

令和元年6月9日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09826

研究課題名(和文)統合失調症の脳内グルタチオンと脳構造・血流への影響

研究課題名(英文)Brain glutathione, structure, and blood flow in patients with schizophrenia

研究代表者

吉原 雄二郎 (Yoshihara, Yujiro)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：00529464

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)：幻覚、妄想などの症状を呈する統合失調症の病態仮説として、抗酸化物質であるグルタチオンと興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の障害仮説がある。二つの物質のMRスペクトロスコピーによる過去の生体脳の研究結果は一貫していない。さらに、健常者の二つの物質の生体脳の日内変動は明らかではない。今回の研究では、健常者の一日6回の計測で、二つの物質とも日内の変動幅が小さくないことが明らかとなった。また、患者と健常者の時刻・食事などの一定条件下の群間比較では二つの物質共に差がなく、二つの障害仮説とは一致しなかった。今後は、異なる脳部位や健常個体差に及ぼす要因を高磁場で探索・考慮することで、さらなる検証を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症は、幻覚や妄想、社会的引きこもりなどの症状により社会的な損失は大きい。新規治療薬や病態解明が待たれている状況である。グルタチオンの前駆物質であるN-アセチルシステインも期待される薬であるが脳内グルタチオンの障害は明確でない。一方、グルタミン酸障害仮説も依然、脳内グルタミン酸のエビデンスが十分とは言えない状況である。今回の研究で脳内グルタチオンとグルタミン酸がある程度の範囲で日内変動が存在することが明らかになり、後部帯状回では二つの物質に患者と健常者では差がないことが判明した。今回の結果を基に、統合失調症の二つの物質のMRスペクトロスコピーによる次のステップの病態解明が可能となった。

研究成果の概要(英文)：There are two hypotheses of schizophrenia, that are glutamatergic dysfunction and impaired glutathione synthesis. Glutamate is an excitatory neurotransmitter, while glutathione is an antioxidant. Previous MR spectroscopy studies about brain glutamate and glutathione in vivo had inconsistent results. In addition, it is not clear whether glutathione and glutamate have daily fluctuations. The current MR spectroscopy study with healthy subjects measuring the two metabolites in the posterior cingulate 6 times a day showed larger fluctuation range than that of repeated scans. Next, our study comparing the two metabolites between patients with schizophrenia and healthy controls on the same time before breakfast showed no significant differences. This result of the comparative test did not support two hypotheses. We have the necessities of searching factors to affect variations of healthy individuals and testing two metabolites in brain different regions using high magnetic field.

研究分野：ニューロイメージング

キーワード：グルタチオン MRスペクトロスコピー 統合失調症 日内変動 グルタミン酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

統合失調症では、幻聴や妄想などの陽性症状と情動の平板化や意欲の欠如などの陰性症状、また、作業記憶などの認知機能障害が認められる (Rajji et al, 2009)。社会経済的に与える損失も大きく、その病態の解明や有効な治療法の開発が求められている。統合失調症の病態仮説の一つとして、レドックス (酸化還元) 調節障害がある (Do et al, 2009)。レドックス調節の中でも過酸化物質や活性酸素種を還元して消去するグルタチオン (GSH) は、統合失調症の患者の末梢血でその濃度が低下している (Yao et al 2011)。また、死後脳の尾状核でも GSH 濃度の低下が認められている (Yao et al, 2006)。現在、このレドックス調節障害仮説に基づいて、GSH の前駆体である N-acetyl-cysteine (NAC) の臨床試験が海外で実施されている。これまでに NAC による動物実験レベルでの治療効果と予防的介入、ヒト臨床レベルでの二重盲ランダム化試験による治療効果も報告されている。しかし、脳内の GSH の統合失調症患者と健常者の比較は、内側側頭葉などを関心領域として MR スペクトロスコピー (MRS) により実施されているが、結果は一貫せず、GSH のエビデンスは十分ではない。また、GSH と脳構造・脳血流との関係性は十分に、明らかになっていない。

2. 研究の目的

当初の計画と異なり、目的の変更を行った。末梢血の GSH の研究から日内変動 (Valencia et al, 2001)、動物脳内の GSH でも日内変動が指摘されている (Kinoshita et al, 2014)。しかし、健常者での生体脳 GSH の日内変動は不明である。また、統合失調症の病態仮説では、GSH 障害仮説とともに、グルタミン酸障害仮説もある。健常者の長時間絶食実験で脳内グルタミン酸が変化する報告が認められる。しかし、健常者のグルタミン酸 (Glu) の日内変動は不明である。今回の研究の第一の目的は、健常者での GSH と Glu を含む脳内代謝物質の日内変動を調べることであり、第二の目的は、同一時刻・朝食前の状態で、統合失調症患者と健常者との GSH・Glu を含む脳内代謝物質の違いを探索し、二つの障害仮説の検証をする。加えて、統合失調症患者と健常者における脳構造・安静時脳血流の違いも探索する。

