

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15765

研究課題名（和文）精神障害での睡眠異常の治療による時計遺伝子の末梢血遺伝子発現との相関

研究課題名（英文）Correlation of clock genes with peripheral blood gene expression by treatment of sleep abnormalities in psychiatric disorders.

研究代表者

尾崎 優樹 (Ozaki, Yuuki)

愛媛大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40769527

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：入院加療が必要な程度の重症うつ病を中心に、精神疾患の治療の前後で末梢血液中の睡眠遺伝子の発現がどのように変化していくのかを確認している。また、睡眠状況がどのように変化したかを確認するため、アクチグラフを用いた睡眠状態の確認も行っている。重度のうつ病では思考制止などの精神症状により研究同意が得にくく、データが集まりにくいいため、外来治療可能な程度の患者にまで範囲を広げ、データを集めている最中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において精神疾患患者の睡眠障害の実態と睡眠衛生指導の重要性を再確認できた。また血液の時計遺伝子の発現解析が可能で、アルツハイマー型認知症でCLOCK遺伝子の変化があることが確認できた。当初の予定にあったアクチグラフを用いた解析や統合失調症やうつ病など認知症以外の疾患における解析ができていないことから、これからも研究を継続する予定である。

研究成果の概要（英文）：We are checking how the expression of sleep genes in the peripheral blood changes before and after treatment of psychiatric disorders, focusing on depression severe enough to require inpatient treatment. They also use actigraphy to confirm how sleep status has changed. Since it is difficult to collect data on patients with severe depression due to mental symptoms such as cessation of thinking, it is difficult to obtain consent for the study and data are difficult to collect.

研究分野：精神神経科学

キーワード：睡眠障害 血液 遺伝子発現 時計遺伝子 睡眠衛生指導

1. 研究開始当初の背景

概日リズムをコントロールする CLOCK 遺伝子が発見されて以来、今日に至るまで、時計遺伝子と精神疾患、睡眠障害の関係性が研究されている。既報において、うつ病や統合失調症といった精神疾患は、時計遺伝子の遺伝子多型、血液の遺伝子発現との関係が報告されている。しかし、精神疾患や睡眠障害の治療に伴う遺伝子発現の変化に注目した研究は少なく、治療によってどのように血液の遺伝子発現が変化するかは未だ解明されていない。更に過去の研究では睡眠状態の評価を、患者自身の自己評価に委ねることが多く、客観的な評価を用いて遺伝子発現との相関をみた研究は限られている。

2. 研究の目的

ヒトでは睡眠覚醒、ホルモン分泌、自律神経サイクルなどが概日時計によって制御されており、視床下部の視交叉上核により制御されていると考えられている。近年の研究では、概日時計システムは、Period (PER) 1-3、Cryptochrome (CRY) 1-2、CLOCK、Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1 (ARNTL encoded by BMAL1) などの複数の時計遺伝子のフィードバックループから構成されていることが報告されている。睡眠障害は精神疾患において合併率の高い疾患であり、年間有病率は 30-45% に達すると言われている。今回、時計遺伝子を対象として、1) 主観的な睡眠評価とアクチグラフを用いた客観的な睡眠評価の解離、遺伝子発現への影響、2) うつ病、双極性障害、統合失調症、認知症における遺伝子発現の変化、3) 睡眠衛生指導や睡眠薬、及び原疾患の病状において遺伝子発現が変化するかを解析することとした。ここまでの背景を踏まえ、主観的な睡眠評価とアクチグラフを用いた客観的な睡眠評価の解離、またどちらがより遺伝子発現と相関するか、うつ病、双極性障害、統合失調症、認知症における時計遺伝子の遺伝子発現の変化を確認し、それら疾患の睡眠障害の病勢バイオマーカーなり得るか、アクチグラフを用いた客観的な睡眠評価を行った睡眠障害の治療前後で、遺伝子発現の変化を確認し、それらが治療反応性バイオマーカーとなるかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 時計遺伝子の末梢血遺伝子発現は日内変動を健常者 6 名で解析した。

