

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591261

研究課題名（和文） 自殺行動に関連したメタボロミクスによるバイオマーカーの検索

 研究課題名（英文） search for biomarker related to suicidal behavior
by metabolome analysis

研究代表者

笹田 徹 (SASADA TORU)

神戸大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：70457084

研究成果の概要（和文）：

「うつ状態」における自殺企図は、異種性が大きいことが予想されるため、まずは統合失調症群に疾患群を絞った。自殺企図群と非自殺企図群の間で、衝動性に関連するとされる血清総コレステロール値に有意差はみられず、また PANSS の陽性症状、陰性症状、思考解体、敵意・興奮、不安・抑うつ項目についても、自殺行動に特徴的な精神症状は指摘できなかったが、自殺企図群内においては、男性は女性に比して血清総コレステロール値は低く、精神症状の得点は概して高い傾向にあった。自殺企図患者に高感度のメタボローム解析を適応した、自殺企図患者の血液サンプルの解析を行い、マルチバイオマーカー探索を継続し、精神疾患患者の自殺リスクの早期拾い上げ、自殺再企図予防の可能性についても検討を継続する予定である。

研究成果の概要（英文）：

Since it was expected that heterogeneity in "depressed state" was large, first of all, we focused on the schizophrenia group. Several literatures reported there was an association between low cholesterolemia and impulsivity. In our study, between suicide and non-suicide attempt group, a significant difference was not seen by the serum total cholesterol level and positive symptoms (conceptual disorganization, hostility and excitement), negative symptoms, and anxiety and depression of PANSS. On the other hand, in the suicide attempt group, the male's serum total cholesterol level was low as compared with the woman, and the psychiatric manifestation suited the high tendency generally. We are going to continue the analysis to multi-biomarker search by means of metabolome analysis and examine about the possibility of early picking up of suicide risk, and suicide re-plan prevention in psychiatric disorder patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬額

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

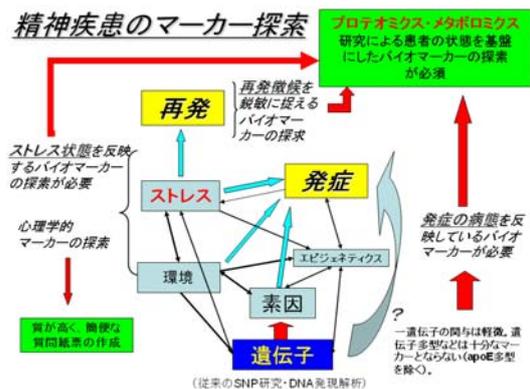
キーワード：臨床精神分子遺伝学

1. 研究開始当初の背景

本邦では平成 10 年度以降 11 年連続で年間の自殺者が 3 万人（平成 20 年度 32,249 人、警視庁）を超え、平成 21 年度も従来よりも速いペースで自殺者が増加していると報告されている。自殺のリスクは 65 歳以上の高齢者層や 50 代の働き盛りの中年男性層で多く、今後のさらなる高齢化を迎えるにあたり、深刻な問題であり続けることが予想される。自殺のもたらす影響は個人にとどまらず、家族や社会が受ける有形無形の損失は大きく、自殺予防は急務の課題となっている。わが国においては、こうした背景から 2006 年 6 月に「自殺対策基本法」が成立し、2007 年 7 月に「自殺総合対策大綱」が閣議決定し、国家をあげた対策が今まさに講じられようとしている。自殺に対する取り組みは様々な方面からなされているが、自殺者の約 9 割になんらかの精神医学的問題があるといわれており、精神医学的介入が大きな効果をもたらすものと考えられる。自殺は心理社会的要因を含んだ複雑な行動形式の障害と考えられるが、自殺にいたる脆弱性には生物学的基盤が存在しているとされ、遺伝的要因が関与していることが、家族研究、双生児研究等から示されている。疾患で見た場合、自殺はうつ病との関連が強く示唆されている。うつ病は選択的セロトニン阻害剤 (SSRI) の開発に代表される治療法の進歩により、短期的には病状の改善が見込まれるようになり、また精神科受診への関も低くなった。しかしながら、自殺者数は減少していないという事実がある。これは自殺者が精神科などの専門機関に受診せず（自殺者の 10% 程度しか精神科医の診察を受けていないという報告がある）、むしろ身体症状などを訴えて内科などプライマリケア医の診察を受けていることが一因である。プライマリケア医であっても自殺リスクを簡便に推し量ることができるバイオマーカーの開発が急務であり、そのためには自殺の生物学的基盤を明らかにする必要がある。神戸大学精神医学分野において共同研究者である菱本明豊らは、法医学分野、兵庫県監察医務室と共同で現在まで、300 例近い自殺企図者の血液サンプルおよび 20 例近い死後脳サンプルを得て、主に分子遺伝学的手法（ケース・コントロールスタディーやマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析）を用いて自殺行動に関わる原因遺伝子の探索を行ってきた。過去に生体のストレス応答に関するレニン-アンジオテンシン系を制御しているアンジオテンシン転換酵素 (ACE) の機能的 insertion/deletion 多型と自殺で有意な関連を見出した (Hishimoto et al, 2006)。

