

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号： 13802  
 研究種目： 挑戦的萌芽研究  
 研究期間： 2011～2012  
 課題番号： 23659561  
 研究課題名（和文） 『Tリンパ球機能不全仮説』に基づくうつ病発症リスクのスクリーニング法の開発  
 研究課題名（英文） Evaluation of a screening method based on the "T-cell dysfunction" hypothesis of major depressive disorder.  
 研究代表者  
 鈴木 勝昭 (SUZUKI KATSUAKI)  
 浜松医科大学・医学部・准教授  
 研究者番号： 00285040

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、末梢血リンパ球におけるアポリポプロテイン E (ApoE) を認識する受容体 ApoER2 の発現量が、その後のうつ病発症を予測できるか否かを明らかにし、末梢バイオマーカーによるうつ病発症リスク検出のための新規スクリーニング法を開発することにある。研究期間中、浜松医科大学附属病院肝臓内科においてインターフェロン療法への導入が検討される C 型肝炎患者を対象に、研究の目的と方法、予想される結果について書面を用いて説明し研究への協力を求めた。しかし、患者本人から同意が得られたケースがなく、研究期間内にはリクルートに成功しなかった。本研究にとって患者の協力は必要不可欠である。期間終了後も引き続きボランティアを募るとともに、スクリーニング法の精度向上のための開発を行っていく。

研究成果の概要（英文）： We measured the mRNA levels of apolipoprotein E receptor type 2 (ApoER2) and very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) in peripheral blood lymphocytes from 43 patients with major depressive disorder (27 drug-free patients and 16 medicated patients) and 43 age-matched healthy controls using a quantitative real-time RT-PCR method. The correlations between mRNA levels of both receptors and clinical variables in patients were also examined. The expression of ApoER2 mRNA, but not VLDLR, was significantly lower in patients as compared to controls, irrespective of the medication status. There was no statistically significant correlation between the reduction of ApoER2 mRNA levels and any of the clinical variables measured in patients. Results from this preliminary study suggest that the expression of ApoER2 may serve as a *trait* marker for major depressive disorder.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：精神薬理学

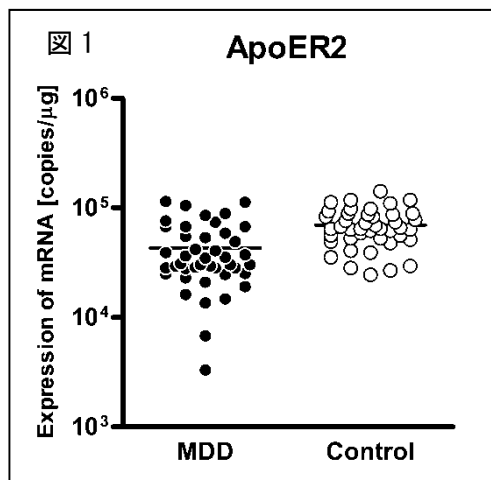
## 1. 研究開始当初の背景

うつ病は、その発症年齢は若年者から高齢者まで幅広く、生涯有病率が約 25%とされる、極めて頻度の高い精神障害である。うつ病発症の原因はいまだ不明だが、その一部には免疫系の応答異常と炎症が関与すると推測さ

れている。たとえば、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6 の末梢血および脳脊髄液中における増加、末梢血 B リンパ球数の減少、T リンパ球を介した免疫応答の減弱などが報告されている。とりわけ T リンパ球は、免疫異常を検出して食細胞系のマクロファ

ージやミクログリアが提示する抗原情報を受け取るために脳内を遊走していることが知られているが、Miller (2010)によれば、うつ病患者の脳内ではTリンパ球が健常者に比べほとんど見られないという。Millerは、うつ病患者におけるTリンパ球系の異常に着目し『Tリンパ球機能不全仮説』を唱えている。

さて、Tリンパ球にマクロファージが抗原を提示する際に重要な役割を果たすのが、アポリポrotein E (ApoE)である。我々は、未治療のうつ病患者の末梢血リンパ球におけるApoEの受容体ApoER2とVLDLRの発現を調べた (Suzuki et al, *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2010)。その結果、VLDLRはそうではなかったが、ApoER2 mRNA発現は、うつ病患者において有意に低下していた (図1)。



興味深いことに、ApoER2の発現量は、うつ病患者の重症度や罹病期間と有意な相関を示さなかった。このことから、リンパ球におけるApoER2の低発現は『Tリンパ球機能不全仮説』を支持する所見であるとともに、うつ病発症リスクの高さを示す生物学的 *trait* マーカーである可能性が推測される。