(2) 睡眠障害を高率に合併するアルツハイマー型認知症(N=21, 平均年齢 84.2 歳)、アルツハイマー型認知症による軽度認知障害(N=20, 平均年齢 82.6 歳)、健常対象(N=21, 平均年齢 83.8 歳)の血液サンプルにおいて、RNAseq による網羅的解析から Period (PER) 1-3、Cryptochrome (CRY) 1-2、CLOCK、Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1 (ARNTL encoded by BMAL1) の遺伝子発現を検討した。

(3) 主観的な睡眠評価とアクチグラムを用いた客観的な評価の乖離を検討するために、2021年10月から11月にかけて、当院の精神科外来を受診した精神疾患患者(N=241)の睡眠障害を調査した。質問票は睡眠衛生指導の順守、Clinical Global Impression Scale of Severity (CGI-S)、Global Assessment of Functioning (GAF)、General Health Questionnaire (GHQ-30)、Athens Insomnia Scale (AIS)、Epworth Sleepiness Scale (ESS)を用いた。精神疾患の診断はDSM-5に従って精神科医が実施した。AISの得点が6点以上を睡眠障害ありと判定した。睡眠障害と睡眠衛生指導の順守との関連をロジスティック回帰分析で検討した。

4. 研究成果

(1) 健常者において血液中の時計遺伝子の遺伝子発現が日内変動することを確認した (n = 6, 図1)。この予備的な研究によって血液の遺伝子発現を時計遺伝子の機能解析に用いることが可能であることが示唆された。



図1. 時計遺伝子の遺伝子発現、日内変動

(2) 血液中の CLOCK 遺伝子はアルツハイマー型認知症で有意に低下していた (表1)。また血液中の CLOCK 遺伝子及び PER3 遺伝子はアルツハイマー型認知症による軽度認知障害では有意に上昇していた (表2)。ただし、いずれの変化も多重比較を補正すると有意差はなくなった (FDR $p > 0.05$) (投稿準備中)。今後は各疾患の睡眠障害の程度と遺伝子発現量との関係を解析する必要がある。またアクチグラフを用いた解析も行う予定である。

表1. アルツハイマー型認知症と健常対象の比較

| Name | Chr | Region | Fold change | P-value | FDR p-value |
|------|-----|----------------------------------|-------------|---------|-------------|
| PER1 | 17 | complement(8140472..8156506) | 1 | 0.99 | 1 |
| PER2 | 2 | complement(238244044..238290102) | -1.01 | 0.94 | 1 |
| PER3 | 1 | 7784291..7845177 | -1.53 | 0.08 | 0.82 |

| | | | | | |
|-------|----|----------------------------------|-------|----------|------|
| CRY1 | 12 | complement(106991364..107093549) | -1.4 | 0.24 | 0.93 |
| CRY2 | 11 | 45847118..45883248 | 1.27 | 0.2 | 0.91 |
| CLOCK | 4 | complement(55427903..55546909) | -1.32 | 3.32E-03 | 0.69 |
| ARNTL | 11 | 13276652..13387266 | 1.14 | 0.21 | 0.91 |

表 2 . アルツハイマー型認知症による軽度認知障害と健常対象の比較

| Name | Chr | Region | Fold change | P-value | FDR p-value |
|-------|-----|----------------------------------|-------------|---------|-------------|
| PER1 | 17 | complement(8140472..8156506) | -1.15 | 0.44 | 0.95 |
| PER2 | 2 | complement(238244044..238290102) | -1.16 | 0.4 | 0.94 |
| PER3 | 1 | 7784291..7845177 | 1.61 | 0.05 | NaN |
| CRY1 | 12 | complement(106991364..107093549) | -1.33 | 0.37 | NaN |
| CRY2 | 11 | 45847118..45883248 | -1.35 | 0.13 | 0.89 |
| CLOCK | 4 | complement(55427903..55546909) | 1.23 | 0.04 | 0.79 |
| ARNTL | 11 | 13276652..13387266 | -1.2 | 0.1 | 0.87 |

