

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08013

研究課題名(和文) 脳内活性化ミクログリアのマルチモダル動態解析による次世代うつ病治療シーズの創出

研究課題名(英文) Multi-modal analysis focused on activated microglia in brain for developing new-generation seeds of pharmacotherapy of depression

研究代表者

亀野 陽亮 (Kameno, Yosuke)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：40537255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：令和3年度までにうつ病患者群16名、健常者群19名をリクルートした。背景項目、WAIS-IIIの結果に特に有意差はみられなかった。一方、うつ病の症状に関連する心理検査では有意差がみられた。一般血液検査では両群間で有意差はみられなかった。また、うつ病患者のPET検査では前頭葉と後頭葉でDASBの結合能の有意な結合能の低下が認められた。また、MRSではうつ病患者の内側前頭前野/前部帯状皮質膝前部でGABA濃度の有意な低下がみられた。現在目標症例数に達しておらず、結果をまとめていないため学会発表や論文への掲載はできていない。今後十分なサンプル数を確保した後に各種解析を経て結果を公表する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後十分なサンプル数を確保したのちに各種解析を行い結果の解釈を行う予定である。そのため、研究成果の学術的意義や社会的意義については解析結果を踏まえて検討する予定である。

研究成果の概要(英文)：By March 2022, 16 people in the depression group and 19 people in the healthy control group were recruited. There was no significant difference in the background and WAIS-III results. On the other hand, psychological tests related to the symptoms of depression showed significant differences. General blood tests showed no significant difference between the two groups. In addition, PET examinations of depressed patients showed a significant decrease in the binding potential of DASB in the frontal and occipital lobes. MRS showed a significant decrease in GABA concentration in the medial prefrontal cortex / anterior cingulate cortex of depressed patients.

The subjects of this study are currently recruiting. Therefore, the results have not been summarized and presentations at academic conferences and publications in papers have not been possible. After recruiting a sufficient number of samples, we plan to analyze the results and publish.

研究分野：精神医学

キーワード：PET うつ病 DPA713 DASB

1. 研究開始当初の背景

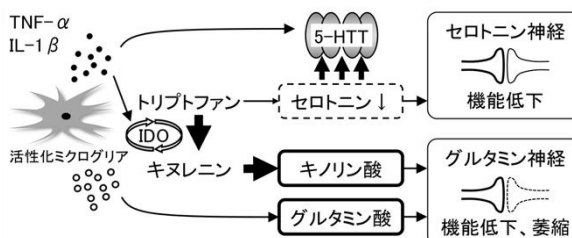
近年、わが国のうつ病患者数は約 130 万人に増加し、社会的損失は約 2 兆円とされ (佐渡, 2014)、うつ病対策が喫緊の課題となっている。一方、うつ病の治療では、認知行動療法は訓練された心理士が不足していること、電気けいれん療法は麻酔科と手術室を要することから、現実的には今後も薬物療法が中心である。現在の抗うつ薬の作用はモノアミン仮説に基づいているが、効果発現までに約 4 週間と即効性に乏しく、累積寛解率も 67%に留まることから (Rush et al, 2006) 異なる薬理作用による新薬の開発が急務となっている。

新しい病態仮説と治療ターゲット

近年注目されているうつ病の病態仮説に神経炎症仮説とグルタミン神経仮説がある。うつ病患者の脳内では活性化ミクログリアが TNF- α や IL-1 などの炎症性サイトカインを過剰に分泌し、インドールアミン 2,3 ジオキシゲナーゼ (IDO) やセロトニントランスポーター (5-HTT) を活性化する。その結果、シナプス間隙のセロトニンが減少し、抑うつ症状を誘導する (Zhu et al, 2006) というのが神経炎症仮説である。また、ケタミンが即効性の強い抗うつ作用を示すことからグルタミン神経仮説が提唱された。これらの仮説をもとに、米国ではインフリキシマブ (抗ヒト TNF- α モノクローナル抗体) と S-ケタミン (NMDA 受容体遮断薬) の治験が行われたが、効果は非常に限定的で重大な有害事象も見られた。そのため、いずれも臨床応用されておらず、両仮説のさらなる検証と治療標的の探索が求められている。

活性化ミクログリアとグルタミン神経仮説

活性化ミクログリアは炎症性サイトカインだけでなくグルタミン酸も過剰に放出し、IDO の活性化によりキノリン酸も過剰となる。過剰なグルタミン酸やキノリン酸は興奮毒性を有し、グルタミン神経系の機能低下や脳萎縮の誘因となる (Haroon et al, 2017) (右図)。また、シナプスでのグルタミン酸濃度やグルタミン神経の障害は炎症急性期と慢性期で異なるという仮説がある (Haroon et al, 2017)。すなわち、炎症急性期ではシナプス間隙や外腔でのグルタミン酸が過剰となり、慢性期ではシナプス前終末でのグルタミン酸放出が抑制されてグルタミン酸濃度は低下する。