## 2. 研究の目的

リンパ球におけるApoER2発現低下が、その後のうつ病発症を予測できるか否かについては検証が必要である。しかし、一般人口を対象とした場合、追跡期間の予測は困難である。そこで、本研究では、C型肝炎患者を対象にインターフェロン療法開始前にApoER2 mRNAを測定し、治療開始後にうつ病状態を発症するか否かについて追跡する。

## 3. 研究の方法

### (1) 症例の選定

浜松医科大学附属病院肝臓内科において、インターフェロン療法への導入が検討されるC型肝炎患者のうち、本研究の目的、方法、研究の危険性等について説明文書を元に十

分な説明を行い、文章による同意を得られた者のみを対象とすることとした。目標対象者数は80名とした。除外基準は以下のとおり。

- リクルートの時点で、明らかな抑うつ症状を有する者。
- 何らかの精神障害を有している、あるいは、既往がある者。
- 脳血管障害、頭部外傷、てんかんや多発性硬化症などの神経疾患、自己免疫疾患を有する者。
- 抗精神病薬、抗うつ薬、抗てんかん薬、抗不安薬を常用している者。

### (2) 臨床症状評価

採血に先立ち、以下の評価を行う。

- BPRS: 全般的な精神症状を評価
- BDI: 抑うつ症状の強度の主観的評価
- HAM-D: 抑うつ症状の強度の客観的評価

### (3) ApoER2 mRNA発現の測定

すべての対象者より、空腹時にEDTA採血管に静脈血20mlを採取し、すみやかにFicoll/Paque濃度勾配法によりリンパ球を含む分画を抽出し、総RNAを調整した。リポ蛋白受容体であるApoER2、VLDLR、LDL-Rの各分子のTaqManプローブを作製し、ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems Inc製)を用いたReal time RT-PCR法によりmRNA発現量を定量した。個々の対象者の各mRNA発現量については、臨床評価者がそれを知ることにより評価にバイアスがかからぬよう、臨床情報とは別個に厳重に保管した。

### (4) 精神科外来における追跡調査

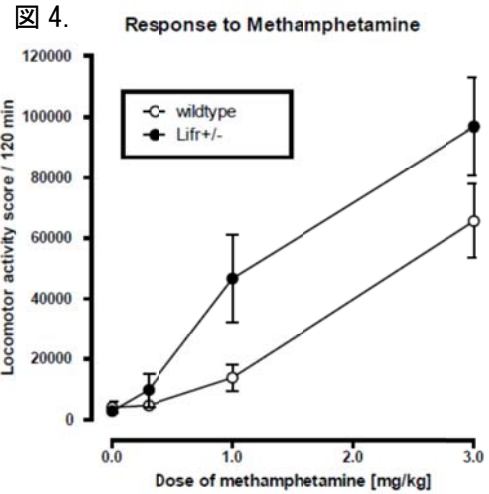
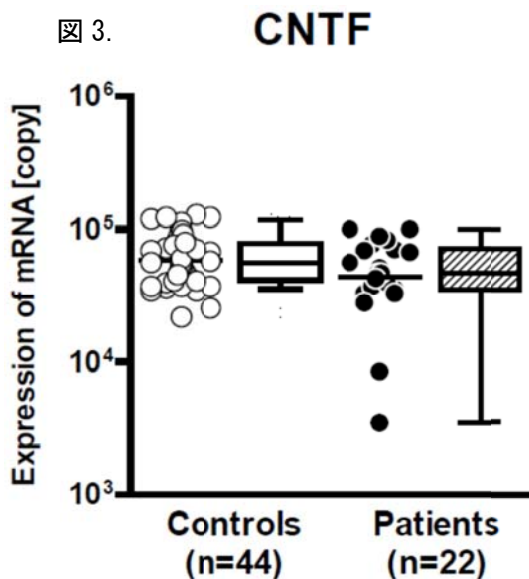
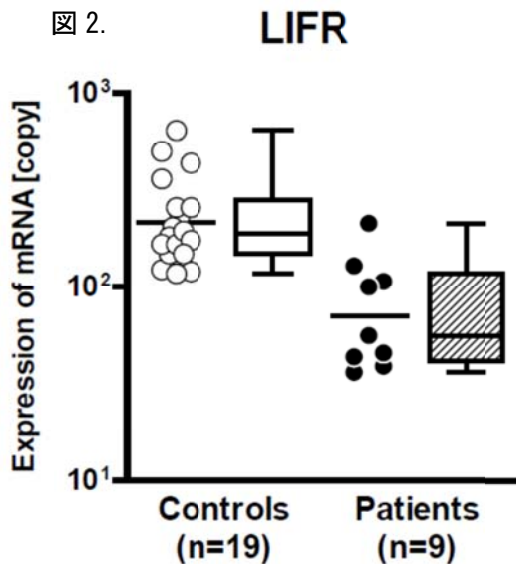
インターフェロン療法開始より1、2、3、4、6、8、10、12、16週間後、その後は4週ごとに、精神症状をBPRS、HAM-D、BDIにより評価した。観察期間はインターフェロン開始から12ヶ月後、または、インターフェロン療法終了から4週間までの、いずれか短い方である。インターフェロン療法開始4、8、16週間後、および、観察終了の各時点でApoER2、VLDLR、LDL-Rの各分子の発現量を測定するために採血を行った。