また H P A 系を視床下部レベルでネガティブに間接的に制御している脳内エンドルフィン受容体であるオピオイド受容体のアミノ酸置換を伴う機能多型と自殺との関連を見出した (Hishimoto et al, 2008)。現在はストレス応答に係る H P A 系（視床下部-下垂体-副腎皮質系）を制御する遺伝子に着目した自殺との相関関連研究を進行中である（ストレス応答を制御する H P A 系に着目した自殺関連遺伝子の同定、若手研究 (B) (H21~H22)）。こうしたサンプルを備える研究室は本邦のみならず世界的にも稀であり、自殺者における生物学的変化に対し、直接アプローチすることが可能である。しかし自殺行動における遺伝的関与は恐らくそれほど強くなく、また死後脳における遺伝子発現変化も臨床場面においては患者の自殺リスクを類推することが出来ない。おそらく自殺行動を起こす状態にある患者はある特定のストレス過剰状態が存在すると想像ができる。そのストレス過剰状態を血液サンプルから類型化しバイオマーカーとして確立すること出来れば、どんな疾患（うつ病、統合失調症、アルコール依存症など）であれ自殺行動を予測し予防することができるのではないかと考えた (図)。

バイオマーカーの検出方法としては、現在 mRNA を対象とする DNA アレイ解析、蛋白質を対象とする ELISA・質量分析等が用いられている。しかし、下図に示すとおり mRNA の総体であるトランスクリプトームや、蛋白質の



総体であるプロテオームは、あくまでもゲノム情報から表現型実行への「媒体の流れ」にすぎず、生体としての表現型を正確には反映していない。

これらに対し、代謝産物の総体であるメタボロームはゲノム情報の実行の結果であり、生体の「精密な表現型の一部」である。自殺行動に至る過剰ストレス状態においては、ストレスホルモンであるコルチゾール、神経ペ

プチド、サイトカイン、炎症、酸化ストレス、タンパク分解酵素活などの亢進の結果、特異的な代謝産物（メタボローム）が産生され、血中に放出されていると予想される。そこで、本研究では、そのような特異的な代謝産物（メタボローム）の変化を複数組み合わせたマルチバイオマーカーという概念を提唱し、マルチバイオマーカーが自殺行動を引き起こす過剰ストレス状態の新しいバイオマーカーとなるのではないかと考え、その検索を行い、この概念の正当性を検証することを目的としている。

多種多様な代謝産物が含まれるメタボローム解析には高感度の質量分析計が必須であるが、幸い、神戸大学医学研究科では平成20年4月に、メタボローム解析に主眼をおいた質量分析総合センターが開設され、高感度の質量分析計が島津製作所と共同で運用されている。本研究では、この高感度の質量分析計を活用して、自殺企図患者の血液サンプルのメタボローム解析を行い、自殺行動を惹起する過剰ストレス状態の新しいバイオマーカーとなるマルチバイオマーカーを探索する。

2. 研究の目的

本邦では自殺者が年間3万人以上であり、個人、家族、会社、社会にもたらす有形・無形の深刻な影響・損失は大変大きい。自殺には90%以上で精神医学的問題が存在するといわれているが、その精神医学的評価を生前に適切に測るバイオマーカーは存在せず、その開発は急務とされている。当大学質量分析総合センターにおいて島津製作所と共同で運用する高感度質量分析器装置を用いて、致死的な自殺企図を企て、救命しえた患者を対象に主に血液サンプルを採取し、健常者と比較することで自殺行動に影響した生物学的バイオマーカーの検出を試みる。同時に心理学的サポートを行い、その自殺予防プログラムも作成する。

3. 研究の方法

本研究計画の端緒は、自殺行動を起こす状態にある患者は、ある特定のストレス過剰状態が存在すると想定し、そのストレス過剰状態を血液サンプルから類型化しバイオマーカーとして確立することができれば、疾患を問わず自殺行動を予測し予防できるのではないかと考えた点にある。自殺のメタボローム解析は、検討の価値は高いと考えるが、「うつ状