この仮説が正しければ、グルタミン酸濃度は急性期ではミクログリアの活性度によって変化し、慢性期ではその活性度よりもうつ病の罹病期間、再発回数によって変化するのではないかという問いが生じる。さらに、この現象が 5-HTT やトリプトファン代謝にどのような影響を与え、どの要因がどの抑うつ症状に最も強く影響を与えるのかという問いが生じる。

2. 研究の目的

上記の「問い」を明らかにするためには、生体で、同一個体で、同一日に活性化ミクログリア、セロトニン神経系、グルタミン神経系、トリプトファン代謝物と抑うつ症状との相関関係を検討する必要がある。また、活性化ミクログリアは Positron Emission Tomography (PET) 以外の定量法はないが、PET を用いた脳内の活性化ミクログリアと 5-HTT、グルタミン酸およびグルタミン濃度、トリプトファン代謝物との関連性を定量的に、直接的に検討した報告はない。そこで今回我々は、うつ病患者を対象に活性化ミクログリアと 5-HTT の特異的トレーサーを用いて PET 検査を施行し、さらに ^1H MEGA-PRESS MRS を用いて前部帯状皮質のグルタミン酸、グルタミン、GABA の濃度を測定し、モノアミン仮説、神経炎症仮説、グルタミン神経仮説のそれぞれの相関性を検証する。そして、うつ病病態における活性化ミクログリアの役割の解明に寄与すると共に、新たな治療シーズの創出を目指す。

3. 研究の方法

(1) 症例リクルート

- うつ病患者群 (25 名): 本学附属病院と静岡県内の精神科病院と診療所 15 施設から 20~49 歳の未治療の大うつ病性障害の患者を募集する。診断は DSM-5 による。脳器質性疾患を有する者、妊娠、授乳中の女性は除外する。抗アレルギー薬、抗炎症薬、免疫抑制薬を内服していない者とする。また、罹病期間、再発回数も確認する。
- 健常対照者群 (25 名): 患者群と性別、年齢がマッチし、精神障害のない者を対象とする。患者群と同様の除外基準に、1 親等以内に精神疾患の家族歴がないことを追加する。

(2) 抑うつ症状の評価

- ベックうつ病評価尺度、17 項目ハミルトンうつ病評価尺度を用いて評価する。

(3) 血液検査

検体の採取: 前日 21 時より絶食とし、当日 11 時に前腕の静脈より採血する。一般血液検査 10ml、炎症性サイトカイン検査用 5ml、トリプトファン代謝物検査用 5ml、遺伝子解析用 10ml、合計約 30ml を採取する。血清用採血管は常温 30 分静置し、凝固させる。各検体を 1500g × 15 分

遠心処理した後、上清を 20 μ l 毎分注し、測定まで -80 $^{\circ}$ C で保存する。

- ・ 一般血液検査：血液学的検査、生化学的検査 (hs-CRP、甲状腺ホルモンを含む) を行う。
- ・ 炎症性サイトカイン：血中の IL-1、TNF- α など計 30 項目を Bio-PlexTM 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc) を用い、サスペンションアレイ解析で定量的に解析する。
- ・ トリプトファン代謝物：血中のセロトニン、キノレン酸など代謝物計 15 項目を Nexera X2 (Shimadzu, co) を用い、超高速液体クロマトグラフによりメタボローム解析を行う。

なお、末梢血中の炎症性サイトカイン、セロトニン代謝物はいずれも脳内炎症反応やうつ病との関連が報告されている (Haroon et al, 2017)。

(4) PET 検査

PET 検査は、浜松 PET 診断センター内の浜松ホトニクス社製頭部専用 PET スキャナ SHR12000 を用いる。10 分間の吸収補正用撮像後に、 $[^{11}\text{C}]\text{DPA713}$ と $[^{11}\text{C}]\text{DASB}$ を同一日の午前と午後 3 時間の間隔を空けて投与する。両トレーサーとも 5MBq/kg 程度を 1 分間で静注し、90 分のダイナミック・スキャンを行う。尚、動脈採血が不要な SRTM 法で解析するため侵襲性は低い。また画像解析用に頭部 MRI を施行する。

(5) ^1H -MRS

MRS は浜松 PET 診断センター内の Philips Ingenia 3.0T を用い、MEGA-PRESS 法で行う。関心領域は前部帯状皮質とし、グルタミン酸、グルタミン、GABA 濃度を LCModel で定量する。