## 4. 研究成果

浜松医科大学附属病院肝臓内科において、インターフェロン療法への導入が検討されるC型肝炎患者を対象に、研究の目的と方法、予想される結果について書面を用いて説明し研究への協力を求めた。平成25年3月末の時点でも患者本人から同意が得られたケースがなく、残念ながら研究期間内にはリクルートに成功しなかった。

患者のリクルートと並行して、ApoER2、VLDLR、LDL-Rの各分子のTaqManプローブを作製した。あわせて、ApoER2に関連する

他の末梢バイオマーカーによる検索を進めた。その過程において、ApoER2 と同様に脳内の神経幹細胞・前駆細胞の機能に与る分子である白血病抑制因子 (LIF) と繊毛神経栄養因子 (CNTF)、およびその受容体である LIF-R に着目した。その結果、これら分子のうち LIF と CNTF はそうではないが、LIF-R の mRNA 発現がうつ状態にあるうつ病患者のリンパ球で低下していた (図 2, 3)。この低下は、しかし、うつ状態の改善とともに正常範囲に戻ることが分かった。興味深いことに、この LIF-R は、比較として用いた統合失調症患者において、うつ病患者よりもさらに有意に低下していた。この所見をもとに、LIF-R のノックアウトマウスの行動解析を行ったところ、この動物では統合失調症に類似の特徴、すなわち多動とドパミン作動薬への反応亢進が認められた (図 4) (Kameno et al, J Brain Sci 2011)。



本研究にとって、患者の協力は必要不可欠である。期間終了後も引き続き研究への協力を募るとともに、スクリーニング法の精度向上のための開発を行っていく。今後は別の研究費によって研究を続け、うつ病の発症リスクの早期発見と予防法の開発につなげていきたい。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

- 1) Takahashi S, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Suzuki K, Mori N, Takei N; HBC Study Team. Psychosocial determinants of mistimed and unwanted pregnancy: the Hamamatsu Birth Cohort (HBC) study. *Matern Child Health J.* 16:947-955, 2012.
- 2) Iwata K, Izumo N, Matsuzaki H, Manabe T, Ishibashi Y, Ichitani Y, Yamada K, Thanseem I, Anitha A, Vasu MM, Shimmura C, Wakuda T, Kameno Y, Takahashi T, Iwata Y, Suzuki K, Nakamura K, Mori N. Vldlr overexpression causes hyperactivity in rats. *Mol Autism.* 3:11, 2012.
- 3) Kameno Y, Suzuki K, Wakuda T, Takebayashi K, Iwata K, Tsuchiya KJ, Matsuzaki H, Takagai S, Iwata Y, Nakamura K, Mori N. Leukemia inhibitory factor receptor and schizophrenia. *Journal of Brain Science.* 36:32-45, 2011.
- 4) Iwata K, Matsuzaki H, Manabe T, Mori N. Altering the expression balance of hnRNP C1 and C2 changes the expression of myelination-related genes. *Psychiatry Res.* 190: 364-366, 2011.

[学会発表] (計 1 件)

- 1) 亀野陽亮, 松崎秀夫, 高橋健二, 岩田圭子, 鈴木勝昭, 間賀田泰寛, 森則夫. 急性ストレスモデルにおける局所脳血流・脳糖代謝解析. 第 39 回日本脳科学会 (北九州市) 2012 年 10 月 6 日.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 勝昭 (SUZUKI KATSUAKI)  
浜松医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：00285040

### (2) 研究分担者

新村 千江 (SHIMMURA CHIE)  
浜松医科大学・子どものこころの発達研  
究センター・特任研究員  
研究者番号：30529467

岩田 圭子 (IWATA KEIKO)  
浜松医科大学・子どものこころの発達研  
究センター・助教  
研究者番号：30415088