

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461719

研究課題名(和文) 脳内アミノ酸系に及ぼす向精神薬の影響 - 高磁場MRSの精神薬理学的応用 -

研究課題名(英文) Effects of psychotropic drugs on the amino acid system in the brain: psychopharmacological application of high magnetic field MRS.

研究代表者

大森 哲郎(OHMORI, Tetsuro)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・教授

研究者番号：00221135

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：高磁場MRSを用いて、双極性障害患者と健常対照者を対象として、Glutamate(Glu)およびGlutamine(Gln)を分離定量した。Pearsonの相関解析によって、炭酸リチウム血中濃度と左基底核のGln/Glu比、バルプロ酸血中濃度と前部帯状回のGluに有意な正の相関を認めた。これら薬物の影響を考慮しても、双極性障害患者では前部帯状回においてGln/Glu比が上昇していた。GABAの分離定量も行ったが、明瞭な薬物の影響を認めなかった。

研究成果の概要(英文)：Glutamate (Glu) and Glutamine (Gln) were separated and quantitated for bipolar disorder patients and healthy control subjects using high magnetic field MRS. Pearson's correlation analysis revealed a significant positive correlation between the lithium carbonate blood concentration and the Gln / Glu ratio in the left basal ganglia, the valproate blood concentration and Glu in the anterior cingulate gyrus. Considering the influence of these drugs, the ratio of Gln / Glu was increased in the anterior cingulate gyrus in patients with bipolar disorder. The separation and quantification of GABA was also performed, but no clear drug effect was observed.

研究分野：精神神経科学

キーワード：精神薬理学 脳画像解析 グルタミン酸 GABA

1. 研究開始当初の背景

高磁場 (3Tesla) 強度の MRI 装置の導入により、proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) を撮像することにより、従来の 1.5Tesla MR 装置では検出が困難であったグルタミン酸と GABA というアミノ酸神経伝達物質の定量が可能となった。我々は、健常者においてリチウムが基底核グルタミン酸を低下させること (Shibuya-Tayoshi S et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008) 統合失調症患者においてベンゾジアゼピン使用が基底核グルタミン酸を増加させること (Tayoshi S et al. *Schizophr Res.* 2009) 抗精神病薬が前部帯状回の GABA 濃度を低下させ、定型抗精神病薬と非定型抗精神病薬では基底核の GABA 濃度への作用が異なり、抗コリン薬は基底核の GABA 濃度を増加させること (Tayoshi S et al. *Schizophr Res.* 2010) さらには抗精神病薬の投与量が前部帯状回のグルタミン/グルタミン酸比と正の相関を示すこと (Nakatani 学会発表 2011、2013) などを見出している。これらの所見は、アミノ酸神経伝達への向精神病薬の影響の検討に、高磁場 MRS 法が有用であることを示している。高磁場 MRS は精神神経疾患の病態解析法として注目されているが、この方法を薬理学的研究に展開する点に本研究のユニークな着眼がある。

2. 研究の目的

抗精神病薬と抗コリン薬服用の脳内グルタミン酸と GABA 濃度への影響は、統合失調症患者を対象とする解析のなかで明らかとなった。統合失調症における検討を継続するとともに、抗精神病薬を使用することの少なくとも双極性障害と強迫性障害についても、疾患横断的に薬物の影響という観点からデータを解析する。前部帯状回における抗精神病薬用量と GABA 濃度およびグルタミン/グルタミン酸比 (gln/glu 比) との関連は、ドパミン系とグルタミン酸系および GABA 系の機能的関連のヒトの in vivo 脳ではじめての検証となる。基底核 GABA 濃度との関連は、定型と非定型の薬理作用の差異や、錐体外路症状発現メカニズムに示唆を与える。

リチウムに関しては、健康成人対象の研究で認められた基底核のグルタミン酸低下について、双極性障害を対象として解析を進め、症状や治療反応との関連を解析する。並行してバルプロ酸の影響をも検討し、両気分安定薬によるグルタミン酸と GABA への影響の違いや、両薬を比較して症状や治療反応との関連を明らかにする。

