

令和元年6月14日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19257

研究課題名(和文)自殺予防に資するメタボローム解析による双極性障害の病相交代予測バイオマーカー探索

研究課題名(英文) Search for predictive biomarkers on mood changes of bipolar disorder by metabolome analysis.

研究代表者

出口 裕彦 (DEGUCHI, YASUHIKO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：30721790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病患者では血漿ネルボン酸濃度が健常者、双極性障害(Bipolar Disorder: BD)患者と比較して高値であった。うつ病患者のうつ状態では、うつ病患者の寛解状態とBD患者のうつ状態に比べて血漿ネルボン酸濃度が高かった。うつ病患者では、ミトコンドリアDNA濃度とIL-4が正の相関を確認した。血漿中のミトコンドリアDNAの濃度は、健常者に比べうつ病患者、BD患者では有意に低い値を示した。BD患者において、同一人物から寛解状態およびうつ状態に得られたペア検体および健常群を用いてメタボローム解析を行ったが、状態間での有意な代謝産物は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血漿ネルボン酸が、うつ病の状態像を示すバイオマーカー候補、うつ病と双極性障害の鑑別に寄与するバイオマーカー候補となりうる可能性が示された。ミトコンドリアDNAがうつ病の炎症に関与している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The increased levels of nervonic acid in patients with major depressive disorder (MDD) compared with controls and patients with bipolar disorder (BD). Nervonic acid levels were increased in the depressive state in patients with MDD compared with the levels in the remission state in patients with MDD and the depressive state in patients with BD. Circulating mitochondrial DNA (mtDNA) levels showed a positive correlation with IL-4 in patients with MDD. Patients with MDD and BD showed significantly lower plasma mtDNA levels than controls. We collected plasma samples from depressive state and remitted state of the same BD patients and matched healthy controls. We analyzed the metabolites and there was no significant difference in metabolites between the groups.

研究分野：うつ病、双極性障害、産業精神医学

キーワード：双極性障害 自殺予防 バイオマーカー うつ病

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

双極性障害（Bipolar Disorder: BD）は寛解状態、躁状態、うつ状態を反復する疾患であり、生涯有病率は約1.0%とされる。BDは躁状態での気分の高揚、誇大性、意欲亢進等に伴う問題行動により、離婚、失業、借金、人間関係の破綻など多様な社会的問題を抱え、一方でうつ状態では抑うつ気分、意欲低下や認知機能障害により長期に日常生活や就労が困難となるなど、社会的機能の障害が極めて著しい。疾患により失われる年数（YLDs）についてWHOの統計では、男性は7位、女性は8位となっている。BD患者の自殺既遂率は一般人口およびうつ病（Major Depressive Disorder: MDD）患者に比べ約高く、生命予後という点でも重大な疾患である。

BD患者は約半分を寛解状態で経過するが、その他の病相期には約7割～9割がうつ状態で経過し、また、自殺企図はうつ状態で起こりやすい。BDは発症から適正な治療を受けるまでに約10年を要すると報告されている。BD患者は躁状態では病識が乏しいため受診せずうつ状態で受診し、多くはうつ状態、MDDの診断で治療開始となるが、うつ状態のみからBDを診断するのは難しく、BDは過小診断されている可能性がある。診断、治療の遅れは医療コストの増大に繋がり、就労という点においてBD患者では生産性の低下が大きく、患者1人あたり平均年間49.5日の生産日数の損失が生じていると報告されており、大きな社会的損失にも繋がる。よってBDにおけるバイオマーカーを探索し、発見することで早期介入ができれば自殺企図、自殺既遂、労働力や生産性の低下を防ぐことができる可能性がある。遺伝要因、環境要因が加わった複合的効果によって発症する精神疾患のバイオマーカーを探索する場合、代謝産物は遺伝要因、環境要因双方の影響を反映している可能性が高く、メタボローム解析を用いることを考えた。