態」における自殺企図においては、heterogeneityが大きいことが予想されるため、まずは統合失調症群に疾患群を絞って解析を開始することを計画した。先行研究として、血清脂質(低コレステロール血症)と攻撃性・自殺行動増加の関連が指摘されており、予備的研究として統合失調症患者の治療薬(抗精神病薬)の違いによる脂質プロファイルの変化の有無についても比較検討を行なうことを計画した。

研究対象は、神戸大学医学部附属病院に入院ないしは通院中の統合失調症患者で、過去に精神科に自殺企図にてコンサルトのあった患者および精神科通院中に自殺企図のあった患者を対象に、文書にて同意を得た後、自殺企図を行なった統合失調症患者、対照として自殺企図歴のない統合失調症患者の早朝空腹時の血清脂質を含む一般生化学検査、試料中に含まれる代謝産物(メタボローム)の定量的かつ網羅的な解析を目的に行血液サンプルの収集を行なった。同時に面接を行い、精神科疾患の既往、併存の有無および精神状態の症候学的把握を行い、精神科的診断を行う。神戸大学大学院医学研究科には平成20年4月より、メタボローム解析に主眼を置いた質量分析総合センターが設立されている。我々はすでに臨床研究「精神疾患のバイオマーカー探索」に関し、学内の医学倫理委員会での承認を得て、本申請内容を直ちに実行できる環境にある。

4. 研究成果

われわれは、研究期間中に神戸大学医学部附属病院精神神経科に通院および入院中の統合失調症患者81名(非自殺群65名、自殺企図群16名)の同意と協力を得て、患者情報、血液検体の採取を実施した。このうち、臨床背景および精神状態の客観的把握を、精神機能評価尺度である陰性・陽性症状評価尺度(PANSS)、統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版(BACS-J)による精神状態、認知機能の評価)を行ない得た、生命的危険性の高い企図手段をもちいた自殺企図を行なった統合失調症患者(11例、男性5名、女性6名)、対照として自殺企図歴のない統合失調症患者(54例、男性28名、女性26名)について、方法において言及した血清脂質(低コレステロール血症)と攻撃性・自殺行動増加の関連先行研究を踏まえ、統合失調症患者の脂質(総コレステロール値)の解析を行なった。なお、11名の自殺企図患者の自殺手段の内訳としては、縊頸3名、高所よりの飛び降り2名、刺傷2名、電車飛び込み1名、入水1名、焼身1名であり、いずれも生命的危険性の高い企図手段である。

(表) 自殺企図及び非自殺企図群の臨床背景

患者背景および、現在我々が調査し得た結果を表に示したが、統合失調症患者において、自殺企図群と非自殺企図群の間で、血清総コレステロール値は、 197.5 ± 28.3 mg/dl (自殺企図群)、 187.8 ± 36.9 mg/dl (非自殺企図群)との間に有意差はみられず、またPANSSの陽性

	自殺企図	非自殺企図
総数 (男:女)	11 (5 : 6)	54 (28 : 26)
年齢 (歳)	38.0 ± 12.0	37.9 ± 13.0
PANSS 陽性尺度(P)	23.0 ± 8.7	20.9 ± 6.1
思考解体(P2)	3.3 ± 1.6	3.4 ± 1.3
興奮(P4)	2.9 ± 1.5	2.6 ± 1.1
敵意(P7)	2.2 ± 0.8	2.4 ± 1.0
PANSS 陰性尺度(N)	21.7 ± 12.3	21.3 ± 7.5
不安(G2)	3.9 ± 1.3	3.1 ± 1.14
抑うつ(G6)	2.5 ± 0.8	2.2 ± 0.8
総コレステロール (mg/dl)	197.5 ± 28.3	187.8 ± 36.9
CP 換算(mg/day)	1060.6 ± 739.3	891.5 ± 777.1

症状、陰性症状、思考解体、敵意・興奮、不安・抑うつの項目についても、自殺企図群と非自殺企図群間に自殺行動に関連すると思われる特徴的な精神症状は指摘できなかった。対象患者数は少ないが自殺企図群内においては、血清総コレステロール値は、男性 175.6 ± 15.4 mg/dl、女性 215.8 ± 21.9 mg/dlと、男性は女性に比して低値の結果であった。一方で自殺企図群内においては、PANSS陽性尺度のうち、思考解体(P2)、興奮(P4)、敵意(P7)、および陰性尺度(N)、不安(G2)において男性は女性に比して得点は高い傾向にあった(P2; 男性:女性 $4.6 \pm 1.1 : 2.2 \pm 0.9$, P4; 男性:女性 $4.2 \pm 0.8 : 1.7 \pm 0.8$, P7; 男性:女性 $2.8 \pm 0.4 : 1.7 \pm 0.5$, G2; 男性:女性 $4.8 \pm 1.1 : 3.2 \pm 0.9$)。抑うつ(G6)については男女間で差はなかった。今回は統合失調症患者を対象としたが、対象患者に実施したPANSSおよびBACS-Jを用いた統合失調症の精神症状・認知機能評価と自殺行動との関連についても検討を加え、現在着手している自殺企図患者に高感度のメタボローム解析を適応した、自殺企図患者の