薬物作用の検討は、疾患の病態研究につながる。対象症例には認知機能検査と分子医学的解析 (DNA 多型とメチル化解析) を行う。認知機能とグルタミン酸あるいは GABA 濃度との関連がすでに報告されている。グルタミン酸受容体遺伝子多型や BDNF 遺伝子多

型とグルタミン酸濃度との関連、ニューレグリン遺伝子多型と GABA 濃度との関連などが注目されている。認知機能と遺伝子多型という観点を加えて、疾患とアミノ酸濃度との関連の検討を行う。

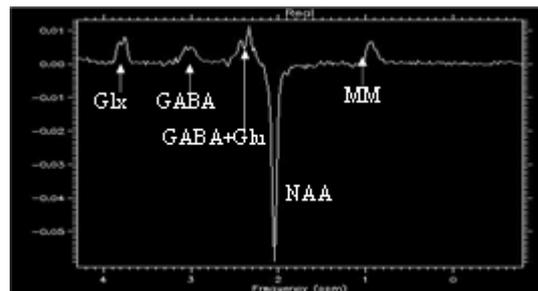
3. 研究の方法

【対象、診断、症状評価】

対象は徳島大学病院の外来通院中あるいは入院中の統合失調症患者、双極性障害患者、うつ病、強迫性障害患者および年齢性別を一致させた健常対照者である。診断は米国精神医学会の基準に従う。症状評価は、疾患において、簡易精神症状評価尺度 (BPRS)、ヤング躁病評価尺度 (YMRS)、ハミルトンうつ病評価尺度 (HAM-D)、エール・ブラウン強迫観念・強迫行為尺度 (YBOCS) を使用する。認知機能は統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版 (BACS-J) を用いて評価する。研究目的を説明し文書による同意を得たものだけを対象とする。

【3T ¹H-MRS による脳内代謝物質の定量】

装置は GE 社製の Signa 3T Excite。Voxel は原則として前部帯状回および左基底核線条体の 2 か所に置く。STEAM 法を用いた single voxel 測定を行い、NAA、choline containing compound (Cho)、creatine-phosphocreatine (Cr)、myo-inositol (ml)、glutamine (Gln)、glutamate (Glu) の定量を行う。MEGA-PRESS 法を用いて editing の後で差スペクトルをとることで GABA の検出を行う。



【DNA 多型解析とメチル化解析】

DNA メチル化解析は、研究室内で確立している。(Kinoshita et al. *Neuromolecular Med.* 2012)。多型解析は所定の方法で行う。

4. 研究成果

双極性障害患者を対象に研究を進め、成果を論文発表した。双極性障害患者 20 名および年齢性別を一致させた健常対照者 23 名を対象として、GE 社製の Signa 3T Excite を使用し、前部帯状回 (ACC) と左基底核 (1 tBG) に single voxel を置き、STEAM 法で Glutamate (Glu) および Glutamine (Gln) を、GABA を MEGA-PRESS 法で分離定量した。SPM8 を用いて、voxel 内の灰白質、白質、脳脊髄液の体積を測定し、それぞれの代謝物濃度について体積補正を行った。Pearson の相関解析を用いて、薬物 (炭酸リチウム血中濃度、

バルプロ酸血中濃度、抗精神病薬のクロルプロマジン換算)とそれぞれの代謝物濃度の関連について検討した。その結果、炭酸リチウム血中濃度とltBGのGln/Glu比、バルプロ酸血中濃度とACCのGluに有意な正の相関を認め、薬物の影響が明らかとなった。

Pearson's correlation analyses
 Li濃度とltBGのGln/Glu($r=0.547, p=0.043$)
 Li濃度とCho($r=0.804, p=0.049$)
 VPA濃度とACCのGlu($r=0.929, p=0.003$)

この影響を除いて検討したところ、ACCでは対照群と比べ双極性障害群のGln/Glu比の上昇が明らかとなったが、ltBGでは両群の差が無かった(Kubo et al. J. Affect. Dis. 2016)。

