

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790552

研究課題名(和文)トリプトファン代謝をターゲットとしたうつ病発症の新規予測診断法の確立

研究課題名(英文)Effects of tryptophan metabolites on IFN-induced depressive symptoms

研究代表者

村上 由希 (MURAKAMI, Yuki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：50580106

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、トリプトファン(TRP)代謝経路とうつ病発症の直接的な関係を明らかにし、副作用を発症前に予測する診断法の確立を目的とした。臨床検体を用いて、サイトカイン治療の副作用として発症するうつ病の発症予測におけるTRP代謝産物の測定の有用性を検討した。IFN治療中の患者の血清を用いて、治療前後でのTRP代謝産物の一斉解析を行った結果、副作用発症群において、非発症群と比較して、より顕著なTRP代謝変動が認められた。さらに、複数の代謝産物の変動を組み合わせたインデックス化による副作用発症予測指標が臨床的意義を有すると推察された。

研究成果の概要(英文)：The therapy for chronic hepatitis C (HCV) using interferon is currently recommended, however, psychiatric disorders such as depression are frequent in HCV patients during the therapy. Many researchers propose indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 1, which is one of first rate-limiting enzyme of the kynurenine pathway, and IDO1-mediated tryptophan (TRP) metabolites be implicated in the development of IFN-induced depression. In this study, we measured TRP and its metabolites and investigated correlations between TRP metabolites and depression induced by IFN therapy. Following IFN therapy, the concentration of serum TRP was reduced, while some TRP metabolites were increased, then returned to baseline values after the end of the therapy. The ratio of TRP and metabolites were significantly increased under the therapy, especially with depression. We speculate that the indexing, combination between some TRP metabolites, is effective in prediction of the depression induced by IFN therapy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・臨床化学

キーワード：トリプトファン代謝 副作用 薬物誘発性抑うつ 発症予測

1. 研究開始当初の背景

必須アミノ酸であるトリプトファン (TRP) は、生体内において酸化還元に関与する補酵素であるニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) をはじめ、精神疾患と関連するセロトニン (5-HT)、メラトニン、キヌレニン (KYN) 等の生理活性物質の出発材料として重要である。TRP はメトキシインドール経路により 5-HT・メラトニンなどに代謝され、この経路で産生される代謝産物の欠乏は、うつ病様病態、不眠、生体内の日内変動障害に深く関与している。生体内の TRP の 95% は KYN 経路の第一律速酵素である indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) 1 と肝臓で主に発現している L-tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) により代謝される。KYN はキヌレン酸 (KA) と、NAD を産生する主要な経路によって代謝される。特に、TRP 代謝酵素の一つである IDO1 は種々の炎症性サイトカインにより、ヒトの様々な細胞で発現と活性が誘導され、炎症性疾患の重要因子であると考えられる。

一方、うつ病発症メカニズムの一つは慢性炎症であると考えられている。また、血中で上昇した様々な炎症性サイトカインによって誘導される IDO1 による KYN 産生の亢進がその病態の進展に関わっている可能性が示唆されている。IDO1 酵素の誘導は 5-HT の産生量を減少させるだけでなく、様々な生理活性をもつ TRP 下流代謝産物の動的パターンを変動させる。この変動により、さらに下流の分子が誘導され、動脈硬化やうつ病の発症と関係する。ヒトの疫学研究により、動脈硬化の亢進とうつ病様症状の進展に相関あることが示され、その原因に TRP 代謝の関与が示唆されている。また、サイトカイン療法などでみられる副作用の一つであるうつ病発症の原因として、KYN 産生の亢進と IDO 活性の誘導が示唆されている。動物では、弱毒微生物の慢性感染モデルにおいて脳内の IDO mRNA 発現が顕著に増加し、マウスがうつ病様病態を示したことが報告されている。これらのことから、うつ病の発症に IDO1 ならびに TRP 代謝産物、特に KYN が関与し、その関連分子が発症予測のバイオマーカーとなる可能性が高い。

2. 研究の目的

IDO1 は様々な炎症性サイトカインにより酵素が誘導されるが、特に IFN- γ や TNF- α による誘導が顕著である。近年、IFN- γ と TNF- α の産生に関わる遺伝子多型が明らかにされ、これが IDO1 誘導に及ぼす影響が示唆されている。また、申請者らのヒトの血液培養を用いた予備実験の結果から、同様の刺激に対して、IDO1 誘導に個人差があることが明らかになった (申請者ら未発表データ)。これらの結果から、IDO1 誘導性の差異を調べることがうつ病の発症予測に有用である可能性が示唆される。本研究は、まず慢性炎症モデル

