

令和元年6月14日現在

機関番号：82406

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19189

研究課題名(和文) 血液検査が可能な精神疾患のバイオマーカーとしての脳型脂肪酸結合タンパク質の検討

研究課題名(英文) Study of brain-type fatty acid binding protein as a biomarker of psychiatric disorder for application to blood test

研究代表者

古賀 農人 (Koga, Minoru)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・精神科学・助教)

研究者番号：70744936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症や双極性障害、うつ病といった精神疾患において客観的評価を可能にする決定的なバイオマーカーとなる分子は今のところ報告されていない。本研究ではこれらの疾患を対象に、予備的検討により心理的なストレスと相関が示唆された脳型脂肪酸結合タンパク質B-FABPに着目して、血液中の濃度と疾患及び症状との相関を分析した。その結果、この分子がこれらの疾患の発症リスク、及び統合失調症の症状に相関することが明らかになり、B-FABPが精神疾患の客観的評価に有用な分子であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で対象とした3つの疾患において、血漿中B-FABP濃度がいずれも対照群より有意に高かったことから、これらの疾患に共通した病態によるものであることが示唆された。このことから、血漿中B-FABP濃度はこれらの精神疾患の発症リスクに関する指標となることが示唆された。また、統合失調症においては臨床症状の重症度とも相関することから、B-FABPは統合失調症における治療効果や薬剤効果の指標としての応用に期待できる。本研究結果から、B-FABPは日常的な血液検査レベルで精神疾患の診断補助や重症度の客観的評価を可能にするバイオマーカーとしての応用に期待できる分子であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Biomarkers that enable objective evaluation in psychiatric disorders such as schizophrenia, bipolar disorder, and depression have not been reported so far. In the present study, focusing on the brain-type fatty acid binding protein B-FABP, which was indicated a correlation with psychological stress in the preliminary study, was analyzed the correlation in the blood between the concentration and mental disorders. As the result, B-FABP was shown a correlation with the risk of onset of these disorders, and the symptoms of schizophrenia. We have been concluded that B-FABP is a useful molecule for objective evaluation of psychiatric disorders.

研究分野：神経科学、精神科学、遺伝子工学、遺伝医学

キーワード：脂肪酸結合タンパク質 酸化ストレス 統合失調症 双極性障害 うつ病 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

統合失調症や双極性障害、うつ病といった精神疾患の病態解明は診断や創薬のために急務であり、疾患や症状に関連するバイオマーカーの同定はこれを解決する上で重要である。しかしながら、精神疾患の場合、その責任器官が脳であることから生体検査はほぼ不可能である。この課題に対して、肝疾患に対する血清  $\gamma$ -Glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GTP) 活性のように本来発現する細胞種から逸脱して細胞外で検出される性質の分子の同定が一つの突破口となると考えられるが、精神疾患と関連が認められるこのような特性を持つ分子は今のところ報告されていない。

脂肪酸結合タンパク質は不飽和脂肪酸との親和性が高く、脂肪酸の運搬に関わる分子であることが知られる。また分子ファミリーを形成し、器官や細胞種に特異性を持って発現することが知られている。心臓型 FABP (H-FABP) や上位尿管に発現する肝臓型 FABP (L-FABP) は心筋や腎臓における炎症や酸化ストレスによるダメージに反映して血清中や尿中の濃度に上昇が認められ (Kleine et al., 1992; Kamiyo et al., 2004) それぞれ急性心筋梗塞及び腎障害のマーカーとして保険収載されるに至っている。FABP の分子機能は未だに不明な点が多いが、L-FABP では過酸化脂質と結合し細胞外へ逸脱することで組織中の酸化ストレスを低下させる役割を持つことが示唆されており、これが腎障害における尿中 L-FABP 濃度上昇のメカニズムである可能性が示された (Yamamoto et al., 2007)。

