

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17091

研究課題名（和文）精神疾患における認知機能とL-グルタミン酸濃度の関連に関する疾患横断的検討

研究課題名（英文）A cross-sectional study of the relationship between cognitive function and L-glutamate levels in psychiatric disorders.

研究代表者

渡部 真也（WATANABE, Shinya）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教

研究者番号：90563825

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）： 健常者における健常者における血漿中L-グルタミン酸濃度が、測定サンプルの処理条件（採取時間、採取から処理までの時間・温度、冷凍-解凍回数）にどのような影響を及ぼすのかについて検討したところ、サンプル処理までの時間・保存温度がグルタミン酸濃度に有意な影響を及ぼすことが明らかとなった。酵素法によるL-グルタミン酸測定キットを用いて健常対象者、未治療うつ病、治療後うつ病の3群間の血漿中グルタミン酸濃度を比較した所、健常対象者群に比べ未治療うつ病群では血漿中グルタミン酸濃度が有意に高く、患者群では抗うつ薬で治療後に血漿中グルタミン酸濃度が低下している傾向がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において得られた血漿中のL-グルタミン酸濃度が測定条件による影響を受けるという知見は、今後のL-グルタミン酸に関する研究の方法論に大きな示唆を与えるものであると思われる。また、既報のグルタミン酸に注目した研究は、グルタミン酸の光学異性体のL体とD体を区別しない総和量で検討されてきたが、今回、研究代表者が見出したL-グルタミン酸単独の濃度とうつ病との関連は新規の知見として、うつ病の病態解明に大きく寄与するものであると考えられる。

研究成果の概要（英文）： We assessed the effects of measurement processing conditions on plasma L-glutamate levels in non-psychiatric healthy subjects. We found that the plasma L-glutamate levels were affected by the incubation temperature before centrifugation for obtaining plasma.

We compared plasma L-glutamate levels among three groups: healthy subjects, untreated depression, and post-treatment depression using an enzymatic L-glutamate assay kit. We found that plasma glutamate levels were significantly higher in the untreated depression group than in the healthy subjects group and tended to be decreased after treatment with antidepressants in the patients groups.

研究分野：精神医学

キーワード：L-グルタミン酸 うつ病

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アミノ酸、アミン、ヌクレオチド、糖、脂質などの低分子量代謝物質は、遺伝子発現やたんぱく質などと比較すると対象となる代謝物の数は少なく、代謝産物は遺伝子の制御やタンパク質の作用を経た最終の表現系なので病態と関連した分子が見つかりやすいと考えられている。近年、分離分析技術の発達により網羅的に低分子量代謝物を測定するメタボローム解析が可能となった。研究代表者は、Capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry (CE-TOFMS)を用いたメタボローム解析を行い、うつ病の血漿におけるグルタミン酸濃度の上昇を報告した(Umehara et al.2017, Inoshita et al. 2018)。グルタミン酸は中枢神経系における主要な興奮性の神経伝達物質であり、記憶や学習などの高次脳機能に重要な役割を果たしていることが知られている。NMDA 受容体拮抗薬であるケタミンが短期的にうつ病と双極性障害に有効であるという報告は(Romeo et al.2005)、うつ病だけでなく双極性障害におけるグルタミン酸系の異常が示唆されるし、NMDA 受容体作動薬のD-セリンが統合失調症に有効であるという報告は(Kantrowitz et al. 2015) 統合失調症におけるグルタミン酸系の異常が示唆される。実際に、うつ病に限らず、統合失調症や双極性障害においてグルタミン酸濃度の変化が報告されている(Song et al. 2014, Kubo et al. 2017)。また、統合失調症やハンチントン病において認知機能障害の程度と脳内のグルタミン酸濃度に有意な関連があったという報告もある(Unschuld et al. 2012, Dempster et al. 2015)。これらの知見は、グルタミン酸がうつ病だけでなく、複数の精神疾患の病態に関与し、精神症状や認知機能に影響を及ぼしている可能性を示唆していると考えられる。

これまで精神疾患の診断は、客観的な検査所見によらない症候学に基づいて行われ、精神疾患の病態解明研究も症候学で区分された疾患毎に行われてきた。しかしながら、従来の Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (DSM)などの診断基準を用いた医師の診断一致率が低いことや、診断の異なる精神疾患でも、共通する精神症状や併存症を認めたり、1つの疾患で同定された感受性候補遺伝子が他の精神疾患でも該当したりすることがあり、現在の診断区分での病態解明には限界があった。

本研究では、統合失調症、統合失調感情障害、双極性障害、うつ病の患者で、疾患横断的に血漿のグルタミン酸濃度を測定し、その病的意義を、疾患特異性や重症度や症状との関連や認知機能との関連を調べて明らかにする。また、グルタミン酸を含むタンパク質構成アミノ酸は 位に不斉炭素有し、お互いに光学異性体となるL体とD体が存在しているが、既報の研究報告はL体とD体の総和グルタミン酸の検討がほとんどで、L体グルタミン酸(L-グルタミン酸)と精神疾患の関連も明らかになっていない。そこで、本研究では L-グルタミン酸について検討する。本研究は、従来の診断カテゴリーにとらわれない、新規の精神疾患の病態解明の糸口となる可能性が大いに期待される。

2. 研究の目的

本研究では複数の精神疾患患者の血漿サンプルを用いて、L-グルタミン酸濃度を測定し、従来の疾患概念の枠を超えてその意義を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)対象者と試料採取