動物により、TRP 代謝経路の律速酵素である IDO1 と kynurenine 3-monooxygenase (KMO) 酵素誘導、もしくは TRP 代謝産物とうつ病発症の直接的な関係を明らかにすることを第一の目的とする。さらに、うつ病の新たな治療薬として TRP 代謝酵素阻害薬の有用性を検討し、臨床におけるうつ病発症予測のための新たな診断法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 慢性炎症によるうつ病様病態の進展と TRP 代謝の関与に関する検討

(1)-1 サイトカイン持続発現モデル動物の病態解析

インターフェロン (IFN) をマウスに持続的に腹腔内に投与すると、脳内における IDO1 が持続的に活性化し、TRP 代謝の亢進により、神経毒性をもつとされているキノリン酸 (QUIN) 産生量が高値を示すことが明らかになっている。申請者の予備実験結果でも、IFN 持続投与や IFN 持続発現により、脳内での IDO1 酵素が誘導されることはすでに確認した。しかし、このモデル動物における行動異常やうつ病の発症との関連については明らかにされていないため、まずはうつ病様行動の測定を行う。うつ病様行動の測定には、抗うつ薬のスクリーニングに汎用で用いられる強制水泳試験; Forced swim test (FST) を用いる。同時に基本的な行動量や記憶障害には差がないことを Open field test や Y-maze, Object recognition test などで確認しておく。薬理的行動解析後、脳内の TRP 代謝酵素活性、TRP 代謝産物ならびに 5-HT の測定を HPLC にて行う。

(1)-2 TRP 代謝酵素遺伝子欠損動物を用いて、TRP 代謝阻害のうつ病発症への影響を検討
抗うつ病薬が TRP 代謝へ及ぼす影響は明らかにされている。しかし、TRP 代謝阻害によるうつ病発症への影響は検討されていない。(1)-1 と同様に、慢性炎症モデル動物を用いて、TRP 代謝の律速酵素である IDO1 もしくは KMO の遺伝子欠損マウスを用いて、うつ病発症への影響を調べる。うつ病様行動の測定には、(1)-1 と同様に FST を用いる。同時に陽性コントロールとして、すでに臨床で使われている抗うつ薬を投与した群を用いて、比較する。行動薬理的解析後に、血清ならびに組織中の TRP 代謝産物の動態を HPLC にて測定する。

(2) 臨床検体を用いて、サイトカイン治療の副作用として発症するうつ病の発症前診断法の確立

患者血清中の TRP および代謝産物の動態とうつ病との関係を明らかにする。臨床共同機関と連携して、IFN- α をはじめとするサイトカイン治療を受けている患者のうちで、さらに同意が得られた患者からサイトカイン治療開始後に血液を採取し、血清中の TRP お

よび関連代謝産物の経時的な測定を HPLC にて行う。同時に治療の進行に合わせて、うつ病の評価尺度となる BDI (Beck depression Inventory) や HAM-D (Hamilton Depression Scale) などの設問を用いた評価試験結果を得て、TRP 代謝産物との相関性を検討する。臨床検体の結果から、うつ病の発症や進行と TRP 代謝産物動態の関係性を明らかにする。

4. 研究成果

(1) ハイドロダイナミクス法によって遺伝子導入し、IFN- γ を高発現するマウスモデルを作製し、TRP-KYN 代謝産物動態とうつ症状の程度について検討した。

図 1 に示した通り、IFN- γ 高発現マウスは強制水泳試験 (FST) における無動時間の延長が認められ、うつ様傾向を示した。さらに IFN- γ 高発現マウス血清中の TRP 代謝産物の顕著な変動がみられた。中でも 3-hydroxkynurenine (3HK) の増加が認められ、脳内でも 3HK の著明な増加が認められた。