脳型 FABP (B-FABP) は遺伝学的知見 (Watanabe et al., 2007) や死後脳における遺伝子発現量が対照と比較して低下していたという研究結果 (Shimamoto et al., 2014) から統合失調症との関連が示唆され、その後の分子生物学的な研究によって脳の発達に重要な神経新生の制御に関係する脂質シグナリングに関与することが示された (Maekawa et al., 2009) 。他方で、急性期脳梗塞の患者やアルツハイマー型認知症やパーキンソン病といった神経変性疾患患者における血清中 B-FABP 濃度の上昇が認められたこと (Wunderlich et al., 2005; Teunissen et al., 2011) から、前述の L-FABP や H-FABP と同様な挙動を示す知見が報告されており、B-FABP が脳組織障害のバイオマーカーとなる可能性が示された。これまでに血清中 B-FABP 濃度と精神疾患との関係についての報告はないが、研究開始時に行った予備的検討では、拘束ストレス負荷による精神的ストレスモデルマウスの血清中の B-FABP 濃度が対照と比較して有意に上昇していた (図 1) また、このモデルマウスの脳組織における酸化ストレスレベルを酸化型グルタチオンの濃度により評価したところ、精神的ストレスモデルマウスの海馬における酸化ストレスレベル (酸化型グルタチオンレベル) が対照と比較して有意に高かった (図 2) 。さらに、アストロサイトームを用いた細胞培養系を用いた実験では、即座に細胞死が起きない程度で培地に過酸化水素を処理し (終濃度 500  $\mu$ M、30 分間) 酸化ストレスを引き起こした際に、対照では検出限界以下であった培養液中の B-FABP 濃度が有意に上昇しており (図 4) B-FABP が酸化ストレスにตอบสนองして細胞外への移行することが示唆され、酸化ストレスが高い状態の腎組織からストレス因子の過酸化脂質と結合して尿中に移行する抗酸化ストレス作用が示唆されている L-FABP と類似した分子機能を持つ可能性が考えられた (図 4) 。これらの予備的な実験の結果から、B-FABP が神経変性疾患のみならず精神疾患における脳の障害を反映するバイオマーカーとして有用であり、さらにこの分子の役割や生物学的な動態を明らかにすることで未だに明らかになっていない精神疾患における病態解明や創薬に貢献できるという発想に至った。

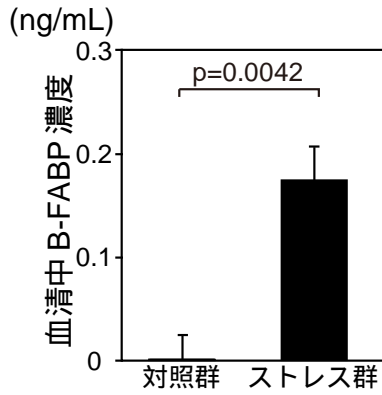


図1 拘束ストレスを負荷したマウス及び対照マウスにおける血清中 B-FABP 濃度

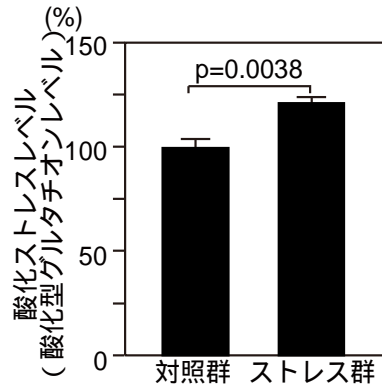


図2 対照マウスに対する拘束ストレスを負荷したマウスの海馬組織の酸化型グルタチオンの変化

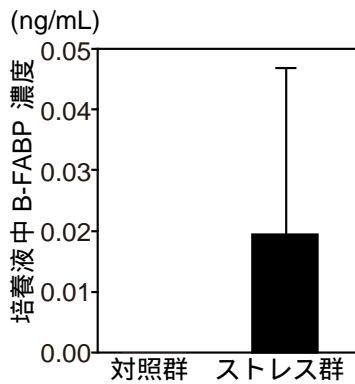
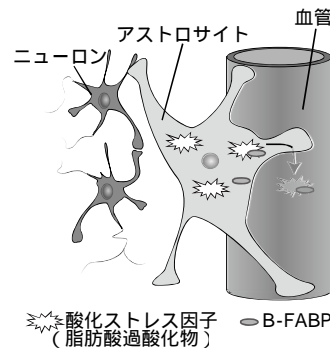


