異常が指摘されている。

一方、精神疾患の病因・病態解明には、患者の生体試料や死後脳を用いる事が必要であり、特に、脳脊髄液(CSF: Cerebrospinal fluid)や血液などの生体試料は、精神疾患の病因・病態研究に不可欠である。

2. 研究の目的

メタボロミクス解析は、生体内の細胞の活動によって生じる代謝物を網羅的に解析する方法で、多くの疾患の病因解明に応用されている。本研究の目的は、共同研究先であるスウェーデンのカロリンスカ研究所で採取した双極性障害患者と健常者のCSFサンプルのメタボロミクス解析を実施し、双極性障害患者で変化している代謝物を同定することである。

3. 研究の方法

本研究では、気分安定薬(リチウム、バルプロン酸、非定型抗精神病薬など)等で治療中で症状が安定している双極性障害患者(男性)と年齢を一致させた健常者(男性)のCSFサンプルのメタボロミクス解析を実施し、解糖系/糖新生、クエン酸回路、ペントースリン酸経路、脂質代謝、アミノ酸代謝、核酸代謝などを含む116物質を測定した。

さらに、服薬の影響を調べる目的で、ラットに代表的な気分安定薬リチウムあるいはバルプロン酸を飲料水として1カ月服用し、同様にラットCSFのメタボロミクス解析を実施した。さらに、双極性障害患者およびコントロールの死後脳(米国スタンレー医学財団より提供)を用いて、同定したイソクエン酸の合成酵素と代謝酵素の遺伝子発現およびタンパク発現を調べた。

4. 研究成果

メタボロミクス解析で得られたデータをロジスティック解析した結果、双極性障害患者群で唯一、イソクエン酸濃度が有意に増加している事を見出した。また治療薬などの様々な臨床データとの関連を調べたが、特に関連はなかった。

次に、CSF中のイソクエン酸濃度の増加の原因を調べるために、双極性障害患者の死後脳(米国スタンレー医学財団から提供)を用いて、イソクエン酸の合成酵素(アコニターゼ)や分解酵素(イソクエン酸脱水素酵素)の遺伝子発現を調べた結果、アコニターゼ(ACO1, ACO2)の遺伝子発現はコントロール群と比較して差は無かった。一方、イソクエン酸を分解するイソクエン酸脱水素酵素(IDH: isocitrate dehydrogenase, IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B, IDH3G)の中で、IDH3AおよびIDH3B

の遺伝子発現が、双極性障害患者の死後脳で有意に低下していた。

別の死後脳サンプル(米国スタンレー医学財団から提供)を用いて、IDH3AおよびIDH3Bの蛋白発現をウェスタンブロット解析で調べた結果、双極性障害患者の小脳で、有意に減少している事を見出した。

さらに、健常者と双極性障害患者(スウェーデン人)の遺伝子解析を行った結果、アコニターゼやイソクエン酸脱水素酵素の遺伝子多型との関連は見られなかった。

今回の双極性障害患者はすべて気分安定薬などを服用しているので、治療薬の影響を調べる目的で、雄性ラットに双極性障害の治療薬であるリチウムあるいはバルプロン酸を4週間飲み水として慢性投与した。その後、ラットCSFを採取し、同様にメタボロミクス解析を行った結果、ラットCSF中のイソクエン酸濃度は、これらの薬剤の慢性投与では変化しなかった。また、ラット脳においても、アコニターゼやイソクエン酸脱水素酵素の遺伝子発現およびタンパク発現は変化しなかった。これらの結果は、リチウムやバルプロン酸の慢性投与は、イソクエン酸のCSF濃度や脳内のイソクエン酸脱水素酵素に影響を与えないことを示唆した。

さらに、同双極性障害患者および健常者の血清をメタボロミクス解析を実施した結果、クエン酸回路、アミノ酸代謝に関わる代謝物(ピルビン酸、N-アセチルグルタミン酸、 α ケトグルタレート、アルギニン、 β アラニン、セリン)が、有意に変化していることが明らかになった。

本研究の結果は、双極性障害の病因にミトコンドリア内にあるクエン酸回路の異常が関与している可能性が示唆された(図1を参照)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- 1) Yoshimi N, Futamura T, Bergen SE, Iwayama Y, Ishima T, Sellgren C, Ekman CJ, Jakobsson J, Pålsson E, Kakumoto K, Ohgi Y, Yoshikawa T, Landén M, Hashimoto K: Cerebrospinal fluid metabolomics identifies a key role of isocitrate dehydrogenase in bipolar disorder: Evidence in support of mitochondrial dysfunction hypothesis. *Molecular Psychiatry* 21(11):1504-1510 (2016).査読有
- 2) Yoshimi N, Futamura T, Kakumoto K, Salehi AM, Sellgren C, Holmén-Larsson J, Jakobsson J, Pålsson E, Landén M, Hashimoto K: Blood metabolomics identifies abnormalities in the citric acid, urea cycle, and amino acid metabolim in bipolar disorder. *BBA Clinical* 5:151-158

(2016).査読有

〔学会発表〕(計2件)

- 1) 吉見典子、二村隆史、角元慶二、サレヒア
アリレザ、セルグレン カール、ホルメ
ンラーション ジェシカ、ジャコブソ
ン ジョエル、ポルソン エリック、ラン
デン ミカエル、橋本謙二 (2016) 双
極性障害患者の血液メタボロミクス解析
によるクエン酸回路、尿素回路、アミノ
酸代謝の異常. 第46回日本神経精神薬理
学会. 平成28年7月2日. 韓国ソウル市.
- 2) 吉見典子、二村隆史、ベルゲン サラ、
岩山佳美、セルグレン カール、エクマ
ン カール、ジャコブソン ジョエル、
ポルソン エリック、石間 環、角元慶
二、大木雄太、菊池哲郎、吉川武男、ラ
ンデン ミカエル、橋本謙二 (2016) 脳
脊髄液のメタボロミクス解析による双極
性障害におけるイソクエン酸デヒドロゲ
ナーゼの異常. 第46回日本神経精神薬理
学会. 平成28年7月2日. 韓国ソウル市.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：双極性障害の診断方法及び治療化合物
のスクリーニング方法
発明者：橋本謙二、二村隆史、吉見典子、吉
川武男、岩山佳美、ミカエルランデン
権利者：国立大学法人千葉大学
種類：特許
番号：特願 2016-099251
出願年月日：2015年5月18日
国内外の別：国内・国外

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 謙二 (HASHIMOTO, Kenji)
千葉大学・社会精神保健教育研究センタ
ー・教授
研究者番号：10189483

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

石間 環 (ISHIMA, Tamaki)
千葉大学・社会精神保健教育研究センタ
ー・特任助教
研究者番号：00597130

(4) 研究協力者

藤田 有子 (FUJITA, Yuko)
千葉大学・社会精神保健教育研究センタ
ー・特任助教
研究者番号：40623591

図1. 双極性障害患者脳内ミトコンドリア内にあるクエン酸回路におけるイソクエン酸脱水素酵素の低下