すなわち、IFN- γ 高発現マウスモデルがサイトカインなどの薬物誘発性うつ病発症メカニズムの解析に有用であることが示唆された。

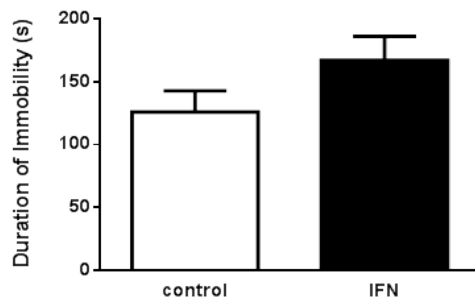


図 1 強制水泳の結果

(2) TRP 代謝酵素遺伝子欠損動物を用いて、TRP 代謝阻害のうつ病発症への影響を検討した。その結果、IDO1 遺伝子欠損動物では、IFN- γ 遺伝子をハイドロダイナミクス法によって、遺伝子導入しても、野生型マウスでみられたような抑うつ行動は認められなかった。さらに脳内の TRP 代謝産物を測定した結果、野生型マウスにみられたような TRP 代謝産物の変動は認められなかった。これらのことから、薬物誘発性うつ病発症メカニズムに TRP 代謝の関与が示唆された。

(3) 本研究では、IFN 治療中の C 型肝炎患者 51 名の血清を用いて IFN 治療前後での TRP 代謝産物の一斉解析を行った。

うつ群において、IFN 治療開始からうつ診断までの平均日数は 86 日、IFN 治療中止前時点の平均日数は 105 日、IFN 治療中止後時点の平均日数は 279 日であった。治療前の測定値を 100% とし、各時点での各 TRP 代謝産物の増減割合を比較した。治療開始前から治

療開始 2 週間後・4 週間後における TRP、KYN、3HK の動態を図 2 に示した。TRP はうつ群・非うつ群ともに治療に伴った減少が見られた。特にうつ群では TRP の減少幅が大きく、治療中止によって TRP の値が治療前の水準に回復した。KYN はうつ群・非うつ群ともに IFN 治療によって増加傾向を示した。3HK はうつ群・非うつ群ともに治療開始 2 週間後から増加した。特にうつ群では急激な増加が認められ、治療中止によって治療前の水準まで戻った。3HAA、AA、KA はうつ群・非うつ群ともに IFN 治療による著明な変動は確認できなかった。

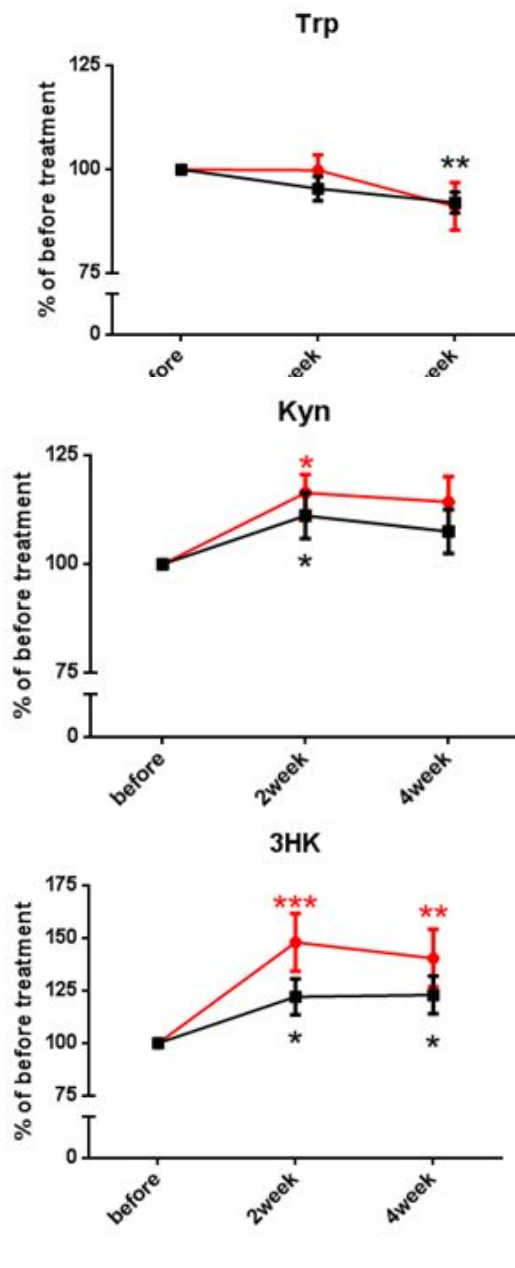


図 2 IFN 治療中の HCV 患者血清における TRP 代謝産物の動態 (-)うつ群、(○)非うつ群

本研究により、IFN 治療によるうつ発症例では、うつ非発症例に比べて KYN、3HK の増

加量が大きく、特に 3HK の増加が顕著であることが明らかとなった。また、治療開始早期の段階で TRP-KYN 代謝産物動態の変動が確認できたことから、IFN 治療によるうつ発症を早期に同定できる可能性が示唆された。

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 8 件)

Yamamoto Y, Murakami Y, Hoshi M, Saito K. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 modulates the immuneresponse; the new therapeutic targets of this drug. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 査読有 142(2), 2013, pp85-8.