(6) 遺伝子検査

$[^{11}\text{C}]\text{DASB}$ の結合能に相関関係が指摘されている 5-HTT の遺伝子多型解析を行う。

(7) データの解析

- ・ 統計解析：炎症性サイトカインとトリプトファン代謝物の探索的な症例対照比較を二元配置分散分析で SPSS (ver. 25J, IBM co.) を用いて行う。p < 0.05 を統計学的有意とする。
- ・ 画像解析：MRI 画像を元に脳形態の評価と脳萎縮を補正したのち、うつ病で活性化ミクログリアや 5-HTT の異常が報告されている前頭前野、前部帯状回、線条体、海馬を関心領域に設定する。 $[^{11}\text{C}]\text{DPA713}$ では健常者群の時間放射能曲線を入力関数として、 $[^{11}\text{C}]\text{DASB}$ では各個人の小脳を参照領域として BP_{ND} パラメトリック画像を算出する。その後、統計画像解析ソフト (SPM) を用い、活性化ミクログリアと 5-HTT の密度に症例対照間で有意差を認める部位を同定する。また、 ^1H -MRS も同様に代謝物濃度に有意差を認める部位を同定する。そして、活性化ミクログリア、5-HTT、代謝物濃度の変化と、精神症状や血液検査所見との相関関係を SPSS で検討する。

本給付額の範囲でまず 20 名分の結果を得て検定力分析を行なったのち他奨学金を活用して必要症例数 (現時点では計 50 名程度を想定) のデータを集積する。研究期間中は月 2 回程度定期的に研究ミーティングを行い、新たに起こった問題に対処するとともに、議論を深める。そして、以上の検討から得られた成果を論文にまとめて発表する。

4. 研究成果

令和元年度から令和 3 年度にわたって被験者を募集し、うつ病患者群 16 名、健常者群 19 名をリクルートした。

各群の背景情報は表 1 の通りであり、両群間に有意差は認められなかった。

表 1

	うつ病群 (n=16)		健常者群 (n=19)		p
	Mean (range)	S.D.	Mean (range)	S.D.	
年齢	30.2 (23.0 - 41.0)	6.0	33.6 (21.0 - 48.0)	9.2	0.21
身長	161.9 (149.0 - 176.4)	7.1	160.3 (150.3 - 175.5)	8.5	0.55
体重	56.3 (44.2 - 68.4)	7.0	57.4 (44.8 - 68.8)	6.7	0.66
BMI	21.4 (18.4 - 24.2)	1.8	22.4 (17.6 - 27.6)	2.7	0.24
SES-本人	2.9 (1.0 - 5.0)	0.9	2.5 (1.0 - 4.0)	0.8	0.13
SES-両親	3.1 (2.0 - 4.0)	0.6	2.8 (1.0 - 5.0)	1.1	0.28

また、各群に対して行った心理検査の結果は表 2 の通りである。知的能力検査である WAIS-III では両群間に有意差は認められなかった。一方、HDRS-17、BDI-II、IES-R、STAI、SASS、CGI-S とうつ病の症状に関わる評価尺度では全てにおいて有意差がみられた。

表 2

	うつ病群 (n=16)		健常者群 (n=19)		p
	Mean (range)	S.D.	Mean (range)	S.D.	
WAIS-III					
FIQ	97.1 (71.0 - 120.0)	13.2	101.2 (75.0 - 131.0)	17.9	0.45
VIQ	95.3 (71.0 - 116.0)	13.1	100.9 (69.0 - 136.0)	21.0	0.36
PIQ	99.6 (75.0 - 131.0)	15.8	101.0 (80.0 - 125.0)	13.1	0.77
HDRS-17	18.6 (11.0 - 28.0)	5.3	0.5 (0.0 - 9.0)	2.1	0.00
BDI-II	23.8 (11.0 - 42.0)	8.2	1.1 (0.0 - 6.0)	1.8	0.00

IES-R	21.3 (0.0 - 61.0)	21.9	2.3 (0.0 - 16.0)	4.2	0.00
STAI					
特性不安	59.8 (36.0 - 74.0)	9.8	34.1 (22.0 - 47.0)	7.4	0.00
状態不安	52.6 (32.0 - 74.0)	9.6	34.0 (20.0 - 49.0)	8.0	0.00
SASS	27.8 (17.0 - 45.0)	7.4	40.2 (24.0 - 52.0)	7.3	0.00
CGI-S	4.1 (3.0 - 6.0)	1.0	1.0 (1.0 - 1.0)	0.0	0.00