図3 U-251 細胞に過酸化水素にて酸化ストレスを負荷した際の培養液中 B-FABP 濃度の変化



## 2. 研究の目的

### [1] 精神疾患患者における血液中 B-FABP 濃度と疾患或いは症状との関係

統合失調症、双極性障害及びうつ病患者における血液中 B-FABP 濃度を測定し、健常者と比較することで、精神疾患と血液中 B-FABP 濃度との関係を検証した。また、陽性症状、陰性症状、抑うつ症状、思考、易怒性といった様々な臨床症状と血液中 B-FABP 濃度との相関関係についても検証した。これらの検証から、血液中の B-FABP 濃度による診断補助や症状評価への有用性を検討した。

### [2] マウスを用いた抗うつ薬及び抗精神病薬による血液中の B-FABP 濃度変化の分析

本研究で対象とする精神疾患を有する患者は抗うつ薬や抗精神病薬を服用している。これらの薬剤投与による血液中 B-FABP 濃度への影響を分析する為に、マウスに種々の薬剤を一定期間投与し、血液中 B-FABP 濃度の変化を調査した。

### 3. 研究の方法

#### [1] 精神疾患患者における血液中 B-FABP 濃度と疾患或いは症状との関係

対象者は北海道大学病院に通院もしくは入院している統合失調症及び双極性障害、うつ病患者とし、対照群として精神障害の既往歴のない健常者とした。患者群の診断は DSM-5 により亜型分類し、複数名による臨床症状評価 (HAM-D, YMRS, PANSS) を行う。被験者は各群 30 名を目標とした。本研究に対し同意を得られた被験者から採取された血液は、血漿のみを分離し B-FABP 測定までは -80 ℃ にて凍結保存した。B-FABP 濃度は ELISA キット (Cloud-clone 社) により測定した。B-FABP について疾患群との関連を B-FABP 濃度の群間比較を行うことに加え、臨床症状評価尺度による様々な指標の重症度を連続変数として症状について数値化した重症度との関連について相関解析を行い、疾患・症状特異度、感度も評価した。本研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認のもと遂行された。

#### [2] マウスを用いた抗うつ薬及び抗精神病薬による血液中の B-FABP 濃度変化の分析

5mg/kg エスシタロプラムを一日 2 回、10mg/kg デュロキセチンを一日 1 回、0.1 mg/kg アリピプラゾールを一日 1 回、0.5mg リスペリドンを一日 1 回、或いは 5mg/kg オランザピンを一日 1 回、ICR マウス (オス、11 週齢) に 2 週間腹腔内に連続投与した。投与期間終了後、血液を採取し、血漿中の B-FABP を ELISA キット (Cloud-clone 社) により定量した。対照群には溶媒のみを投与した。血漿中の B-FABP 濃度について、対照群と各薬剤投与群とを比較した。本研究は北海道大学動物実験委員会の承認のもと遂行された。

### 4. 研究成果

本研究の対象者は健常者 41 名、統合失調症患者 30 名、双極性障害 30 名、うつ病 35 名となった。背景情報は表 1 に示す。

表 1 被験者の背景情報

	健常者	統合失調症	双極性障害	うつ病
被験者数 (男性:女性)	41 (20:21)	30 (13:17)	30 (16:14)	35 (20:15)
年齢 (歳)	43.9±11.3	43.8±8.8	52.7±9.6 *	48.9±12.7
罹病期間 (年)	-	19.3±11.8	16.6±7.5	13.6±7.6
PANSS合計	-	68.8±11.6	-	-
HAM-D21合計	-	-	9.9±6.6	12.3±8.2
YMRS合計	-	-	4.0±4.2	1.6±1.8