Murakami Y, Saito K. Species and cell types difference in tryptophan metabolism. *Int J Tryptophan Res*. 査読有 6(Suppl 1), 2013, pp47-54.

Murakami Y, Hoshi M, Imamura Y, Arioka Y, Yamamoto Y, Saito K. Remarkable role of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan metabolites in infectious disease: potential role in macrophage-mediated inflammatory diseases. *Mediators Inflamm*. 査読有 2013, 2013, pp1-9.

Wang H, Imamura Y, Matsumoto N, Yoshikawa N, Nakagawa J, Yamakawa K, Yamada T, Murakami Y, Mitani S, Jin T, Ogura H, Shimazu T, Seiyama A. Matrix metalloproteinase-9 triggers the gap junction impairment and somatosensory neuronal dysfunction in septic encephalopathy. *Biochem Pharmacol*. 査読有 2(1), 2013, pp1-7.

Fukunaga M, Yamamoto Y, Kawasoe M, Arioka Y, Murakami Y, Hoshi M, Saito K. Studies on Tissue and Cellular Distribution of Indoleamine 2,3-Dioxygenase 2: The Absence of IDO1 Upregulates IDO2 Expression in the Epididymis. *J Histochem Cytochem*. 査読有 60(11), 2012, pp854-60.

Imamura Y, Yoshikawa N, Murakami Y, Mitani S, Seiyama A. Inflammation and Brain: Regulation of Systemic Inflammation in Sepsis. *Biochem & Pharmacol*, 査読有 1, 2012, ppe127.

Murakami Y, Wei G, Yang X, Lu XC, Leung LY, Shear DA, Tortella FC. Brain oxygen tension monitoring following penetrating ballistic-like brain injury in rats. *J Neurosci Methods*. 査読有 203(1), 2012, pp115-21.

Murakami Y, Hoshi M, Hara A, Takemura M, Arioka Y, Yamamoto Y, Matsunami H, Funato T, Seishima M, Saito K. Inhibition of increased indoleamine 2,3-dioxygenase activity attenuates *Toxoplasma gondii* replication in the lung during acute infection. *Cytokine*. 査読有 59(2), 2012, pp245-51.

〔学会発表〕(計 3 件)

「Species difference in Tryptophan metabolism.」Murakami Y, Saito K. (The 13th satellite symposium of the Japanese Society for Tryptophan Research (於 Queensland, Australia)) 2013.11.

「インターフェロン誘発性抑うつ発症時のトリプトファン代謝産物動態解析」村上由希、石橋貴明、安藤量基、富田栄一、竹村正男、山本康子、齋藤邦明(日本トリプトファン研究会第 35 回学術集会(於京都大学)) 2013.9.

「先制医療の実現に向けたコホート研究・バイオマーカー研究の推進」に関する一報」三谷智子、松波英寿、林慎、竹村正男、村上由希、今村行雄、松岡彩加、山本梨絵、山田南実、加奈山憲代、山本康子、松尾雄志、齋藤邦明(日本疫学会第 24 回学術総会(於東北大学)) 2014.1.

〔図書〕(計 2 件)

Imamura Y, Hori S, Matsumoto N, Yamakawa K, Nakagawa J, Shimazaki J, Wang H, Itou J, Murakami Y, Mitani S, Ogura H, Shimazu T, Seiyama A. NOVA Publishers, 「Septic Encephalopathy」, 2013.

Murakami Y, Imamura Y, Mitani S, Hoshi M, Arioka Y, Yamamoto Y, Seiyama A, Saito K. NOVA Publishers, 「Tumor Necrosis Factor-Alpha Related Signal Pathways and Neuronal Diseases」 2013.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上 由希 (MURAKAMI, Yuki)

京都大学・大学院医学研究科・特定研究員
研究者番号：50580106