2. 研究の目的

血漿メタボローム解析を用いてBDにおけるバイオマーカーを探索し、発見すること

3. 研究の方法

- (1) コホート1では、最低でも2週間内服治療を受けていない9名のMDD患者、6名のBD患者、17名の統合失調症患者（Schizophrenia: SZ）および19名の健常者のヒト血漿において液体クロマトグラフィー時間飛行方質量分析計、ガスクロマトグラフィー時間飛行型質量分析計によるメタボローム解析を行った。コホート2では、内服治療を受けている45名のMDD患者、71名のBD患者、115名の統合失調症患者（Schizophrenia: SZ）および90名の健常者のヒト血漿において液体クロマトグラフィー時間飛行方質量分析計、ガスクロマトグラフィー時間飛行型質量分析計によるメタボローム解析を行った。
- (2) 109名のMDD患者（うち103名はうつ状態、6名は寛解状態）、28名のBD患者（うち4名がうつ状態、23名が寛解状態、1名が躁状態）、17名のSZ患者および29名の健常群のヒト血漿を用いて、血漿中のミトコンドリアDNA濃度とサイトカインを測定した。
- (3) BD患者において、同一人物10名から寛解状態およびうつ状態に2度採血を行い得た10セットのペア検体および年齢、性別をマッチさせた健常群を用いてメタボローム解析を行った。

4. 研究成果

- (1) 内服治療を受けていない対象群、内服治療を受けている対象群ともに、MDD患者では血漿ネルボン酸濃度が健常者、BD患者と比較して高値であった（Fig1、Fig2）。さらに副次的解析を行い、MDD患者のうつ状態では、MDD患者の寛解状態とBD患者のうつ状態に比べて血漿

ネルボン酸濃度が高かった (Fig3)。

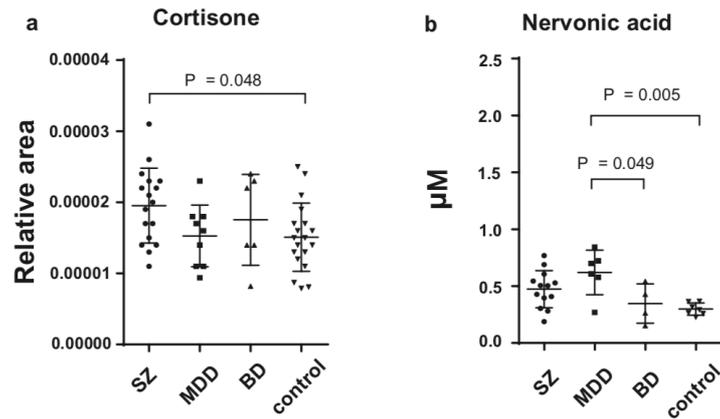


Figure 1. Plasma level of metabolites with significant differences in the cohort 1 samples. The bars indicate the mean of each group. The error bars represent the SDs. Comparison of the plasma levels of metabolites among the patients with schizophrenia (SZ), major depressive disorder (MDD), and bipolar disorder (BD), and healthy controls (1-way ANOVA with posthoc Tukey's test). (a) Cortisone was measured using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (LC-TOFMS) in 51 samples. The Y-axis shows the relative concentrations. (b) The levels of nervonic acid were measured using gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC-TOFMS) in the 30 available samples of cohort 1. The y-axis shows the absolute concentrations. The data on the relative concentrations of nervonic acid are listed in supplementary Table 1.

