

平成 22 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790830

研究課題名 (和文) 画像解析と遺伝子解析を用いた強迫性障害病態へのグルタミン酸の役割に
対しての研究研究課題名 (英文) Role of glutamate on the pathogenesis of obsessive-compulsive
disorder analyzed by neuroimaging and genetic polymorphisms.

研究代表者 松澤 大輔 (Daisuke Matsuzawa)

千葉大学大学院・医学研究院・助教

研究者番号：10447302

研究成果の概要 (和文)：強迫観念とそれによる不安を打ち消すための強迫行動を特徴とした強迫性障害(OCD)へのグルタミン酸神経系の関与を主に遺伝的側面から探った。グルタミン酸トランスポーター遺伝子から、SLC1A1 および SLC1A3 を選択し、一塩基置換を合わせて7つ同定し、OCD と健常者においてそのうち4つの遺伝子型の頻度が異なることを発見した。また、血清BDNF濃度を測定し、OCDの方が健常者より優位に濃度が高いことを発見した。画像研究では¹H-MRSを用いたグルタミン酸の定量測定を行ったが、今後も検討を要する。

研究成果の概要 (英文)：Obsessive-compulsive disorder (OCD) is characterized by the compulsive behaviors in order to reduce anxiety due to obsession. In this study, a role of glutamate on the pathogenesis of OCD was investigated by mainly from the genetic aspects. SLC1A1 and SLCA3, genes of glutamate transporter, were selected, and 7 polymorphisms were identified. Genotype frequencies of four of the polymorphisms were different between normal controls and OCD patients. In addition, serum BDNF level was significantly higher in OCD than in normal controls. Quantitative measurement of glutamate was performed by ¹H-MRS, but further evaluation is needed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

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

強迫性障害 (Obsessive-compulsive disorder: 以下 OCD と略す) は有病率が1.5-2.5%の高い頻度で認める精神疾患の1つであり、強迫観念(持続的にわき起こってくる

不快感や不安感を生じさせる思考)と強迫行為(わき起こってきた強迫観念を打ち消したり、振り払うための不合理な行為)を特徴とする。強迫症状には個人差があるが、洗浄強迫、確認強迫、保存強迫、性的・宗教的観念の反

復的想起などが代表的なもので、本人もその行為が不合理であることがわかってはいるが、それをやめてしまうことの不安や不快感が強いためやめられない、非常に苦痛を伴った疾患である。

治療の第一に行動療法として暴露反応妨害法があり、これは患者が不安、不快を感じる状況下にあえてさらし、それを軽減させる強迫行為をとらせない手法で、患者の不安や不快感に応じて段階的に実施する。大きな効果を上げる患者がいる一方で、暴露行為に対する動機付けが弱い場合や不安の程度が著しい場合などに困難を生じることも多い。

薬物療法としては旧来より三環系抗うつ薬クロミプラミンが用いられてきたが、現在ではより副作用プロファイルに優れたSSRI(セロトニン選択性再取り込み阻害薬:フルボキサミン、パロキセチン)が第一選択となっている。しかし、30-40%の患者はそのような薬物治療に対して反応性がなく、たとえ効果があっても症状が残存し、軽快後に再び増悪するケースも多いのが現状である。

また、行動療法、薬物療法で効果不十分な症例に対しては、電気けいれん療法、経頭蓋磁気刺激法、外科手術なども選択肢ではあるが、我が国では一般的ではない。

このようなOCD治療の現状から、新しい作用機序に基づいた薬物療法が切実に求められている。

2. 研究の目的

OCDの病態に対するグルタミン酸を介した神経系の役割を遺伝的側面、画像を用いた生理学的側面、生物学的基盤を背景とした臨床症状への影響、BDNFなどの生理活性物質への影響といった観点から解明することである。

3. 研究の方法

(1)グルタミン酸代謝関連機能遺伝子解析シーケンサーを用いたダイレクトシーケンスによってグルタミン酸トランスポーター遺伝子の主にプロモーター及びエクソン領域を探索し、頻度の高い塩基置換(SNP)を同定する。試料は実験に対する説明を十分行い、同意を得た健常者から採血し、抽出したDNAを用いる。

(2)(1)によって同定したSNPについて、健常者とOCD患者を対象に、それぞれから採血、抽出したDNA試料を用いて、頻度の解析を行う。試料は実験に対する説明を十分行い、同意を得た者からのみ採取する。

(3)血清BDNF測定

実験に対する説明を十分行い、同意を得た健常者及びOCD患者から得た血清試料を用い、BDNF濃度をELISA法によって測定する。

(4)MRS測定、認知機能、病状評価

¹H-MRS(プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー)を用い、実験に対する説明を十分行い、

同意を得た被検者の内側前頭前野を対象にグルタミン酸定量測定を行う。併せて認知機能検査、病状評価を行い、それによる評価との相関を見る。

4. 研究成果

(1)脳内ではグルタミン酸トランスポーターにEAAT1-5があり、それぞれ発現している細胞、部位が異なっている。この中から、先行研究とシナプスにおけるグルタミン酸の回収に大きな役割を果たしているEAAT1とEAAT3の遺伝子、SLC1A3とSLC1A1を対象にそのプロモーター領域、及びエクソンとその近傍にあるSNPをダイレクトシーケンスによって検索した。健常人32例のサンプルから、マイナーアレルが10%を超えるようなSNPを同定できたのは、SLC1A1においては3つ(rs10814990, rs2228622, rs301430: SNP1-3)、SLC1A3においては4つ(rs9283745, rs10056001, rs10057629, rs2229894: SNP4-6)であった。

