

令和 2 年 5 月 7 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10282

研究課題名(和文)統合失調症と診断されているニーマンピック病C型の調査及び非侵襲的鑑別法の検討

研究課題名(英文) Examination of the Findings Suggesting Niemann-Pick Disease Type C in Patients with Schizophrenia

研究代表者

藤井 久彌子 (Fujii, Kumiko)

滋賀医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70314151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症(SZ)と診断されている症例で、ジストニアなどの神経症状を呈した症例を対象に、ニーマンピック病C型(NPC)のバイオマーカーといわれる尿中胆汁酸、血清オキシステロールを測定したところ、1名が異常値であった。神経症状のないSZも含め、次世代シーケンサーを用いて、NPCの原因遺伝子のNPC1・NPC2遺伝子解析を行ったところ1名に、NPC1遺伝子のexonにアミノ酸置換を伴う未知の一塩基置換の変異を認めた。また、SZと健常対照群で、TaqMan法で末梢血NPC1・NPC2遺伝子のmRNA発現量を測定、beta-actinで半定量化し比較検討したところ、SZで有意に発現量が高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症患者の治療中にジストニアなどの不随意運動が出現した際には、抗精神病薬の副作用と判断することが多く、ニーマンピック病C型(NPC)を念頭において鑑別を行うことは少ないのが現状である。しかし、我々は統合失調症と診断されている症例の中に、細胞内にコレステロールが沈着している症例やNPCのバイオマーカーといわれる物質が異常値を示す症例、遺伝子変異を伴う症例がいること、mRNAの発現量が有意に統合失調症で高値であることも明らかとなった。それらの意味合いを明らかにするには更なる研究が必要であるが、統合失調症と診断されている症例の中にNPCの可能性を踏まえた視点での診療が重要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We measured the bile acid content in urine using liquid chromatography/mass spectrometry and serum oxysterol using quadrupole time-of-flight liquid chromatography/mass spectrometry in the patients with neurological symptoms. We analyzed NPC1 and NPC2 genes using Ion PGM in the patients with schizophrenia also without neurological symptoms. mRNA expression levels of NPC1 and NPC2 were measured and analyzed in patients with schizophrenia and healthy controls using TaqMan method and semi-quantitative assessment with beta-actin was performed. One patient had significantly high biological marker levels for NPC. In patients with schizophrenia, we found a new single nucleotide polymorphism (SNP) that induces amino acid substitution. mRNA expression levels of NPC1 and NPC2 in patients with schizophrenia were significantly higher than those in normal controls. Further investigations are required to reveal the significance of the new SNP and the differences in mRNA expression levels.

研究分野：精神医学

キーワード：統合失調症 ニーマンピック病C型

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ニーマンピック病 C 型が、統合失調症と診断された患者に存在する可能性

ニーマンピック病 C 型 (NPC) は、内臓及び神経系細胞内のライソゾームに脂質が蓄積する疾患で、新生児期に発症する急激に進行する致死的な病型から成人期に顕在化する慢性経過を示す病型まで幅広い臨床スペクトルがある。その症状は黄疸や胆汁うっ滞、垂直方向の核上性注視麻痺、不器用さ、失調、構音障害、嚥下困難などの他に、知的機能の低下、難治性の精神症状などがあり、内臓、神経および精神症状を示す。通常報告されている発症頻度は、12 万人に 1 人程度で人種差はないといわれている。しかし大野の報告によると、本邦においては、まだ診断されていない患者、すなわち潜在患者が約 5 倍存在するものと推定されている (大野耕策, 脳と発達, 2016)。NPC の臨床症状は非特異的で多様であることから、診断は困難なことが多く、特に成人型の NPC の診断は特に難しいといわれている。また、成人症例の場合、幻覚や妄想、難治性の精神症状以外に、ジストニアや失調歩行などの神経症状が出現することが多いといわれている。しかしながら、精神科実臨床の場面では、統合失調症で抗精神病薬による治療中、ジストニアなどの神経症状が出現した場合には、統合失調症の症状および投与されている抗精神病薬の副作用とみなされ、NPC という診断の可能性の検討には至らず、見逃されている例が少なからず存在すると予測された。申請者自身が 2016 年統合失調症と診断されていた患者で、細胞内にコレステロールが沈着している症例を経験した。こうした現状から精神科医療の現場には、NPC が診断されずに、「統合失調症」として治療されている NPC の症例が少なからず存在する可能性がある。