3. 研究の方法

京都大学医学研究科脳機能総合研究センターの 3T Siemens TimTrio を使用して、下記の研究を実施した。

- (1) Phantom 実験：GSH 濃度を 0, 1, 1.75, 2.5, 5, 10mM、計 6 種類作成し、他の濃度一定のアスパラギン酸、クレアチン (Cr)、GABA、グルコース、グルタミン酸 (Glu)、myo-イノシトール、N-アセチル-L アスパラギン酸 (NAA)、GPC と合わせ脱気した Phantom を作成した。MEGA-PRESS と PRESS の両方で測定した。
 - (2) 健常者 8 人の日内変動 1 日 6 回、GSH・Glu を含む脳内代謝物質の測定実験：20 歳台の健常男性 2 人と女性 2 人、30 歳台の健常男性 2 人と女性 2 人に朝食前から夕食後まで 1 日 6 回 2.5 時間の間隔で測定した。被験者は、非喫煙者である。1 回目は、朝食前、2 回目は朝食後、3 回目は昼食前、4 回目は昼食後、5 回目は夕食前、6 回目は夕食後に撮像された。
 - (3) 健常者 10 人の連続 2 回の GSH・Glu を含む脳内代謝物質の再現性実験：日内変動 6 回測定時に、MRI 機から出入りを繰り返しているため、出入り 2 回の中での再現性を 20 歳~40 歳台までの非喫煙者の健常者男性 10 人で測定した。
 - (4) 統合失調症患者 17 人 (男性 9 名、女性 8 名) と健常者 17 人 (男性 9 名、女性 8 名) の GSH・Glu を含む脳内代謝物質の撮像実験：現在、非喫煙者の患者と健常者を対象として、朝食摂取前の午前の撮像条件が同じ時に、測定した。
- (2), (3), (4) については、GSH を MEGA-PRESS で GSH・Glu を含む脳内代謝物質を PRESS (TR/TE=3000/30msec, NEX=128, ROI=20x20x30) で後部帯状回を関心領域 ROI として測定した。PRESS で測定された脳内代謝物質は、MRS 解析ソフトである LCModel を用いて解析し、MRS スキャンと同時に撮像した T1 強調画像の脳構造画像から算出した脳脊髄液の割合で補正し、Cr+ホスホクレアチニン PCr で比を取った。LCModel の結果は、Cramer-Rao Lower Bound (CRLB) が 20 以下を基準とした。
- MRS 撮像時には、B0 (静磁場) の最適化、B1 (Radio-Frequency 磁場) の最適化、Amplitude (V) の最適化、flip angle の最適化などを実施した。PRESS のシークエンスはミネソタ大学が開発した single voxel 用 PRESS (TR 版) を使用した。
- (5) 統合失調症患者と健常者の脳構造・安静時脳血流を用いた解析

4. 研究成果

(1) Phantom 実験

図 1 のように Phantom をヘッドコイルの中に入れて、撮像した。図 2 は、PRESS から得られた代謝物質データのスペクトラム (LCModel 処理なし) である。濃度一定のアスパラギン酸、Cr、GABA、グルコース、Glu、myo-イノシトール、NAA、GPC のピークとは異なり、GSH の 0, 1, 1.75, 2.5, 5, 10mM の Phantom 中の濃度に沿って、2.2ppm、2.5ppm、2.9ppm と 3.7-3.8ppm の範囲にピークの確認が可能となった。



