

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：17102
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2021～2023
課題番号：21K07369
研究課題名(和文) うつ病態と関連する血中トリプトファン・キヌレニンの新規運搬因子の同定と役割解明

研究課題名(英文) Identification and Role of a Novel Blood Tryptophan-Kynurenine Carrier Associated with the Pathophysiology of Depression

研究代表者
瀬戸山 大樹 (Setoyama, Daiki)
九州大学・大学病院・助教

研究者番号：30550850
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病と関連するバイオマーカーとしてのトリプトファン・キヌレニン代謝物は、血中では運搬タンパク質に結合しており、本研究はその運搬因子の同定と、うつ病態と関連解析を目的とした。運搬因子を血しょうタンパク質のゲルろ過法-SDS-PAGE法と質量分析により同定し、そのタンパク質の血中濃度定量法の確立し、うつ病との関連性を評価した。血中トリプトファンの運搬タンパク質である α 2マクログロブリン(A2M)の血中レベルは、うつ病患者群で有意に低下していた。また、プロテオミクス解析を導入して血しょうタンパク質300種を対象として、運搬因子の再検索を行い、数多くの結合因子の候補を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、大うつ病に関連するトリプトファン・キヌレニン代謝物の運搬因子として α 2マクログロブリン(A2M)を同定し、その血中レベルがうつ病患者で有意に低下していることを発見した。さらにプロテオミクス解析により、新たな結合因子候補も多数同定された。これらの結果は、うつ病の生物学的メカニズムの理解へのきっかけを見出し、新たな診断基準や個別化医療の発展に寄与する可能性があります。A2Mの定量法の確立は、診断や治療効果のモニタリングにおいて重要であり、うつ病患者のケアの質向上に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Tryptophan-kynurenine metabolites are associated with depression and are bound to some unidentified transport proteins in the blood. The aim of this study was to identify the transport proteins and to analyze their association with the pathophysiology of depression. We identified them by gel filtration SDS-PAGE and mass spectrometry of plasma proteins, established a method for quantifying blood levels of the proteins, and evaluated their association with depression. Blood levels of α 2-macroglobulin (A2M), identified as a tryptophan transport protein, were significantly decreased in the depressed patient group. In addition, proteomic analysis was performed to search for other tryptophan-kynurenine transporters in 300 plasma proteins, and several candidate binding factors were identified.

研究分野：生体分子解析学

キーワード：うつ病 トリプトファン キヌレニン 血中運搬因子 プロテオミクス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大うつ病は気分症群(または気分障害)の一つであり、日本では100万人以上が患っているとされる。WHOの調査によると、世界中に存在する患者数は全人口の4%を占めているとされる。大うつ病は抑うつ気分、意欲低下に加えて、罪悪感、希死念慮などさまざまな症状を呈し、自殺に至る危険が最も高い疾患でもあることから、その重症度の評価法確立は急務であり、そのための診断補助(もしくは早期発見のためのスクリーニング用)となるバイオマーカーの開発が強く望まれている。

うつ病と関連する血中成分はこれまで国内外から数多く報告されてきた(Gururajan, *et al.*, *Neuroscience and Biobehav Rev* 64 (2016) 101-1330; Kunugi, *et al.*, *Psychiatry Clin Neurosci* 69 (2015) 597-608)。例えば、IL-1などの炎症性サイトカイン、CRP(C反応性タンパク)、BDNF(脳由来神経栄養因子)などのタンパク質分子、中性脂質や過酸化脂質といった脂質分子に加え、3-ヒドロキシ酪酸(3HB)、トリプトファン、キヌレニン、キヌレン酸、エタノールアミンリン酸(EAP)などの代謝分子が我々を含めた研究グループから数多く報告されている。

血中のトリプトファン・キヌレニン系代謝物(トリプトファン、キヌレニン、キヌレン酸、セロトニン、メラトニン等)は、脳神経機能(脳内免疫や炎症反応も含めて)と密接に関連するとされる(Cervenka *et al.*, *Science* 357, eaaf9794 (2017); Ogyu *et al.*, *NeuroScience and Biobehavioral Rev.* 90:16-25 (2018))。このうち、セロトニンやキヌレニンは代謝酵素による調節を受けているものの、トリプトファンを起点に代謝されるため、血中トリプトファンの動態制御が一義的に重要である(Coppen *et al.*, *The Lancet* 290:1178-1180(1967); Smith *et al.*, *The Lancet* 349:915-919(1997))。トリプトファンは必須アミノ酸であるため、小腸からの特異的トランスポーターによる吸収によって血中量が制御を受ける一方、血中を循環する際の動態制御に関する知見はほぼ皆無であった。

我々独自のヒト血しょうメタボロームの層別化研究により、血中に存在する一部の低分子代謝物は一様に遊離状態で存在するのではなく、アルブミン等運搬タンパク質と結合した状態で存在することが明らかとなった。中でもトリプトファン・キヌレニン・キヌレン酸は、他のアミノ酸等とは異なり遊離状態ではほとんど検出されず、甲状腺ホルモンと同じように、何らかの結合タンパク質によって運搬されることが我々の予備的研究で明らかとなった。