(3) 241 人の参加者のうち、133 人 (55.2%) が不眠症群に割り付けられた。不眠症群では、不眠症でない群に比べ、GHQ-30 および CGI の平均点が有意に高く、GAF の得点が有意に低かった ($p < 0.01$)。睡眠衛生指導の順守との関連では、「眠くなるまで寝ない」が不眠症に最も影響する因子であった ($p = 0.005$ 、 $OR = 0.381$ 、 $95\%CI = 0.195-0.743$)。適切な睡眠制限と刺激制御に関する睡眠衛生指導は、臨床医が不眠症の外来患者を治療するのに役立つ可能性が示唆された (投稿準備中)。今後は主観的な睡眠評価とアクチグラフを用いた客観的な睡眠評価の解離、遺伝子発現への影響を検討する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Yoshida Taku, Mori Takaaki, Shimizu Hideaki, Tachibana Ayumi, Yoshino Yuta, Ochi Shinichiro, Yamazaki Kiyohiro, Ozaki Yuki, Kawabe Kentaro, Horiuchi Fumie, Komori Kenjiro, Iga Jun-ichi, Ueno Shu-ichi | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Analysis of factors related to cognitive impairment in a community based, complete enumeration survey in Japan: the Nakayama study | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Psychogeriatrics | 6. 最初と最後の頁 876 ~ 884 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/psyg.13012 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Mori Hiroaki, Yoshino Yuta, Iga Jun-ichi, Ochi Shinichiro, Funahashi Yu, Yamazaki Kiyohiro, Kumon Hiroshi, Ozaki Yuki, Ueno Shu-ichi | 4. 巻 94 |
| 2. 論文標題 Aberrant Expression of GABA-Related Genes in the Hippocampus of 3xTg-AD Model Mice from the Early to End Stages of Alzheimer's Disease | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease | 6. 最初と最後の頁 177 ~ 188 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-230078 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kumon Hiroshi, Yoshino Yuta, Ozaki Tomoki, Funahashi Yu, Mori Hiroaki, Ueno Mariko, Ozaki Yuki, Yamazaki Kiyohiro, Ochi Shinichiro, Iga Jun-ichi, Ueno Shu-ichi | 4. 巻 199 |
| 2. 論文標題 Gestational exposure to haloperidol changes Cdkn1a and Apaf1 mRNA expressions in mouse hippocampus | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Brain Research Bulletin | 6. 最初と最後の頁 110662 ~ 110662 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainresbull.2023.110662 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Mori H, Yoshino Y, Iga JI, Ochi S, Funahashi Y, Yamazaki K, Kumon H, Ozaki Y, Ueno SI. |
| 2. 発表標題 Aberrant Expression of GABA-Related Genes in the Hippocampus of 3xTg-AD Model Mice from the Early to End Stages of Alzheimer's Disease |
| 3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 城戸謙佑、尾崎優樹、大川悠真、兵頭那美、榎木萌、井上彩織、坪内浩一、吉野祐太、上野修一 |
| 2. 発表標題 抑うつ症状の再燃に伴い認知機能低下およびパーキンソニズムが生じた一例 |
| 3. 学会等名 第63回中国・四国精神神経学会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 上野真梨子、大町北斗、河邊憲太郎、曾我純也、長岡大文、尾崎優樹、吉野祐太、越智紳一郎、森崇明、伊賀淳一、上野修一 |
| 2. 発表標題 アリピラゾールの持効性注射剤が効果的であった高齢者双極性障害の1例 |
| 3. 学会等名 第118回日本精神神経学会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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 |
|-------|---------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 上野 修一 (Ueno Shu-ichi) | | |
| 研究協力者 | 伊賀 淳一 (Iga Jun-ichi) | | |
| 研究協力者 | 越智 紳一郎 (Ochi Shinichiro) | | |

6. 研究組織（つづき）

| | 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 |
|-------|----------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 吉野 祐太 (Yoshino Yuta) | | |
| 研究協力者 | 山崎 聖広 (Yamazaki Kiyohiro) | | |

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 |
|---------|---------|
| | |