図 1

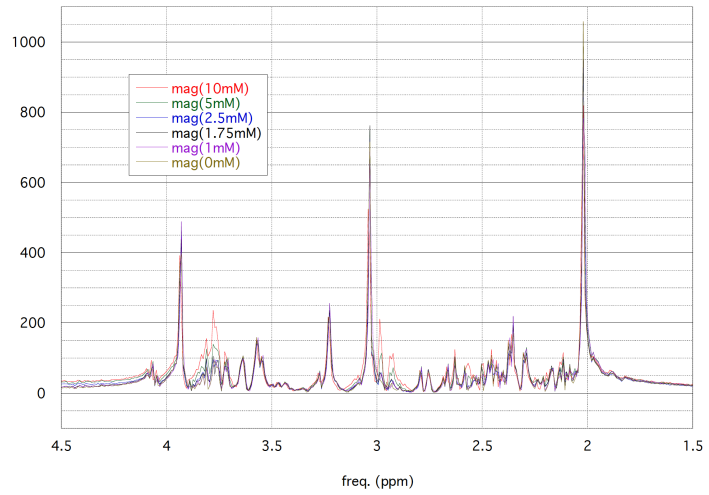


図 2

(2) 健常者 8 人の日内変動 1 日 6 回、GSH・Glu を含む脳内代謝物質の測定実験
 図 3 のように、8 名中 5 名で GSH は、朝晩に低く、日中は約 7%~19% 増加する傾向が見られた。グルタミン酸 Glu についても朝食後、夕食後に上昇する傾向が認められた。1 名は、6 回目が体動によりデータが得られなかった。CRLB が 20 を超えたのは、1 名の 1 回目の GSH の値のみであった。グルタミン (Gln) は変動係数が他と比較すると大きかった。表 1 の変動係数は、表 2 と比較すると、いずれの脳内代謝物質の変動係数は大きい。

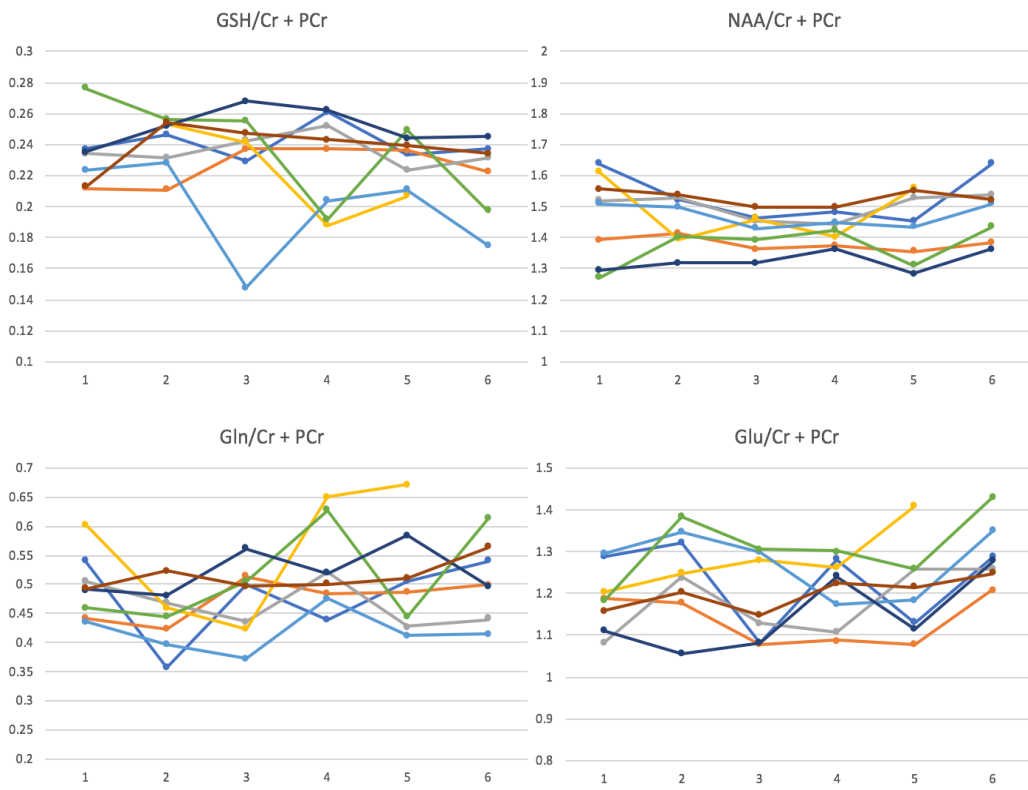


図 3

代謝物質 /Cr + PCr	平均変動係数 %	平均 CRLB %
GSH	8.63	9.0
NAA	3.48	2.0
Gln	11.1	11.3
Glu	6.32	4.9