GABAに関しては明瞭な差異を認めなかったが、詳細を解析し、論文作成中である。

また、統合失調症に関してもサンプル収集を継続し、データを解析中である。とくにNMDA受容体のグリシン調節部位に対する部分アゴニストであるDサイクロセリン投与によるグルタミン酸とGABA濃度変化の研究からは、前頭葉の安静時の機能連関に変化を認め、学会発表した(Ohta et al)。画像所見と遺伝子多型との関連や認知機能との関連は引き続き検討を続けている。

Comparison of metabolite levels between bipolar patients and controls

	Bipolar group (n=20)		control group (n=23)		ANCOVA1: Covariate (age, gender)			ANCOVA2: Covariate (age, gender, LA, VPA)		
	Mean	SD	Mean	SD	F	df	p	F	df	p
ACC										
Gln/Glu	0.66	0.24	0.54	0.09	6.02	39	0.019 *	8.87	37	0.005 *
Cr	7.20	0.98	6.27	0.59	21.99	39	0.000 *	8.90	37	0.005 *
Glu	5.22	1.69	3.97	0.76	13.18	39	0.001 *	10.38	37	0.003 *
Glu	7.95	1.18	7.39	0.80	3.84	39	0.057	0.26	37	0.610
NAA	7.79	1.46	6.99	0.71	6.61	39	0.014 *	8.89	37	0.005 *
Cho	2.14	0.36	1.68	0.18	41.28	39	0.000 *	8.31	37	0.007 *
ltBG										
Gln/Glu	0.84	0.26	0.75	0.14	2.78	39	0.103	0.25	37	0.624
Cr	6.45	0.91	6.16	0.91	1.28	39	0.266	0.07	37	0.788
Gln	4.77	1.20	4.13	0.90	4.79	39	0.035 *	0.27	37	0.606
Glu	5.83	1.00	5.55	0.71	1.08	39	0.305	1.87	37	0.180
NAA	6.22	0.90	6.52	0.90	1.54	39	0.222	0.10	37	0.755
Cho	1.94	0.27	1.77	0.32	4.77	39	0.035 *	0.44	37	0.513

ACC: anterior cingulate cortex; ltBG: left basal ganglia
 Gln: glutamine; Glu: glutamate; Cr: creatinine; NAA: N-acetylaspartate; Cho: choline
 *Significant main effect of illness in repeated-measures ANCOVA($p<0.05$)

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24件)

1. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Watanabe S, Umehara H, Shimodera S, Nakazawa T, Kikuchi M, Nakaya A, Hashimoto H, Imoto I, Hashimoto R, Ohmori T. Effect of Clozapine on DNA Methylation in Peripheral Leukocytes

from Patients with Treatment-Resistant Schizophrenia. Int J Mol Sc 査読有,18(3):pii:E632,2017

2. Watanabe SY, Numata S, Iga JI, Kinoshita M, Umehara H, Ishii K, Ohmori T. Gene expression-based biological test for major depressive disorder: an advanced study. Neuropsychiatr Dis Treat 査読有,13:535-541,2017
3. Kubo H, Nakataki M, Sumitani S, Iga JI, Numata S, Kameoka N, Watanabe SY, Umehara H, Kinoshita M, Inoshita M, Tamaru M, Ohta M, Nakayama-Yamauchi C, Funakoshi Y, Harada M, Ohmori T. 1H-magnetic resonance spectroscopy study of glutamate-related abnormality in bipolar disorder. J Affect Disord 査読有,208:139-144,2017
4. Takeda T, Sumitani S, Hamatani S, Yokose Y, Shikata M, Ohmori T. Prefrontal cortex activation during neuropsychological tasks might predict response to pharmacotherapy in patients with obsessive-compulsive disorder. Neuropsychiatr Dis Treat 査読有,13:577-583,2017
5. Hamatani S, Tomotake M, Takeda T, Kameoka N, Kawabata M, Kubo H, Tada Y, Tomioka Y, Watanabe S, Inoshita M, Kinoshita M, Ohta M, Ohmori T. Influence of cognitive function on quality of life in anorexia nervosa patients. Psychiatry Clin Neurosci 査読有,71(5):328-335,2017
6. Hamatani S, Tomotake M, Takeda T, Kameoka N, Kawabata M, Kubo H, Tada Y, Tomioka Y, Watanabe S, Ohmori T. Impaired social cognition in anorexia nervosa patients. Neuropsychiatric Disease and Treatment 査読有,12:2527-2531,2016
7. Iga J, Watanabe SY, Numata S, Umehara H, Nishi A, Kinoshita M, Inoshita M, Shimodera S, Fujita H, Ohmori T. Association study of polymorphism in the serotonin transporter gene promoter, methylation profiles, and expression in patients with major depressive disorder. Hum Psychopharmacol 査読有,31(3):193-199,2016
8. Umehara H, Numata S, Kinoshita M, Watanabe S, Nakaaki S, Sumitani S, Ohmori T. No association between BDNF Val66Met polymorphism and treatment response in obsessive-compulsive disorder in the Japanese population.