また、各群に対して行った画像検査の結果は以下の通り。

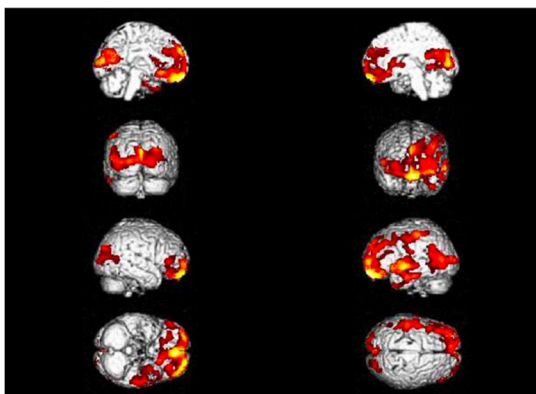
< PET >

各群特に有害事象なく PET 検査を実施した。得られた画像データを用いて、statistical parametric mapping (SPM) ソフトウェアにて全脳解析を行なった。

その結果、DPA713 の全脳解析では有意な上昇も低下も認められなかった。

一方、DASB では $p=0.05$ 水準で orbitofrontal cortex を中心とした前頭葉と cuneus gyrus を中心とした後頭葉で有意な結合能の低下が認められた (右図)。

引き続き症例数を追加し、各トレーサーの結合能とトレーサー同士の相関関係について解析を行う予定である。

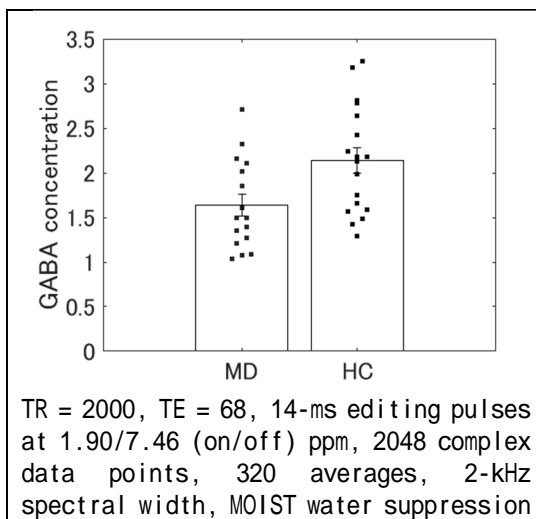


< MRS >

内側前頭前野/前部帯状皮質膝前部に $20 \times 30 \times 30\text{mm}^3$ の関心領域 (region of interest, ROI) を設定し、MEGA-PRESS MRS 計測を実施した。LC Model ver.6.3-1N を用いて GABA 濃度を推定し、健常群 1 名のデータは Cramer-Rao lower bounds (%SD) > 20 であったため解析から除外した。

健常者 18 名、うつ病患者 16 名のデータを予備的に比較した結果、患者群において GABA 濃度の有意な低下が認められた ($t = 2.62$, $p = 0.013$) (右図)。

MRS についても引き続き症例数を追加し、PET データとの相関関係について解析を行う予定である。



< 血液検査 >

血液学的検査、生化学検査では両群間で有意差は見られなかった。

< その他の解析 >

研究計画では炎症性サイトカイン (サスペンションアレイ解析) トリプトファン代謝物 (メタボローム解析) を予定していたが、サンプル数が十分に集まっていないため、まだ実施していない。今後十分なサンプル数が確保できた後に解析を行う予定である。

< まとめ >

本研究ではうつ病患者群 16 名、健常者群 19 名をリクルートした。背景項目、WAIS-III の結果に特に有意差はみられなかった。一方、うつ病の症状に関連する HDRS-17, BDI-II, IES-R, STAI, SASS, SRRS, CGI-S では有意差がみられた。一般血液検査の結果には両群間で有意差はみられなかった。また、うつ病患者の PET 検査では前頭葉と後頭葉で DASB の結合能の有意な結合能の低下が認められた。また、MRS ではうつ病患者の内側前頭前野/前部帯状皮質膝前部で GABA 濃度の有意な低下が認められた。

現在目標症例数に達しておらず、結果をまとめていないため学会発表や論文への掲載はできていない。今後十分なサンプル数を確保した後に各種解析を経て結果を公表する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	横倉 正倫 (Yokokura Masamichi) (00529399)	浜松医科大学・医学部・助教 (13802)	
研究分担者	尾内 康臣 (Ouchi Yasuomi) (40436978)	浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・教授 (13802)	
研究分担者	桑原 斉 (Kuwabara Hitoshi) (50456117)	浜松医科大学・医学部・准教授 (13802)	
研究分担者	山末 英典 (Yamasue Hidenori) (80436493)	浜松医科大学・医学部・教授 (13802)	
研究分担者	和久田 智靖 (Wakuda Tomoyasu) (80444355)	浜松医科大学・医学部附属病院・講師 (13802)	

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
---------	---------