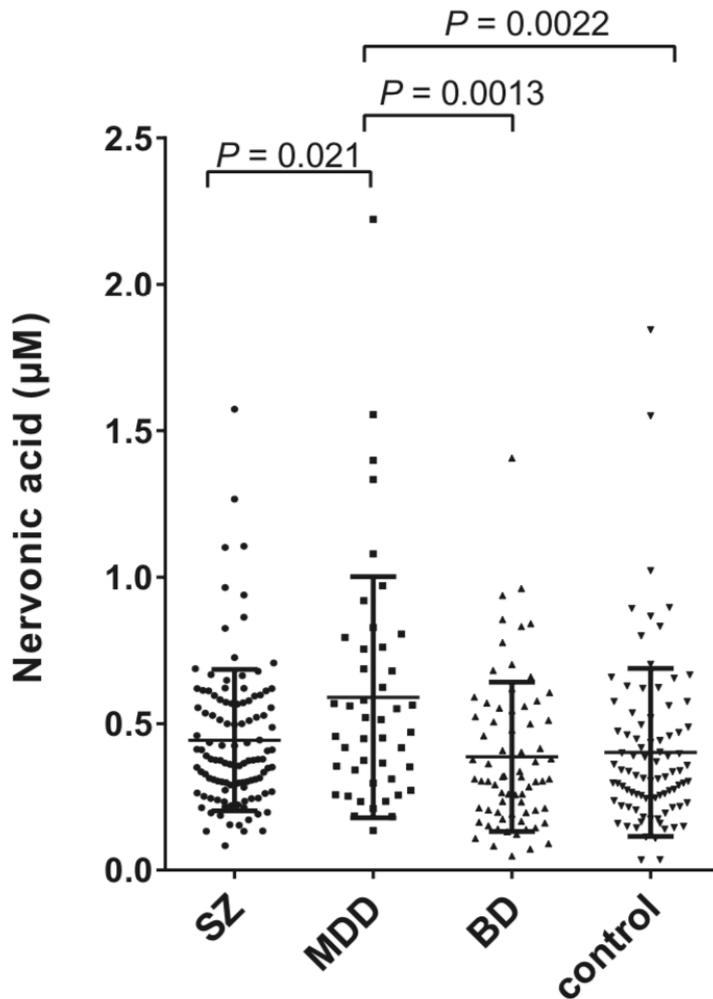


Figure 2. Absolute plasma levels of nervonic acid in the cohort 2 samples. The bars indicate the mean of each group. The error bars represent the SDs. Comparison of the absolute plasma levels of nervonic acid among the patients with schizophrenia (SZ), major depressive disorder (MDD), bipolar disorder (BD), and healthy controls (1-way ANOVA with posthoc Tukey's test).