- Neuropsychiatr Dis Treat 査読有,12:611-615,2016
9. Umehara H, Numata S, Tajima A, Nishi A, Nakataki M, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. Calcium Signaling Pathway Is Associated with the Long-Term Clinical Response to Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI) and SSRI with Antipsychotics in Patients with Obsessive-Compulsive Disorder. PLoS One 査読有,11(6):e0157232,2016
 10. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Nishi A, Muraki S, Tsuchiya A, Umehara H, Watanabe SY, Imoto I, Ohmori T. Cumulative effect of the plasma total homocysteine-related genetic variants on schizophrenia risk. Psychiatry Re 査読有,246:833-837,2016
 11. Takeda T, Tomotake M, Ueoka Y, Tanaka T, Tominaga T, Kaneda Y, Ohmori T. Relationship between cognitive function and employment in Japanese schizophrenia patients. Open Journal of Psychiatry 査読有,6(1):65-70,2016
 12. Chiba S, Tomotake M, Aono M, Toshimitsu H, Ohmori T. Clinical correlates associated with basic ability of social life in schizophrenia inpatients. Open Journal of Psychiatry 査読有,6(1):71-75,2016
 13. Numata S, Kinoshita M, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Ohmori T. Evaluation of an association between plasma total homocysteine and schizophrenia by a Mendelian randomization analysis. BMC Med Genet 査読有, 26;16:54,2015
 14. Inoshita M, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Umehara H, Yamamori H, Hashimoto R, Imoto I, Ohmori T. Sex differences of leukocytes DNA methylation adjusted for estimated cellular proportions. Biol Sex Differ 査読有,25;6:11,2015
 15. Umehara H, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Nakaaki S, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. No association between the COMT Val158Met polymorphism and the long-term clinical response in obsessive-compulsive disorder in the Japanese population. Hum Psychopharmacol 査読有, 30(5):372-376,2015
 16. Watanabe S, Iga J, Numata S, Umehara H, Nishi A, Kinoshita M, Inoshita M, Ohmori T. Polymorphism in the promoter of the gene for the serotonin transporter affects the age of onset of major depressive disorder in the Japanese population. J Affect Disord 査読有,1;183:156-158,2015
 17. Watanabe S, Iga J, Ishii K, Numata S, Shimodera S, Fujita H, Ohmori T. Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene expression assays. J Psychiatr Res 査読有,66-67:1-6,2015
 18. Watanabe Y, Sumitani S, Hosokawa M, Ohmori T. Prefrontal activation during two Japanese Stroop tasks revealed with multi-channel near-infrared spectroscopy. J Med Invest. 査読有, 62(1-2):51-55,2015
 19. Numata S, Ishii K, Tajima A, Iga J, Kinoshita M, Watanabe S, Umehara H, Fuchikami M, Okada S, Boku S, Hishimoto A, Shimodera S, Imoto I, Morinobu S, Ohmori T. Blood Diagnostic Biomarkers for Major Depressive Disorder using Multiplex DNA Methylation Profiles: Discovery and Validation. Epigenetics. 査読有, 10(2):135-141,2015
 20. Hosokawa M, Nakadoi Y, Watanabe Y, Sumitani S, Ohmori T. Association of autism tendency and hemodynamic changes in the prefrontal cortex during facial expression stimuli measured by multi-channel near-infrared spectroscopy. Psychiatry Clin Neurosci. 査読有, 69(3):145-152,2015
 21. Yamamori H, Hashimoto R, Fujita Y, Numata S, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Umeda-Yano S, Ito A, Ohmori T, Hashimoto K, Takeda M. Changes in plasma D-serine, L-serine, and glycine levels in treatment-resistant schizophrenia before and after clozapine treatment. Neurosci Lett. 査読有, 17;582:93-98,2014
 22. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Ohi K, Hashimoto R, Shimodera S, Imoto I, Takeda M, Ohmori T. Aberrant DNA methylation of blood in schizophrenia by adjusting for estimated cellular proportions. Neuromolecular Med. 査読有, 16(4):697-703,2014
 23. Aono M, Iga J, Ueno S, Agawa M, Tsuda T, Ohmori T. Neuropsychological and psychiatric assessments following bilateral deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in Japanese patients with Parkinson's disease. J Clin Neurosci. 査読有, 21(9):1595-1598,2014
 24. Watanabe S, Iga J, Nishi A, Numata S,