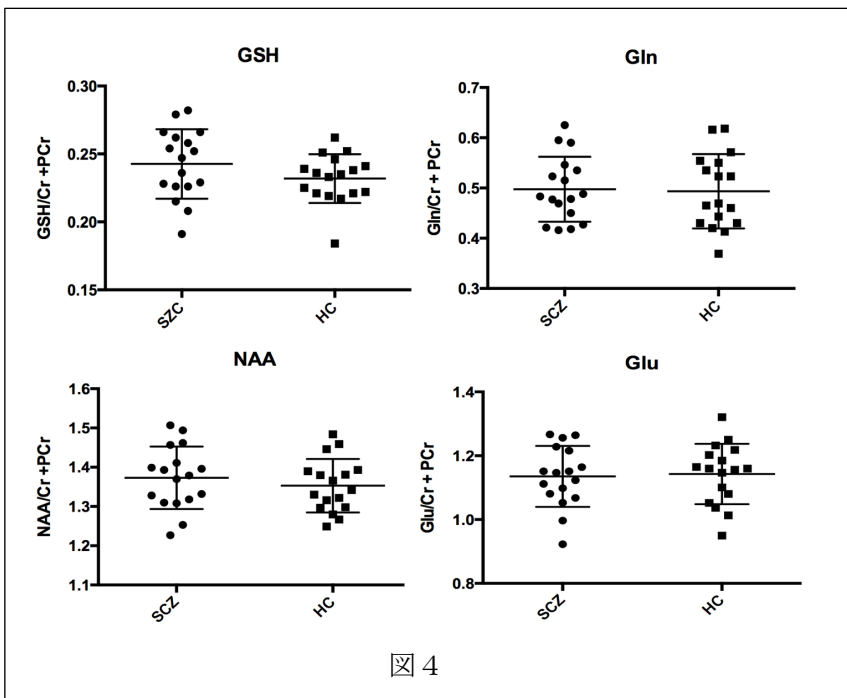
表 1

(3) 健常者 10 人の連続 2 回の GSH・Glu を含む脳内代謝物質の再現性実験
 図 5 に示すように MRI 機の出し入れ連続 2 回では、GSH や Glu の 1 回目、2 回目で大きな変動は認められなかった。再現性を表す変動係数は、GSH では、10 名中 1 名で 7% の差異が出たものの、他の 9 名に関しては 3% 以下であった。

代謝物質 /Cr + PCr	1回目平均 (SD)	2回目平均 (SD)	平均変動係数 %	1回目平均 CRLB %	2回目平均 CRLB %	級内相関係数
GSH	0.24 (0.01)	0.25 (0.02)	2.14	8.0	8.0	0.65
NAA	1.36 (0.08)	1.36 (0.08)	1.40	2.0	2.0	0.86
Cr	0.44 (0.03)	0.45 (0.05)	3.97	8.3	7.7	0.23
PCr	0.57 (0.03)	0.55 (0.05)	3.32	7.0	7.1	0.23
Gln	0.47 (0.05)	0.50 (0.06)	4.72	11.0	11.0	0.40
Glu	1.20 (0.06)	1.17 (0.05)	1.73	5.0	5.0	0.62

表 2

(4) 統合失調症患者 17 人と健常者 17 人の GSH・Glu を含む脳内代謝物質の撮像実験
 統合失調症群と健常者群の年齢の平均と標準偏差は、それぞれ 40.7±10.2 歳、40.6±10.6 歳と群間差は認められなかった。脳内代謝物質の GSH、NAA、Gln、Glu については、図 4 のように 2 群間で差が認められなかった。結果として、統合失調症患者の後部帯状回の GSH と Glu は、それぞれレドックス調節障害仮説、グルタミン酸障害仮説を支持するものではなかった。



(5) 統合失調症患者と健常者の脳構造・安静時脳血流を用いた解析
得られた結果から、今後、GSH・Glu濃度との関連性を探索する予定である。

GSHについては、MEGA-PRESSを撮像しており、現在解析中である。PRESSの結果と合わせて、データの再現性・信頼性・統合失調症と健常者との違いを計算していく予定である。結果は英文雑誌に投稿予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計8件)