2. 研究の目的

血中においてトリプトファン、キヌレニン、キヌレン酸と結合するタンパク質(複合体)を同定することで、そのタンパク量と遊離型を定量化し、うつ病態と関連付けることで、従来ない切り口による新たな血液指標を創出することを目的とする。

3. 研究の方法

(A) 血しょうのトリプトファン・キヌレニン結合タンパク質の分画と同定

血しょうタンパク質をHPLCによるサイズ排除クロマトグラフィー(ゲルろ過法)によって、分子量の大きさを分画する。特に、血しょうタンパク質は免疫グロブリン複合体(~450kDa)や2-マクログロブリン(~720kDa)などが巨大複合体を形成しているため、超巨大分子側の分画を最適化する。トリプトファン・キヌレニンが含まれる分画のタンパク質成分を質量分析法によって網羅的に探索し、運搬タンパク質を同定する(質量分析によるメタボロミクス、プロテオミクス解析)。

(B) ELISA法による血中濃度定量法の確立

同定タンパク質の血しょう定量法を確立する。市販のELISAキットが利用可能であれば、それを利用する。もし市販品がない場合は自ら抗体作成し、ELISAの系を構築する。

大うつ病コホート検体、未うつ病（閾値未満）検体を使った関連解析

(C) 臨床検体を用いたうつ病重症度との関連解析

長年共同研究を行ってきた同病院精神科医の加藤隆弘博士らによって既に取得済みの大うつ病コホートサンプル(250症例+年齢性別対応済みの健常者検体)および未うつ病コホートサンプル(125症例+フォローアップ40例)の血しょうを用いて、血中の運搬タンパク質、トリプトファン・キヌレニン系代謝物の遊離型及び結合型をそれぞれ定量化し、臨床情報(PHQ-9やハミルトンうつ病評価尺度HAM-D等のうつ病重症度)との関連解析を行う。また、フォローアップ検体を用いてうつ症状の推移と血液成分の変化の関連を追証する。

4. 研究成果

初年度は、うつ病と一部重複する「ひきこもり者」の血しょうメタボローム解析を行い、特徴的な代謝物マーカーをいくつか発見し、報告した。また、トリプトファン・キヌレニン運搬因子について、血しょうタンパク質のゲルろ過法-SDS-PAGE法により同定し、うつ病との関連性を明らかにするために、そのタンパク質の血中濃度定量法の確立し、評価した。実際、血中トリプトファンの運搬タンパク質の一つである 2 マクログロブリン(A2M)の血中レベルは、健常者群に対してうつ病患者群において有意に低下していることがわかった。次年度

は、キヌレニンの運搬因子であるハプトグロビン(HP)を同定し、それらの血中における量的変化がうつ病と関連しているかどうかを明らかにすることを試みた。未服薬のうつ病コホートサンプル(患者 38 名、健常者 38 名、血中トリプトファンは患者群で低下)を使った ELISA 解析により、患者のハプトグロビンの血中レベルを検証した結果、健常群と有意差は見られなかった。この事実と一致して、患者群の血中においてキヌレニンは健常者と有意差はなかった。これらの結果から、少なくとも A2M はうつ病態と関連している可能性が示唆されたが、別の運搬因子の関与が考えられた。そこで最終年度は、プロテオミクス解析を導入して血しょうタンパク質 300 種を対象として、トリプトファン・キヌレニン代謝物運搬因子の再検索を行った。その結果、A2M や HP 以外にも、数多くの結合因子の候補が同定された。現在、うつ病コホートサンプルを使ったプロテオミクス解析を行い、代謝物-タンパク質レベルの関連解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tateishi Hiroshi, Setoyama Daiki, Kato Takahiro A, Kang Dongchon, Matsushima Jun, Nogami Kojiro, Mawatari Seiji, Kojima Ryohei, Fujii Yuka, Sakemura Yuta, Shiraishi Takumi, Imamura Yoshiomi, Maekawa Toshihiko, Asami Toyoko, Mizoguchi Yoshito, Monji Akira	4. 巻 313
2. 論文標題 Changes in the metabolites of cerebrospinal fluid induced by rTMS in treatment-resistant depression: A pilot study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Psychiatry Research	6. 最初と最後の頁 114636 ~ 114636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.psychres.2022.114636	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daiki Setoyama, et al	4. 巻 -
2. 論文標題 Blood Metabolic Signatures of Hikikomori, Pathological Social Withdrawal	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dialogues in Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 accepted
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 瀬戸山大樹
2. 発表標題 急増する「ひきこもり者」のバイオマーカー研究
3. 学会等名 日本医療検査科学会 第54回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 瀬戸山大樹
2. 発表標題 LC-MSによる有機酸代謝異常症の全自動分析法の確立、「メンタルヘルスの臨床検査」分野への挑戦
3. 学会等名 第61回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 瀬戸山大樹	4. 発行年 2022年
2. 出版社 日本臨床化学会	5. 総ページ数 7
3. 書名 臨床化学 Vol.51 No.3	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ひきこもりのバイオマーカー、ひきこもり識別支援方法	発明者 瀬戸山大樹	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-180622	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------