(2) 一般臨床上、診断困難なニーマンピック病 C 型のより簡便な鑑別方法に向けて

NPC の原因遺伝子として、1997 年に NPC1 遺伝子、2000 年に NPC2 遺伝子が報告され、病因と関連があるとされる複数の変異が報告されている。現時点で、NPC の確定診断は、骨髄塗抹標本・皮膚生検による培養皮膚線維芽細胞のフィリピン染色による細胞内コレステロール蓄積の検出、原因遺伝子 NPC1、NPC2 の変異解析によって行われている。しかし、それらの検査は侵襲的かつ専門的な技術が必要で、また、これらは保険適応ではないため、測定・解析にかかる経済的な問題も存在する。そのような中、NPC 患者で、血清中オキシステロール値の上昇 (Jiang X et al, J Lipid Res. 2011) や、オキシステロールが肝臓で抱合胆汁酸へと代謝された結果であると考えられる 3 β -sulfoxy-7 α -N-acetylglucosaminyl-5 α -cholen-24-oic acid などの胆汁酸の上昇が重要なマーカーとしていわれるようになるなど (Maekawa M et al, Steroid. 2013) 診断方法は進歩しつつあり、本研究で統合失調症において、こうした診断方法の確実性を評価してゆく。

(3) ニーマンピック病 C 型と診断することの重要性

これまで NPC に対する根本的な治療法はなかったが、2012 年初めて治療薬が承認された。Miglustat はグルコシルセラミド合成酵素阻害薬であり、ガングリオシドの生合成を抑制することで神経細胞内のガングリオシドの蓄積量を減少させ、NPC の症状進行を遅らせることができると考えられている (北谷照雄, 日本薬理学誌. 2013)。NPC に罹患した患者がこうした治療法の恩恵に浴することができるよう、NPC の存在を疑い更に確定診断することができるようになることは重要である。しかしながら、現実的には NPC の診断は難しく、もっとも信頼性の高い皮膚線維芽細胞のフィリピン染色でさえ、10%程度陰性といわれており、現時点で病因遺伝子として同定されているのは、NPC1 と NPC2 であるが、原因となる遺伝子も NPC1 や NPC2 に限られているわけではないことが想定されている。そのため複数のマーカーの測定も含めて、様々な結果を合わせて総合的に判断する必要がある。現状の複雑な手法から、簡便かつ安価な方法の開発が望まれる。また、冒頭に記載した有病率の観点と成人型の NPC の症状と経過から考慮すると、一般精神科臨床の中に、NPC の患者が存在している可能性が十分に考えられる。統合失調症の診断は、現時点では問診による詳細な臨床情報からある程度「操作的」に診断するしかない。このため長年、統合失調症の異種性を唱える意見もある。本研究によって、これまで「操作的」に統合失調症と診断されていた患者の中に NPC 患者が含まれることを示すことができれば、精神科分野における診断方法の進歩となり、統合失調症に対する新しい観点が形成されてゆくことが期待される。

2. 研究の目的

本研究では、通常であれば、抗精神病薬の副作用として出現したと判断されるジストニアなどの不随意運動や失調などの神経症状が生じている統合失調症患者を対象に、NPC の症状である可能性について検討する。一般精神科臨床において、ジストニアなどの明らかな神経症状を呈する症例は少なからず存在しているのが現状である。その症例に対して、血清オキシステロール、尿中胆汁酸を測定し、NPC に罹患している可能性についてのスクリーニングをおこなう。また、現時点で明らかな神経症状をもたない場合でも、神経症状の前に精神症状のみが出現している可能性を考慮して、神経症状のない統合失調症を含めて、NPC 発症の原因となることが知られ

ている NPC1 および NPC2 遺伝子について、遺伝子解析をおこなう。また、末梢血での mRNA 発現量について、統合失調症と健常対照群と比較して検討する。8 番染色体上にある NPC1 遺伝子、14 番染色体上にある NPC2 遺伝子について、次世代シーケンサー Ion PGM を用いて遺伝子解析をおこなう。その結果、今まで報告のない遺伝子変異が見つかった場合には、その遺伝子変異の病因への関与について、さらなる検討へとつなげる。

3. 研究の方法

(1) 対象症例からの臨床データの収集

統合失調症患者を対象に、強度で進行性の不随意運動や失調などの神経症状を認める症例を抽出する。その際には、異常不随意運動評価尺度 (Abnormal Involuntary Movement Score:AIMS)、薬剤性錐体外路症状評価尺度 (Drug Induced Extra-Pyramidal Symptoms Scale:DIEPSS) で神経症状について評価を行う。陽性・陰性症状評価尺度 (Positive and Negative Syndrome Scale: PANSS)、簡易精神症状評価スケール (Brief Psychiatric rating scale:BPRS) で症状評価を行う。同時にその対象患者の臨床症状 (年齢、性別、服薬内容、薬剤反応性、罹病期間など) を収集し、症状評価と肝脾腫などの身体症状との評価を合わせて行う。