- ① Yujiro Yoshihara, Giuseppe Lisi, Noriaki Yahata, Junya Fujino, Yukiko Matsumoto, Jun Miyata, Genichi Sugihara, Shin-ichi Urayama, Manabu Kubota, Masahiro Yamashita, Ryuichiro Hashimoto, Naho Ichikawa, Weipke Cahn, Neeltje E. M. van Haren, Susumu Mori, Yasumasa Okamoto, Kiyoto Kasai, Nobumasa Kato, Hiroshi Imamizu, René S. Kahn, Akira Sawa, Mitsuo Kawato, Toshiya Murai, Jun Morimoto, & Hidehiko Takahashi. Overlapping but asymmetrical relationships between schizophrenia and autism revealed by brain connectivity. *BioRxiv*. 2018. doi.org/10.1101/403212.
- ② Ayumu Yamashita Noriaki Yahata, Takashi Itahashi, Giuseppe Lisi, Takashi Yamada, Naho Ichikawa, Masahiro Takamura, Yujiro Yoshihara, Akira Kunitatsu, Naohiro Okada, Hirotsuka Yamagata, Koji Matsuo, Ryuichiro Hashimoto, Go Okada, Yuki Sakai, Jun Morimoto, Jin Narumoto, Yasuhiro Shimada, Kiyoto Kasai, Nobumasa Kato, Hidehiko Takahashi, Yasumasa Okamoto, Saori C. Tanaka, Mitsuo Kawato, Okito Yamashita, Hiroshi Imamizu. Harmonization of resting-state functional MRI data across multiple imaging sites via the separation of site differences into sampling bias and measurement bias. *PLoS Biology*. 2019 April 18; 17 (4): e3000042. doi: 10.1371/journal.pbio.3000042
- ③ Masahiro Yamashita, Yujiro Yoshihara, Ryuichiro Hashimoto, Noriaki Yahata, Naho Ichikawa, Yuki Sakai, Takashi Yamada, Noriko Matsukawa, Go Okada, Saori C Tanaka, Kiyoto Kasai, Nobumasa Kato, Yasumasa Okamoto, Ben Seymour, Hidehiko Takahashi, Mitsuo Kawato, Hiroshi Imamizu. A prediction model of working memory across health and psychiatric disease using whole-brain functional connectivity. *eLIFE*. 2018 December 10;7. doi: 10.7554/eLife.38844.
- ④ Keima Tose, Yujiro Yoshihara, Hidehiko Takahashi. fMRI neurofeedback and its application to psychiatric disorders. *Brain Nerve*. 2018 Nov;70(11):1209-1216. doi: 10.11477/mf.1416201166. Japanese.
- ⑤ Yasuo Mori, Jun Miyata, Masanori Isobe, Shuraku Son, Yujiro Yoshihara, Toshihiko Aso, Takanori Kouchiyama, Toshiya Murai, Hidehiko Takahashi. Effect of phase-encoding direction on group analysis of resting-state functional magnetic resonance imaging. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2018; 72: 683-691. doi: 10.1111/pcn.12677.
- ⑥ Naoto Yokoyama, Hitoshi Sasaki, Yasuo Mori, Miki Ono, Kousuke Tsurumi, Ryosaku Kawada, Yukiko Matsumoto, Yujiro Yoshihara, Genichi Sugihara, Jun Miyata, Toshiya Murai, Hidehiko Takahashi. Additive Effect of Cigarette Smoking on Gray Matter Abnormalities in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 2018 April 6; 44 (3): 535-541. doi: 10.1093/schbul/sbx092.
- ⑦ Takashi Yamada, Ryu-ichiro Hashimoto, Noriaki Yahata, Naho Ichikawa, Yujiro Yoshihara, Yasumasa Okamoto, Nobumasa Kato, Hidehiko Takahashi, Mitsuo Kawato. Resting-state functional connectivity-based biomarkers and functional MRI-based neurofeedback for psychiatric disorders: A challenge for developing theranostic biomarkers. *The international Journal of Neuropsychopharmacology*. 2017 October 1; 20 (10): 769-781. doi: 10.1093/ijnp/pyx059. Review.
- ⑧ Junya Fujino, Kimito Hirose, Shisei Tei, Ryosaku Kawada, Kosuke Tsurumi, Noriko Matsukawa, Jun Miyata, Genichi Sugihara, Yujiro Yoshihara, Takashi Ideno, Toshihiko Aso, Kazuhisa Takemura, Hidenao Fukuyama, Toshiya Murai, Hidehiko Takahashi. Ambiguity aversion in schizophrenia: An fMRI study of decision-making under risk and ambiguity. *Schizophrenia Research*. 2016 December;178(1-3):94-101. doi: 10.1016/j.schres.2016.09.006.

[学会発表] (計 件)

[図書] (計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：杉原玄一
ローマ字氏名：SUGIHARA Genichi
所属研究機関名：京都大学
部局名：医学研究科
職名：助教
研究者番号（8桁）：70402261

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：浦山慎一
ローマ字氏名：URAYAMA Shin-Ichi

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。