健常者の血漿中 B-FABP 濃度の測定結果から性差及び年齢との相関を検討した結果、いずれも相関は認められなかった (性別  $p=0.10$ 、 $t$  検定。年齢  $p=0.47$ 、回帰分析)。疾患群と健常群との比較の結果、対照者である健常者と比較して今回対象とした疾患群ではいずれも血漿中 B-FABP 濃度が有意に高かった (図 5)。疾患群における重症度と血漿中 B-FABP との相関関係の検討では、統合失調症における PANSS のスコアと正の相関が認められた。また、統合失調症における症状分類との相関は、陽性症状、興奮/敵意症状、解体/認知症状において血漿中 B-FABP 濃度と正の相関が認められた (表 2)。

マウスに抗うつ薬や抗精神病薬を投与しても血漿中の B-FABP 濃度は対照群と有意差がなく、

薬剤の影響を受けるものではないことが示された (図6)。

本研究で対象とした3つの疾患において、血漿中 B-FABP 濃度がいずれも対照群より有意に高かったことから、これらの疾患に共通した病態によるものであることが示唆された。このことから、血漿中 B-FABP 濃度はこれらの疾患を区別可能なマーカーにはならないが、精神疾患の脆弱性に関与する指標となりうる。また、統合失調症においてはその重症度とも相関することから、治療効果、薬剤効果のマーカーにもなりうる。今後は、バイオマーカーとしての意義を明らかにするために、本研究で行った横断的な研究に加えて、縦断的な検討が必要である。また、これまでに報告されて

いる種々の精神疾患の病態モデルにおける血漿中 B-FABP 濃度の動態を把握し、精神症状との関連について検証するとともに、ヒトと実験モデルにおける共通指標の検討も行い、今後の基礎研究や創薬における評価系への応用を進める必要がある。

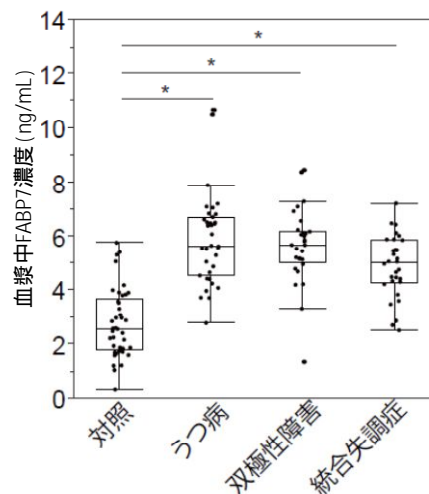


図5 対照群および患者群の血漿中 B-FABP 濃度。\*, p<0.05 (Tukey-Kramer 法)

表2 PANSS 5 因子モデルにおける各症状因子と血漿中 B-FABP 濃度の相関 (Pearson の相関解析)

