

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：82611

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09818

研究課題名(和文) 安定同位体呼気検査による気分障害におけるセロトニン-キヌレニン仮説の検討

研究課題名(英文) Study on the serotonin kynurenine hypothesis by the stable isotope breath test in mood disorder

研究代表者

寺石 俊也 (Teraishi, Toshiya)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第三部・研究生

研究者番号：90532531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病のモノアミン及びキヌレニン仮説に基づき、安定同位体でラベルしたフェニルアラニン(Phe)やトリプトファン(Trp)服用後の呼気ガス検査(13C-PBT及び13C-TBT)の有用性を検討した。対象は18人の大うつ病、15人の統合失調症、21人の健常者である。13CPhe 100mgまたは13CTryp 150mg摂食後、呼気中13CO₂/12CO₂比を測定した。13C-PBTにおいては、いずれの指標においても有意差はなかった。13C-TBTにおいては累積回収率(CRR)について3群間に有意差があった。以上から13C-TBTはうつ病と統合失調症を生物学的に鑑別診断するために有用な検査である。

研究成果の概要(英文)：The serotonin kynurenine (KYN) hypothesis, as well as monoamine hypothesis have gained increased attention in research into depression. We aimed to detect altered phenylalanine (Phe) and tryptophan (Trp)-KYN metabolism in major psychiatric disorders using the L-[1-13C]phenylalanine and L-[1-13C]tryptophan breath test (13C-PBT and 13C-TBT), respectively. 13C-phenylalanine (100 mg) and 13C-tryptophan (150 mg) were orally administered, and the breath 13CO₂/12CO₂ ratio was monitored for 120 and 180 min, respectively, in three groups: 15 patients with schizophrenia, 18 with major depressive disorder (MDD), and 21 healthy controls. In 13C-PBT, there were no significant difference in any indices between the three groups. In 13C-TBT, the cumulative recovery rate (CRR) was significantly different between the three groups. Our results suggest that 13C-TBT is a useful test to discriminate between depression and schizophrenia.

研究分野：精神医学

キーワード：安定同位体 呼気ガス検査 トリプトファン キヌレニン うつ病 統合失調症

1. 研究開始当初の背景

ヒトの必須アミノ酸であるフェニルアラニンとトリプトファンは体内で代謝され、それぞれから神経伝達物質であるドーパミンやノルアドレナリンとセロトニンが合成される。また統合失調症や気分障害の病態として、炎症と免疫が関与していることが明らかになってきており、特に、トリプトファン代謝酵素である Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) は、炎症性サイトカインにより活性化されると、代謝産物であるセロトニンや向神経活性をもつキノリン酸及びキヌレニン酸の産生が変化するため、注目されている(慢性炎症仮説、セロトニン-キヌレニン仮説)(Maes et al, 2011)。

活性が亢進している代謝経路を調べるために、血液サンプル中の代謝産物濃度を測定する研究が行われているが、血液濃度は必ずしも代謝回転の速度を反映しない。一方、トレーサー実験による解析は、標識された前駆物質の生体内の代謝動態をリアルタイムに反映する利点がある(Hasunuma et al, 2009)。近年の技術革新により、安定同位体を用いた呼気ガス検査が医学に応用されるようになり、非侵襲的かつ簡便であるという特徴を持つ。申請者のグループは、 ^{13}C で標識したフェニルアラニン (^{13}C -フェニルアラニン) を用いた呼気ガス検査を用いて、統合失調症患者における代謝変化を明らかにした(Transl Psychiatry, 2012)。またトリプトファンを ^{13}C で標識し (^{13}C -トリプトファン) セロトニン経路やキヌレニン経路で代謝されることにより呼気中より排出される $^{13}\text{CO}_2$ を測定することによって合成速度の指標とすることができ、in vivo において活性化されている代謝経路の同定が可能となる。

トリプトファン-キヌレニン経路の IDO は腫瘍免疫との関連においても多数報告されており、腫瘍局所の IDO 活性上昇とそれに伴うトリプトファンの枯渇は、T 細胞や NK 細胞

の増殖抑制や制御性 T 細胞の活性化をもたらして腫瘍免疫回避の機序に関与するとされる。悪性腫瘍患者の約半数に不安や抑うつ等の精神症状があり、13-40%にうつ病が合併しているといわれている (Pinquart and Duberstein, 2010)。したがって、 ^{13}C -トリプトファン呼気検査により、うつ病と悪性腫瘍が共有するトリプトファン代謝パターンを見いだせる可能性がある。

以上から、呼気ガス検査が精神疾患の診断指標(バイオマーカー)になる可能性があり、 ^{13}C -フェニルアラニン及び ^{13}C -トリプトファン呼気ガス検査により観察可能な代謝パターンを統合失調症とうつ病で比較検討すること、担がん動物における ^{13}C -トリプトファン呼気ガス検査について検討することは極めて有意義である。