(2) 末梢血採血・採尿を行い、末梢血・尿中での NPC 関連のマーカーの測定

Jiang らが 2016 年、オキシステロールの胆汁酸への代謝を証明し NPC に対して高いマーカー性能を有すると報告している、血清オキシステロールと尿中胆汁酸 (Jiang X et al. Sci Transl Med.2016) の測定を行う。具体的には、現時点で NPC のマーカーになりうるものとして指摘されている物質、すなわち血清中オキシステロールのうち、cholestane-3,5,6-triol (3,5,6-triol) とその関連物質、7-ketocholesterol(7-KS)、尿中胆汁酸のひとつである 3-sulfoxy-7-N-acetylglucosaminy-5-cholen-24-oic acid とその代謝物を、liquid chromatography-tandem mass spectrometry(LC-MS/MS)を用いて測定することを開始する。

(3) NPC1 遺伝子および NPC2 遺伝子の遺伝子解析

統合失調症を対象として、NPC1 遺伝子、NPC2 遺伝子の解析を行う。解析には次世代シーケンサーであるサーモフィッシャーサイエンス社の Ion PGM を用いる。神経症状を認めずに精神症状のみの NPC の可能性も考慮して、神経症状を認めない統合失調症も対象として遺伝子解析をおこなう。遺伝子変異を認めた場合、その遺伝子変異が既知のものであれば、病因としての関与が確実となるが、遺伝子変異が未知のもであったり頻度が非常に低ければ、その遺伝子変異の意味合いの検討が必要となり、将来の機能解析研究に繋げる。また、過去の報告では、non-coding region では splice variant が生じることがあるため (Macías-Vidal J et al, Clin Genit 2011) 対象症例の末梢採血から得た mRNA を用いて NPC1 遺伝子および NPC2 遺伝子の mRNA の発現量や長さを調べる。

4. 研究成果

NPC への罹患の可能性を評価する NPC Suspicion Index の項目で注目すべき神経症状 (垂直方向の核上性注視麻痺、ジストニア、失調) を伴う統合失調症患者 6 名に対して NPC のバイオマーカーと考えられている尿中胆汁酸を LC/MS/MS にて、血清オキシステロールを Q-TOF LC/MS にて測定を行った。124 名の統合失調症を対象に、次世代シーケンサー IonPGM で NPC1 および NPC2 遺伝子解析を行った。また 65 名統合失調症、40 名健常対照群を比較対照群として、TaqMan 法で末梢血 NPC1 および NPC2 遺伝子の mRNA 発現量を測定、beta-actin で半定量化し比較検討した。

現時点でバイオマーカーと考えられる生体内物質の異常値を示した症例が 1 名存在した。また、別の統合失調症症例 1 名で NPC1 遺伝子の exon にアミノ酸置換を伴う未知の一塩基置換の変異を認めた。末梢血 mRNA 測定では、統合失調症で有意に健常対照群より発現量が高かった。自験例として、統合失調症と診断されていたが、重度なジストニアを伴う症例で、NPC のバイオマーカーといわれている生体内物質も正常で、NPC 1 遺伝子及び NPC2 遺伝子にも遺伝子変異を認めなかったものの、細胞内にコレステロールの沈着を認めた症例が存在した。また別の、同様に重度のジストニアを含む神経症状を認める症例で NPC のバイオマーカーが測定限界以下という明らかに低値であった症例もあり、バイオマーカーの観点から考察した場合に、病因に関連する可能性のある代謝経路の問題が疑われる症例も存在した。

今回の得られた結果としては、統合失調症という表現型であるものの、NPC として疑わしい症例が存在し、それを発見することができた。生物学的な基盤の解明や、自験例のような症例については、その成因についてさらに検討する必要がある、今後も症例を増やして検討を続ける予定である。本研究から、精神科臨床場面において現時点では統合失調症と診断される症例の中に、NPC といった症例が存在する可能性を考慮し、鑑別疾患としての認識をもつことが重要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Fujii K, Okayasu H, Shinozaki T, Shimoda K, Ozeki Y | 4. 巻 74 |
| 2. 論文標題 Slower titration of lamotrigine reduces the risk of rash | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Psychiatry Clin Neurosci | 6. 最初と最後の頁 282-283 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pcn.12987 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Fujii K, Maekawa M, Ozeki Y, Eto Y, Saito T, Shinozaki M, Arime Y, Nagashima T, Okayasu H, Ishii S, Shimoda K | 4. 巻 45 |
| 2. 論文標題 Examination of the findings suggesting Niemann-Pick disease type C in patients with schizophrenia | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Schizophrenia Bulletin | 6. 最初と最後の頁 S260-S261 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 0.1093/schbul/sbz018.429 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Maekawa M, Jinnoh I, Matsumoto Y, Narita A, Mashima R, Takahashi H, Iwahori A, Saigusa D, Fujii K, Abe A, Higaki K, Yamauchi S, Ozeki Y, Shimoda K, Tomioka Y, Okuyama T, Eto Y, Ohno K, T Clayton P, Yamaguchi H, Mano N | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Structural Determination of Lysosphingomyelin-509 and Discovery of Novel Class Lipids from Patients with Niemann-Pick Disease Type C | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Int J Mol Sci. | 6. 最初と最後の頁 E5018 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20205018. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Akiyama K, Saito A, Saito S, Ozeki Y, Watanabe T, Fujii K, Shimoda K. | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 Association of genetic variants at 22q11.2 chromosomal region with cognitive performance in Japanese patients with schizophrenia | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Schizophr Res Cogn | 6. 最初と最後の頁 100134 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.scog.2019.100134. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Okayasu H, Ozeki Y, Fujii K, Takano Y, Shinozaki T, Ohruji M, Shimoda K. | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Investigation of the Proarrhythmic Effects of Antidepressants according to QT Interval, QT Dispersion and T Wave Peak-to-End Interval in the Clinical Setting | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Psychiatry Investig | 6. 最初と最後の頁 159-166 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.30773/pi.2018.12.11. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Saito S, Fujii K, Ozeki Y, Ohmori K, Honda G, Mori H, Kato K, Kuroda J, Aoki A, Asahi H, Sato H, Shimoda K, Akiyama K. | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Cognitive function, treatment response to lithium, and social functioning in Japanese patients with bipolar disorder. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Bipolar Disord | 6. 最初と最後の頁 552-562 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bdi.12521. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