症状因子	相関係数
陽性症状	0.44 *
陰性症状	0.35
興奮 / 敵意症状	0.40 *
不安 / 抑うつ	0.36
解体 / 認知症状	0.67 **

\*, p<0.05; \*\*, p<0.0001

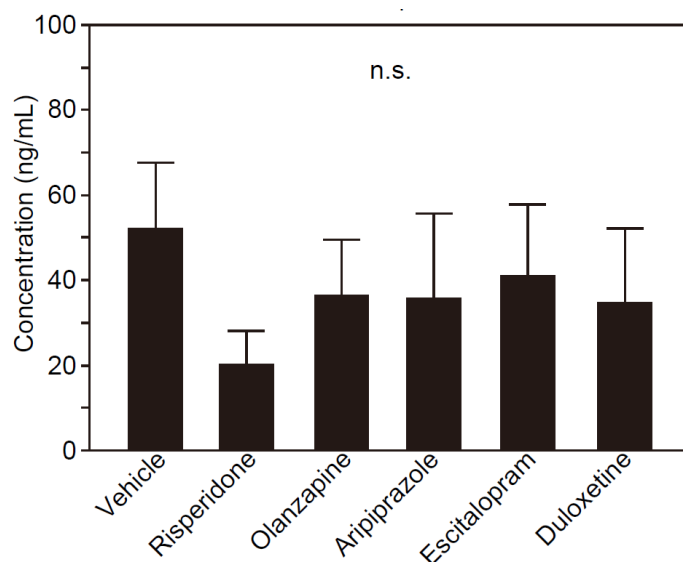


図6 薬剤を投与したマウスの血漿中 B-FABP 濃度

対照群および薬剤投与群の血漿中 B-FABP 濃度 (各群 n=6) の平均値 ± 標準誤差を示す。

## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計 1 件)

Okubo R, **Koga M**, Katsumata N, Odamaki T, Matsuyama S, Oka M, Narita H, Hashimoto N, Kusumi I, Xiao J, Matsuoka YJ  
Effect of bifidobacterium breve A-1 on anxiety and depressive symptoms in schizophrenia: A proof-of-concept study  
J Affect Disord. 2019 Feb 15;245:377-385. doi: 10.1016/j.jad.2018.11.011

### [学会発表](計 6 件)

**Minori Koga**, Shin Nakagawa, Yumi Wakatsuki, Kan Kitagawa, Akiko Kato, Ichiro Kusumi  
Serum levels of brain-type fatty acid-binding protein is elevated in response to mental stress  
Neuroscience 2016, San Diego, USA, 2016.11

**古賀農人**、中川伸、若槻百美、北川寛、加藤亜紀子、久住一郎  
精神的ストレスに対するバイオマーカーとしての血清中脳型脂肪酸結合タンパク質の検討  
第 38 回日本生物学的精神医学会、2016 年 9 月

**古賀農人**、中川伸、牧原圭祐、岡松彦、久住一郎  
Investigation of the relationship between brain inflammation and depressive symptoms using a lipopolysaccharide-induced depressive-like model mouse  
第 40 回日本生物学的精神医学会、2018 年 9 月

**Minori Koga**, Hiroyuki Toda, Fumiho Asai, Kunio Shimizu, Masanori Nagamine, Aihide Yoshino  
Preconditioning of lipopolysaccharide induces tolerance to depressive-like behavior  
The World Federation of Societies of Biological Psychiatry 2018 年 9 月

**古賀農人**、戸田裕之、浅井史穂、清水邦夫、長峯正典、吉野相英  
炎症性の抑うつ症状に対するリポポリサッカリドの事前投与による抗うつ作用とそのメカニズムの探索  
第 37 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2018 年 10 月

**Minori Koga**, Shin Nakagawa, Asumi Sato, Yumi Wakatsuki, Kan Kitagawa, Rie Kameyama, Niki Udo, Satoshi Asakura, Yutaka Fujii, Yuki Kako, Koki Ito, Nobuyuki Mitsui, Hisashi Narita, Kuniyoshi Toyoshima, Akiko Kato, Ichiro Kusumi  
Plasma brain-type fatty acid-binding protein is a potential candidate biomarker for psychiatric disorders  
Neuroscience 2018, San Diego, USA, 2018.11

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

古賀 農人 (Koga, Minori)  
防衛医科大学校・精神科学講座・助教  
研究者番号：70744936

### (2)研究協力者

久住 一郎(Kusumi, Ichiro)

中川 伸(Nakagawa, Shin)

北市 雄士(Kitaichi, Yuji)

早坂 孝宏(Hayasaka, Takahiro)