2. 研究の目的

本研究は、統合失調症のドーパミン仮説、大うつ病のモノアミン仮説やキヌレニン仮説に基づき、両疾患の診断や類型化に役立つバイオマーカーとして、 ^{13}C -フェニルアラニン及び ^{13}C -トリプトファン服用後の呼気ガス検査の有用性について検討することを目的とする。

さらに乳がんモデルラットに ^{13}C -トリプトファン呼気検査を施行することにより、悪性腫瘍におけるトリプトファンの代謝パターンを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

<臨床研究 対象>

精神疾患簡易構造化面接法(MINI)や診療録情報に基づいて精神科医によって、DSM-5の統合失調症と診断された患者 15 名、大うつ病患者 18 名、年齢・性がマッチした健康者 21 名である。肝機能や腎機能が異常がある者は除外した。

<臨床研究 ^{13}C 呼気ガス検査>

以下のプロトコールで行った。

検査当日 0 時以降は絶食とし、午前 10 時に 10cc 静脈採血する（肝・腎機能などの生化学的検査のため）。 ^{13}C で標識されたフェニルアラニン 100mg もしくはトリプトファン 150mg を服用し、服用直前、10 分後、15 分後、20 分後、30 分後、45 分後、60 分後、90 分後、120 分後（ ^{13}C -フェニルアラニン呼気検査 計 8 回）、150 分後、180 分後（ ^{13}C -トリプトファン呼気検査 計 10 回）に呼気を 250ml のアルミバッグに回収する。呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ を測定し（赤外分光分析装置 UBiT-IR300[大塚電子]を用いる）、時間経過をプロットする。

<動物実験 モデル動物>

7 週齢の SD 系雌ラットに 20mg/body の 7,12-Dimethylbenz()anthracene (DMBA, 20mg/1ml sesame oil) を 1 回胃内強制投与した。コントロール群として、7 週齢の SD 系雌ラットに 1ml sesame oil を 1 回胃内強制投与した。DMBA 投与 18 週目より、腫瘍が発生した動物を選抜し、DMBA 誘発性乳がんモデルラット群とした。

<動物実験 ^{13}C -トリプトファン呼気検査>

検査前日からラットを 15 時間以上絶食とした。 ^{13}C -トリプトファン溶液(2mg/ml)を腹腔注射(10ml/kg 体重)により投与した。投与直後にラットを専用の自動呼気採取装置に入れ、10 分後、20 分後、30 分後、45 分後、60 分後、90 分後、120 分後、150 分後、180 分後の呼気を 250ml のアルミバッグに回収した。赤外分光分析装置を用いて呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ を測定し、時間経過をプロットした。

4. 研究成果

<臨床研究の結果>

^{13}C -フェニルアラニン呼気検査においては、 $^{13}\text{CO}_2$ の排出量は、統合失調症(SZ)、大うつ病(MDD)及び健常者(CON)の 3 グループ間に有意な差は認められなかった。図 1 に、3 グループ

の呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ の時間経過 (A) と累積回収率 (CRR; %) (B)を示す。

図 1.A

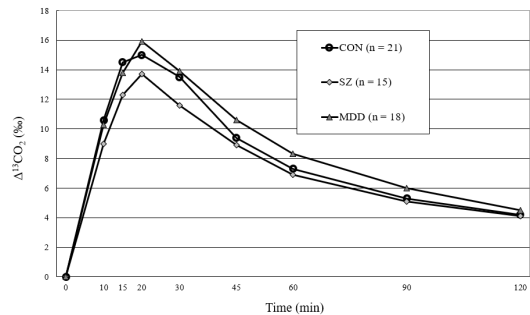
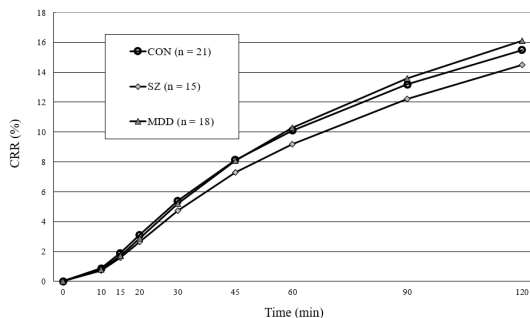


図 1.B



^{13}C -トリプトファン呼気検査においては、 $^{13}\text{CO}_2$ の排出量について、統合失調症、大うつ病及び健常者の 3 グループ間に有意な差を認められた（図 2.A： $^{13}\text{CO}_2$ の時間経過、 B：累積回収率）。