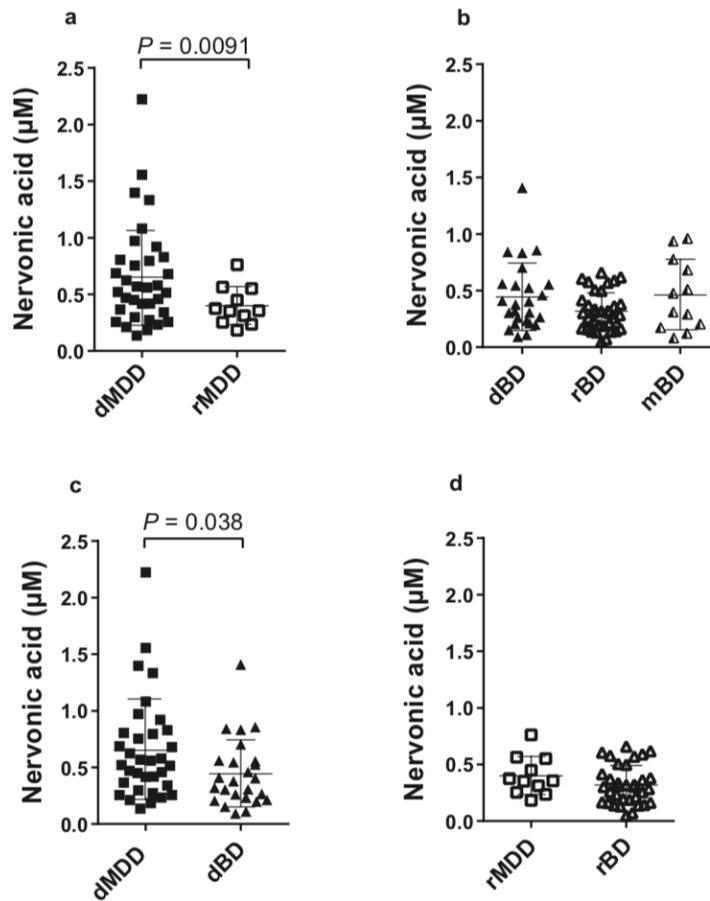


Figure 3. State-dependent changes in plasma levels of nervonic acid in patients with MDD and BD in cohort 2. The bars indicate the mean for each group. The error bars represent the SDs. (a) Comparison between patients in the depressive state of major depressive disorder (dMDD) and the remitted state of major depressive disorder (rMDD) (Welch t test). (b) Comparison among patients in the depressive state of bipolar disorder (dBD), the remitted state of bipolar disorder (rBD), and the manic state of bipolar disorder (mBD) (1-way ANOVA with posthoc Tukey's test). (c) Comparison between patients with dMDD and dBD (Welch t test). (d) Comparison between patients with rMDD and rBD (Welch t test).

(2) MDD患者では、ミトコンドリアDNA濃度とIL-4、IL-2、GM-CSFに正の相関を示し、IL-4については別の方法でも測定し、正の相関を確認した (Fig1)。血漿中のミトコンドリアDNAの濃度は、健常者に比べMDD患者、BD患者では、有意に低い値を示した (Fig2)。

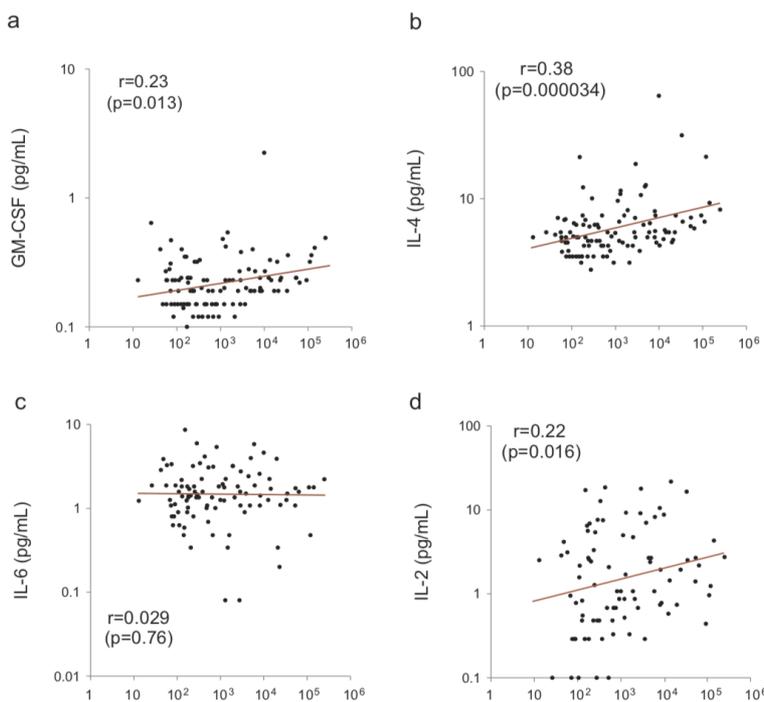


Fig. 1. Log-log plots of plasma mtDNA copy number versus cytokine levels in patients with major depressive disorder (MDD). Plasma cytokine levels were determined using a multiplex immunoassay. The mtDNA copy number in plasma was measured by real-time quantitative PCR targeting the ND1 region of mtDNA. Spearman's rank correlation analyses were performed between plasma mtDNA and cytokines in MDD patients. Each dot represents the data of one subject.