血液サンプルの解析を行い、自殺行動を惹起する過剰ストレス状態の新しいバイオマーカーとなるマルチバイオマーカー探索への解析を継続し、精神疾患患者の自殺リスクの早期拾い上げ、自殺再企図予防の可能性について成果発表を予定する。また得られた知見をもとに、うつ病へ対象疾患を拡大していくことも予定する。

分子生物学的手法などにより自殺の脆弱性を規定する生物学的要因が存在することが明らかになりつつあり、研究代表者は研究分担者の菱本らと分子遺伝学的手法を用いた自殺の関連研究を発表して来たが、自殺のバイオマーカーになり得るような遺伝子レベルでの変異は依然として同定されておらず、今後もその努力は必須と考えられるが、もし仮にそのようなマーカーが見出されたとしても、多様な要因をもつ自殺の予知に対する特異性はそれほど高くはないかもしれない。自殺は社会経済的要因や心理学的機制が相互に絡まって作られる複合的で多様な要因と背景から成り立つ事象である。自殺予防においては、自殺の生物学的要因のみを過大評価することなく、必ずそのまわりに存在するさまざまな要因を十分に意識し、等価的に視野に入れておくべきである。

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4件)

1. Supriyanto I, Watanabe Y, Mouri K, Shiroya K, Ratta-Apha W, Yoshida M, Tamiya G, Sasada T, Eguchi N, Okazaki K, Shirakawa O, Someya T, Hishimoto A.

A missense mutation in the ITGA8 gene, a cell adhesion molecule gene, is associated with schizophrenia in Japanese female patients.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2013 Jan 10;40:347-52. doi:

10.1016/j.pnpbp.2012.11.002. Epub 2012 Nov 12. (査読あり)

2. Yoshida M, Shiroya K, Mouri K, Ishiguro H, Supriyanto I, Ratta-Apha W, Eguchi N, Okazaki S, Sasada T, Fukutake M, Hashimoto T, Inada T, Arinami T, Shirakawa O, Hishimoto A.

Haplotypes in the expression quantitative trait locus of interleukin-1 β gene are associated with schizophrenia.

Schizophr Res. 2012 Sep;140(1-3):185-91. doi: 10.1016/j.schres.2012.06.031. Epub 2012 Jul 16. (査読あり)

3. Cui H, Supriyanto I, Sasada T, Shirowa K, Fukutake M, Shirakawa O, Asano M, Ueno Y, Nagasaki Y, Hishimoto A.

Association study of EP1 gene polymorphisms with suicide completers in the Japanese population.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011 Jun 1;35(4):1108-11. doi:

10.1016/j.pnpbp.2011.03.010. Epub 2011 Apr 3. (査読あり)

4. Supriyanto I, Sasada T, Fukutake M, Asano M, Ueno Y, Nagasaki Y, Shirakawa O, Hishimoto A.

Association of FKBP5 gene haplotypes with completed suicide in the Japanese population.

Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2011 Jan 15;35(1):252-6. doi:

10.1016/j.pnpbp.2010.11.019. Epub 2010 Nov 26. (査読あり)

[学会発表] (計 3件)

1. 笹田 徹. 気分障害の併存を認めた発作性運動誘発性舞踏アテトーゼの2例.

第108回日本精神神経学会学術総会.

2012年05月25日, 札幌

2. 笹田 徹: SSRI/SNRI 投与直後に自殺行動/念慮が惹起された5症例の検討、第21回日本臨床精神神経薬理学会・第41回日本神経精神薬理学会合同年会. 2011年10月28日, 東京

3. Akitoyo Hishimoto, Toru Sasada : Polymorphisms in a potential promoter

region of the EP1 gene are associated with young suicide completers in the Japanese population. WFSBP Congress2011. Czechoslovakia, 2011.5

[図書] (計 1件)

福武将映, 菱本明豊, 白川治: 専門医のための精神科臨床リュミエール29.

自殺予防のための基本戦略(張賢徳編). 24-34 中山書店, 東京, 2011.

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/psyneu/newfolder1/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笹田 徹 (SASADA TORU)

神戸大学・大学院医学研究科精神医学分野・助教

研究者番号: 70457084

(2) 研究分担者

菱本 明豊 (HISHIMOTO AKITOYO)

神戸大学・大学院医学研究科精神医学分野・講師

研究者番号: 50529526