Kinoshita M, Kikuchi K, Nakataki M, Ohmori T. Microarray analysis of global gene expression in leukocytes following lithium treatment. Hum Psychopharmacol. 査読有, 29(2):190-198,2014

〔学会発表〕(計 21 件)

1. 久保弘子, 中瀧雅仁, 住谷さつき, 原田雅史, 大森哲郎. MRS を用いた気分安定薬服用中の双極性障害患者におけるグルタミン酸神経伝達の異常, 第 26 回日本臨床精神神経薬理学会, 2016.11.17-18, ホルトホール大分, 大分県大分市
2. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Imoto I, Hashimoto R, Ohmori T. DNA methylation changes in leukocytes by clozapine treatment in patients with treatment-resistant schizophrenia. Society for Neuroscience 2016 annual Meeting, 2016.11.12-16, San Diego, USA
3. 木下誠, 沼田周助, 井下真利, 大森哲郎. 統合失調症における血漿 CRP 濃度の DNA メチル化修飾への影響検討研究, 第 38 回日本生物学的精神医学会, 2016.9.8-10, 福岡国際会議場, 福岡県福岡市
4. Ohta M, Funakoshi Y, Harada M, Iga J, Kubo H, Nakataki M, Nakayama C, Nishikawa T, Numata S, Ohmori T, Sumitani S, Tamaru M, Uezato A. Structural and functional brain alterations in schizophrenia patients treated with D-cycloserine: a combination of VBM and resting-state functional connectivity study. CINP2016, 2016.7.3-5, Seoul, Republic of Korea
5. Umehara H, Numata S, Watanabe S, Sumitani S, Ohmori T. Altered Serotonin transporter mRNA expression in the peripheral leukocytes of obsessive-compulsive disorder. CINP2016, 2016.7.3-5, Seoul, Republic of Korea
6. 大森哲郎. 演題; 抗精神病薬のリスクとベネフィット、シンポジウムタイトル; 神経精神薬理学教育講座: 神経精神薬理の基礎と臨床の最新のエビデンスの紹介, 第 46 回日本神経精神薬理学会, 2016.7.2-3, Seoul, Republic of Korea
7. 大田将史, 中瀧理仁, 田丸麻衣, 久保弘子, 中山千明, 船越康宏, 上里彰仁, 沼田周助, 伊賀淳一, 住谷さつき, 原田雅史, 西川徹, 大森哲郎. D-サイクロセリンにより治療された統合失調症患者における内側前頭前皮質の機能的統合安
- 静時 fMRI 研究. 第 46 回日本神経精神薬理学会, 2016.7.2-3, Seoul, Republic of Korea
8. Numata S, Kinoshita M, Tajima A, Ohi K, Hashimoto R, Shimodera S, Imoto I, Takeda M, Ohmori T. The effect of blood cellular heterogeneity on DNA methylation in schizophrenia. Neuroscience 2015, 2015.10.17-21 Chicago, USA
9. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Ohmori T. Genome-wide association study of plasma total homocysteine in schizophrenia. Neuroscience 2015, 2015.10.17-21 Chicago, USA
10. Umehara H, Numata S, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. A genome-wide association study of the long-term clinical response to SSRI or SSRI with antipsychotics in obsessive-compulsive disorder in the Japanese population. Neuroscience 2015, 2015.10.17-21 Chicago, USA
11. Nishi A, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Shimodera S, Ono S, Ochi S, Kurotaki N, Imamura A, Ueno S, Imoto I, Ohmori T. Trio-based exome sequencing identified de novo non-synonymous missense mutations in schizophrenia. Neuroscience 2015, 2015.10.17-21 Chicago, USA
12. 渡部真也, 伊賀淳一, 梅原英裕, 沼田周助, 大森哲郎. 日本人におけるセロトニントランスポーター多型とうつ病との関連研究, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015.9.24-26, タワーホール船橋, 東京都江戸川区
13. 梅原英裕, 沼田周助, 住谷さつき, 大森哲郎. 強迫性障害の治療反応性とセロトニントランスポーター遺伝子多型との関連, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015.9.24-26, タワーホール船橋, 東京都江戸川区
14. 井下真利, 沼田周助, 田嶋敦, 木下誠, 梅原英裕, 山森英長, 橋本亮太, 井本逸勢, 大森哲郎. 細胞異種性を考慮した末梢血白血球の DNA メチル化の性差の検討, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015.9.24-26, タワーホール船橋, 東京都江戸川区
15. 森蓉子, 吉野祐太, 越智紳一郎, 山崎聖弘, 安倍賢郎, 尾崎優樹, 北野知地, 沼田周助, 伊賀淳一, 大森哲郎, 上野修一. 統合失調症患者における Nasu-Hakola 病関連遺伝子の相関解析及び末梢血白血球の発現解析研究, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015.9.24-26, タワーホール船橋, 東京都江戸川区