[学会発表] 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤井 久彌子、前川 正充、衛藤 義勝、尾関 祐二、齋藤 尚大、有銘 預世布、永島 隆秀、岡安 寛明、篠崎 隆央、竹内 祥貴、秋山 一文、下田 和孝 |
| 2. 発表標題 統合失調症がジストニアを呈した場合、必ず薬剤性なのか - 顕著なジストニアや小脳失調を呈する症例の検討 - |
| 3. 学会等名 第13回日本統合失調症学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kumiko Fujii, Masamitsu Maekawa, Yuji Ozeki, Yoshikatsu Eto, Takahiro Saito, Yosefu Arime, Hiroaki Okayasu, Takahiro Shinozaki, Kazufumi Akiyama, Kazutaka Shimoda |
| 2. 発表標題 Review of the findings which suggest Niemann-Pick disease type C in the patients with schizophrenia |
| 3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤井久彌子、前川正充、衛藤義勝、尾関祐二、齋藤尚大、有銘預世布、永島隆秀、岡安寛明、篠崎隆央、竹内祥貴、秋山一文、下田和孝 |
| 2. 発表標題 統合失調症がジストニアを呈した場合、必ず薬剤性なのか。 |
| 3. 学会等名 第13回日本統合失調症学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Fujii K, Maekawa M, Ozeki Y, Eto Y, Saito T, Shinozaki M, Arime Y, Nagashima T, Okayasu H, Ishii S, Shimoda K |
| 2. 発表標題 Examination of the findings suggesting Niemann-Pick disease type C in patients with schizophrenia |
| 3. 学会等名 The 2019 congress of the schizophrenia international society (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Fujii K, Maekawa M, Ozeki Y, Eto Y, Saito T, Shinozaki M, Arime Y, Nagashima T, Okayasu H, Shimoda K |
| 2. 発表標題 Are "ALL" of neurological symptoms with schizophrenia induced by antipsychotics? ~Possibility of Niemann-Pick disease type C~ |
| 3. 学会等名 6th Asian College of Neuropsychopharmacology (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤井久彌子、前川正充、尾関祐二、衛藤義勝、齋藤尚大、篠崎將貴、有銘預世布、永島隆秀、岡安寛明、石井沙安也、下田和孝 |
| 2. 発表標題 統合失調症と診断された症例を対象とした成人型ニーマンピック病C型を示唆する所見の検討 |
| 3. 学会等名 第115回日本精神神経学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 藤井久彌子, 前川正充, 尾関祐二, 衛藤義勝, 齋藤尚大, 篠崎将貴, 有銘預世布, 永島隆秀, 岡安寛明, 下田和孝 |
| 2. 発表標題 『薬剤性』と通常判断する統合失調症のジストニアを再検討する 成人型ニーマンピック病C型の可能性 |
| 3. 学会等名 第40回日本臨床薬理学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 藤井久彌子, 前川正充, 尾関祐二, 衛藤義勝, 齋藤尚大, 篠崎将貴, 有銘預世布, 永島隆秀, 岡安寛明, 石井沙安也, 下田和孝 |
| 2. 発表標題 抗精神病薬治療中の神経症状はすべて薬剤性が 成人型ニーマンピック病C型の可能性を検討する |
| 3. 学会等名 第41回日本生物学的精神医学会 |
| 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 |
|-------|---|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 尾関 祐二 (Ozeki Yuji) (90303768) | 滋賀医科大学・医学部・教授 (14202) | |