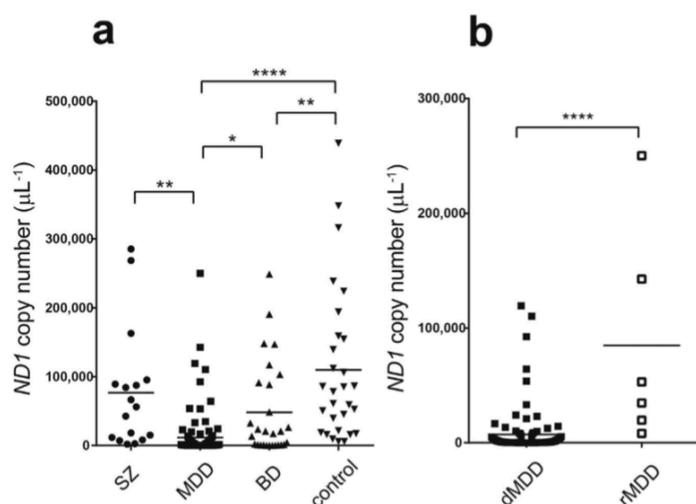


Fig. 2. Comparison of plasma mtDNA levels among the diagnostic groups. The mtDNA copy number in plasma was measured by real-time quantitative PCR targeting the *ND1* region of mtDNA. Bars indicate average values. a) Comparison among SZ, MDD, BD, and controls (one way ANOVA with *post hoc* Tukey's test, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$). b) Comparison between dMDD and rMDD (Mann-Whitney *U* test, **** $P < 0.0001$). Abbreviations: BD, bipolar disorder; dMDD, depressive state of major depressive disorder; MDD, major depressive disorder; rMDD, remitted state of major depressive disorder; SZ, schizophrenia.

(3) 状態間での代謝産物を網羅的に解析、比較した結果、うつ状態、寛解状態、健常群を比較して有意な代謝産物は認められなかった。今後、更に症例を増やして検討を続けていく。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- (1) Kageyama Y, Kasahara T, Nakamura T, Hattori K, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Yoshida S, Goto Y, Inoue K, Kato T. Plasma Nervonic Acid Is a Potential Biomarker for Major Depressive Disorder: A Pilot Study. *The international journal of neuropsychopharmacology* 2018 21 巻 207-215 (査読有)
- (2) Kageyama Y, Kasahara T, Kato M, Sakai S, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Goto Y, Kinoshita T, Inoue K, Kato T. The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. *Journal of affective disorders* 233 15-20 2017 (査読有)
- (3) Kageyama Y, Kasahara T, Morishita H, Mataga N, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Inoue K, Kato T. Search for plasma biomarkers in drug-free patients with bipolar disorder and schizophrenia using metabolome analysis. *Psychiatry and clinical neuroscience* 71 115-121 2017 (査読有)
- (4) 門脇彩, 出口裕彦, 柳川枝里佳, 野木優香子, 井上幸紀 新規抗うつ薬で強い副作用が出現し低用量のイミプラミンへの切り替えが有効であった重症うつ病の1症例. *臨床精神医学* 46 巻、1031-1036、2017(査読有)
- (5) 野木優香子, 林皓章, 深田亮介, 出口裕彦, 岩崎進一, 木岡哲郎, 井上幸紀 Paroxetine 増量後 10 日目にセロトニン症候群を呈した 1 例. *精神科治療学* 32 127-131 2017 (査読有)

[学会発表] (計 4 件)

- (1) 影山祐紀、笠原和起、中村健道、服部功太郎、出口裕彦、谷宗英、黒田健治、吉田寿美子、後藤 雄一、井上幸紀、加藤忠史、血漿代謝産物を利用した気分障害のバイオマーカー、2018 年 9 月、第 40 回日本生物学的精神医学会、神戸
- (2) Kageyama Y, Kasahara T, Kato M, Sakai S, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Kuroda K, Goto Y, Kinoshita T, Inoue K, Kato T. The relationship between

circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression. Neuroscience2017, 2017年, WASHINGTON

- (3) 影山祐紀、笠原和起、中村健道、服部功太郎、出口裕彦、谷宗英、黒田健治、吉田寿美子、後藤雄一、井上幸紀、加藤忠史 気分障害の診断バイオマーカー、2017年、第36回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会、東京
- (4) Kageyama Y, Kasahara T, Nakamura T, Deguchi Y, Tani M, Kuroda K, Hattori K, Yoshida S, Kuroda K, Inoue K, Kato T. Search for Plasma Biomarkers of Depression by Metabolome Analysis in an Animal Model and Clinical Samples. 2017年4月, PCS International Conference of Neuroscience, LISBON

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。