16. 武田知也, 住谷さつき, 濱谷沙世, 横瀬洋輔, 四方めぐみ, 大森哲郎. Stroop および言語流暢性検査を用いた強迫性障害患者の脳血流変化の検討, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015.9.24-26, タワーホール船橋, 東京都江戸川区
17. 久保弘子, 中瀧理仁, 住谷さつき, 大森哲郎. MRS による双極性障害におけるリチウムの作用の検討. 第 24 回日本臨床精神神経薬理学会, 2014.11.20-22, 名古屋国際会議場, 愛知県名古屋市
18. Numata S, Ishii K, Tajima A, Iga J, Kinoshita M, Watanabe S, Umehara H, Fuchikami M, Okada S, Shimodera S, Imoto I, Morinobu S, Ohmori T. Blood diagnostic biomarkers for major depressive disorder using DNA methylation profiles. Neuroscience 2014,2014.11.15-19,Washington Convention Center,USA
19. Umehara H, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, S Nakaaki, Imoto I, Sumitani S, Ohmori T. Association between the COMT Val158Met polymorphism and the clinical response to SSRI or SSRI with antipsychotics in obsessive-compulsive disorder. Neuroscience 2014,2014.11.15-19,Washington Convention Center,USA
20. Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Ohmori T. Blood homocysteine and schizophrenia evaluated by a Mendelian randomization analysis. Neuroscience 2014,2014.11.15-19,Washington Convention Center,USA
21. Inoshita M, Numata S, Tajima, Kinoshita M, Imoto I, Ohmori T. Sex differences of blood in DNA methylation. Neuroscience 2014,2014.11.15-19,Washington Convention Center,USA

6. 研究組織

(1)研究代表者

大森 哲郎 (OHMORI, Tetsuro)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号：00221135

(2)研究分担者

住谷 さつき (SUMITANI, Satsuki)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号：90346594