精神疾患のない21名の健常対象者から、早朝空腹時、朝食後、昼食後の3回、末梢静脈血を採取した。また徳島大学病院の関連医療機関を受診した DSM- の診断基準でうつ病と診断された患者17名から薬物治療開始前と治療後の2回、早朝空腹時に末梢静脈血を採取した。徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会で承認されたプロトコールに基づき、すべての対象者から文書によるインフォームドコンセントを得た。

(2)サンプル処理とL-グルタミン酸測定

健常対象者サンプル、それぞれについて①採血直後(30分以内)、②採血後120分冷蔵保存した後、③採血後120分常温で放置後の3パターンの経過時間を経て、血漿成分の分離処理を行い、各サンプルについて3回または8回、冷凍-解凍を繰り返した後、L-グルタミン酸値を測定した。

うつ病患者サンプルは採血直後(30分以内)に血漿成分の分離処理を行った。

L-グルタミン酸の測定は酵素による酸化反応を利用し、自動分析装置を用いて実施した。

(3)統計解析

健常対象者サンプルに関して、各採血タイミング、および処理までの時間毎のグルタミン酸濃度について、Kruskal-Wallis検定を用いて比較した。また、冷凍-解凍回数によるグルタミン酸濃度の違いについて、Wilcoxon符号付順位和検定を用いて比較した。

うつ病患者における治療前、治療後と同条件(早朝空腹時採血,採血直後分離処理)でサンプル採取、処理をした健常対象者の3群間でKruskal-Wallis検定を用いてL-グルタミン酸濃度を比較した。

統計解析は EZ-R ver1.33 を用いて実施し、有意水準は $p < 0.05$ とした。

4. 研究成果

(1) 血漿中 L-グルタミン酸濃度について、採血時間および解凍回数の違いによる有意な影響は認めなかった。一方、サンプル採取から遠心までの時間・温度の検討では、120分常温放置して遠心処理した群が、他の群に比べ、有意に血漿中 L-グルタミン酸濃度が高値であり、サンプル処理までの時間・保存温度が血漿中 L-グルタミン酸濃度に有意な影響を及ぼすことが明らかとなった。(図1)

(2) 健常対象者、未治療うつ病、治療後うつ病の3群間で血漿中 L-グルタミン酸濃度を比較すると、健常対象者群に比べ未治療うつ病群では血漿中グルタミン酸濃度が有意に高く、患者群では抗うつ薬で治療後に血漿中グルタミン酸濃度が低下している傾向が見られた(図2)。この結果は、研究代表者がこれまで報告した Capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry (CE-TOFMS)を用いたメタボローム解析の結果と一致した (Umehara et al. 2017, Inoshita et al. 2018)。

本研究において得られた血漿中の L-グルタミン酸濃度が測定条件による影響を受けるという知見は、今後の L-グルタミン酸に関する研究の方法論に大きな示唆を与えるものであると思われる。また、既報のグルタミン酸に注目した研究は、グルタミン酸の光学異性体の L 体と D 体を区別しない総和量で検討されてきたが、今回、我々が見出した L-グルタミン酸単独の濃度とうつ病との関連は新規の知見として、うつ病の病態解明に大きく寄与するものであると考えられる。

新型コロナウイルス感染症の影響で患者のリクルートや認知機能検査の施行が困難となり、うつ病以外の精神疾患での検討やグルタミン酸濃度と認知機能との関連検討を行うことができなかった。

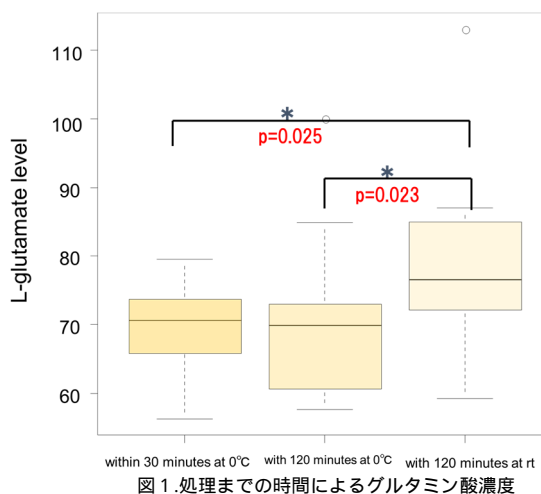


図1. 処理までの時間によるグルタミン酸濃度

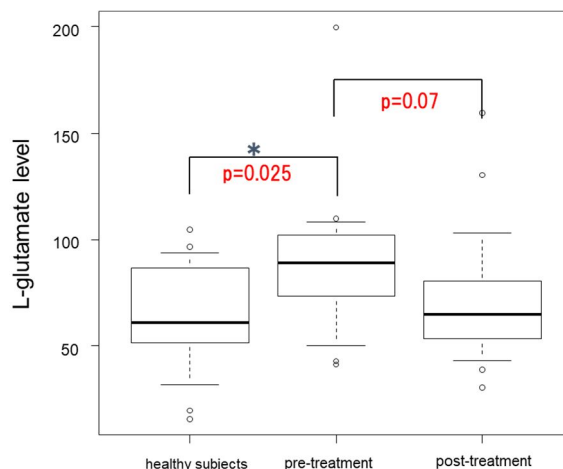


図2 治療前後のうつ病患者と健常対象者におけるグルタミン酸濃度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shin-ya Watanabe
2. 発表標題 Effects of processing conditions on plasma L-glutamate levels in non-psychiatric healthy subjects
3. 学会等名 AsCNP2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------