図 2.A

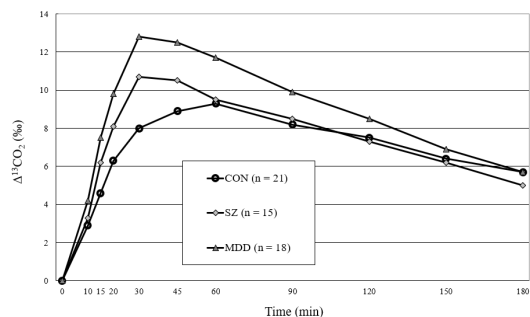
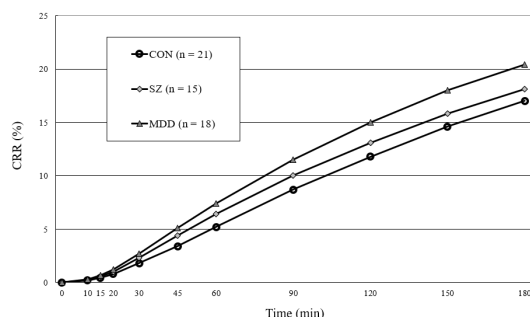


図 2.B



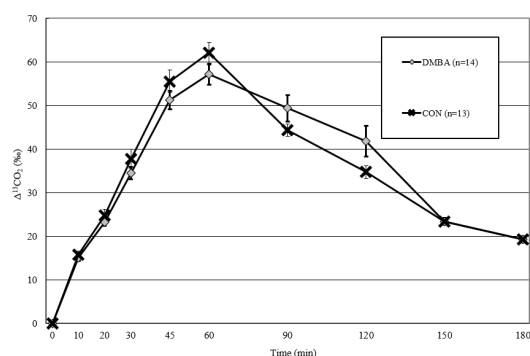
CRR を従属変数として重回帰分析を行ったところ、うつ病という診断、性、年齢が有意な説明変数であることが示された。また、 $^{13}\text{C}_2$ 排出量はうつ病の重症度（ハミルトンうつ病評価尺度）とは有意な相関がなかったが、抗うつ薬の服用量とは有意な負の相関を認めた。 ^{13}C -トリプトファン呼気ガス検査により、うつ病群と健常群の間に異なる代謝パターンを観察した世界初の成果として、これらの結果を報告した(Sci Rep, 2015)。

< 動物実験の結果 >

DMBA 誘発性乳がんモデルラット群(DMBA)とコントロールラット群(CON)に、 ^{13}C -トリプトファン呼気検査を施行したが、AUC について両群の間に有意差はなかった。図 3 に 2 群の $^{13}\text{C}_2$ の時間経過のグラフを示す。

今後、うつ病モデルラットの ^{13}C -トリプトファン呼気検査や、DMBA 誘発性乳がんモデルラットの腫瘍の病理診断のデータを追加して、さらに比較・検討する必要があると考えられた。

図 3



以上から、 ^{13}C -トリプトファン呼気検査はうつ病と統合失調症を生物学的に鑑別診断するために有用な検査であること、うつ病における ^{13}C -トリプトファン呼気検査のインデックスの上昇は抗うつ薬で改善される可能性などが明らかになった。 ^{13}C -トリプトファン呼気検査を用いることによる腫瘍免疫と

精神症状に共通する IDO 活性の評価は、モデル動物の種類や例数を増やして、今後明らかにする予定である。

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 3 件)

1) Teraishi T, Hori H, Sasayama D, Matsuo J, Ogawa S, Ota M, Hattori K, Kajiwara M, Higuchi T, Kunugi H. ^{13}C -tryptophan breath test detects increased catabolic turnover of tryptophan along the kynurenine pathway in patients with major depressive disorder.

Sci Rep. 査読有, 2015 Nov 3;5:15994. doi: 10.1038/srep15994.

2) 寺石俊也, 功刀浩: キヌレニン経路. 分子精神医学, 16(4): 47-49, 2016

3) Teraishi T, Kajiwara M, Hori H, Sasayama D, Hidese S, Matsuo J, Ishida I, Kajiwara Y, Ozeki Y, Ota M, Hattori K, Higuchi T, Kunugi H. ^{13}C -phenylalanine breath test and serum biopterin in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder.

J Psychiatr Res. 査読有, 2018 Apr;99:142-150.doi:

10.1016/j.jpsychires.2018.01.019.

[学会発表](計 1 件)

寺石俊也, 堀弘明, 篠山大明, 松尾淳子, 小川眞太郎, 太田深秀, 服部功太郎, 梶原正宏, 功刀浩: ^{13}C -トリプトファン呼気検査による、うつ病のキヌレニン仮説についての検討. 第 38 回日本生物学的精神医学会 第 59 回日本神経化学会大会合同年会, 福岡, 2016 年 9 月 9 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

なし

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

国立精神・神経医療研究センター神経研究所
疾病研究第三部ホームページ：
シ :

<http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r3/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

寺石俊也 (TERAISHI, Toshiya)

国立精神・神経医療研究センター・神経研究所
疾病研究第三部・研究生

研究者番号：90532531

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

功刀 浩 (KUNUGI, Hiroshi)

梶原正宏 (KAJIWARA, Masahiro)