(2)(1)で同定したSNPを対象に、ダイレクトシーケンスを用いたSNPのtypingを行った。DNA試料は、OCD患者51名、健常者314名である。その結果、SLC1A1の2つ(SNP2, 3)、SLC1A3の1つ(SNP4)で両者にgenotype頻度の差が有意(いずれも $p < 0.01$)にあったため、OCD発症との関連が示唆された(図1)。

SNP1	n genotype				allele				p				
	Total	C/C	C/G	G/G	C	G	C	G					
OCD	44	8	18.2	25	56.8	11	25.0	0.0835	41	46.6	47	53.4	0.1838
NC	314	105	33.4	130	41.4	79	25.2		340	54.1	288	45.9	

SNP2	n genotype				allele				p				
	Total	G/G	G/A	A/A	G	A	G	A					
OCD	46	27	58.7	16	34.8	3	6.5	2.00E-05	70	76.1	22	23.9	0.8344
NC	314	170	54.1	144	45.9	0	0		484	77.1	144	22.9	

SNP3	n genotype				allele				p				
	Total	C/C	C/T	T/T	C	T	C	T					
OCD	51	24	47.1	12	23.5	15	29.4	0.0024	60	58.8	42	41.2	0.9659
NC	314	107	34.1	154	49.0	53	16.9		368	58.6	260	41.4	

SNP4	n genotype				allele				p				
	Total	T/T	T/C	C/C	T	C	T	C					
OCD	51	39	76.5	9	17.6	3	5.9	0.0300	87	85.3	15	14.7	0.4438
NC	130	86	66.2	41	31.5	3	2.3		213	81.9	47	18.1	

SNP5	n genotype				allele				p				
	Total	T/T	T/G	G/G	T	G	T	G					
OCD	50	25	50	14	28	11	22	0.0777	64	64	36	36	0.0661
NC	128	73	57	43	33.6	12	9.4		189	73.8	67	26.2	

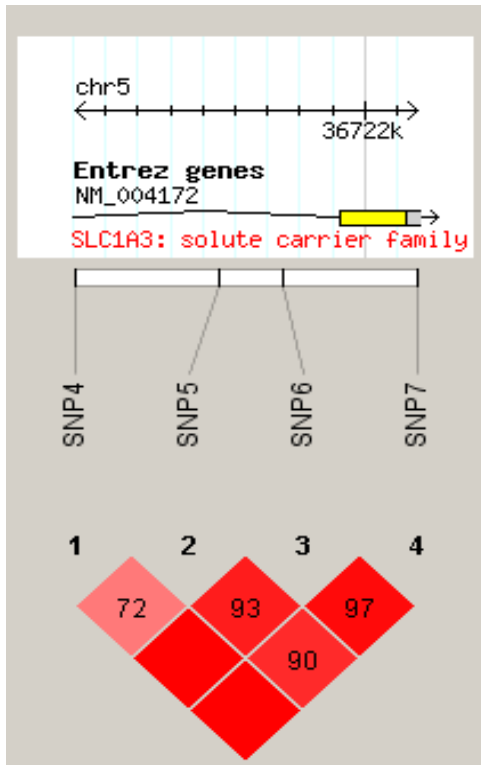
SNP6	n genotype				allele				p				
	Total	T/T	T/A	A/A	T	A	T	A					
OCD	51	27	52.9	19	37.3	5	9.8	0.6749	73	71.6	29	28.4	0.6033
NC	132	72	54.5	52	39.4	8	6.1		196	74.2	68	25.8	

SNP7	n genotype				allele				p				
	Total	G/G	G/A	A/A	G	A	G	A					
OCD	49	28	57.14	15	30.61	6	12.24	0.6216	71	72.4	27	27.6	0.3167
NC	132	74	56.1	50	37.9	8	6.1		198	75.0	66	25.0	

(図1)

また、SLC1A3ではSNPが連鎖不均衡の関係にあることがわかり(図2)、特定のアレルの組み合わせ(ハプロタイプ)がOCDとの関連を持つのか解析したが、幾つかのハプロタイプで、健常者との間に有意な差($p < 0.05$)が見られた(図3)。

(図 2)



(図 3)

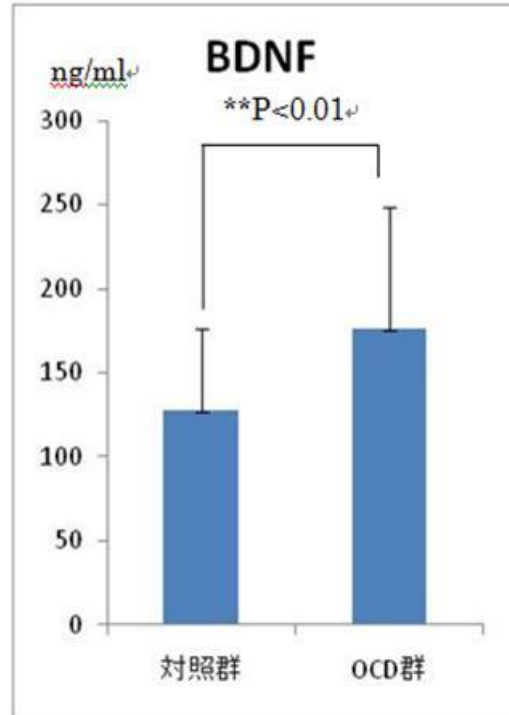
	OCD		
	Haplotype	Freq.	P value
4-5	TG	0.281	0.0708
	CT	0.162	0.4089
4-5-6	CTT	0.164	0.3893
	TGT	0.037	0.0387
4-5-6-7	CTTG	0.162	0.4156
	TGTG	0.037	0.0389
5-6	TT	0.692	0.1470
	GT	0.042	0.0292
5-6-7	TTG	0.687	0.1201
	GTG	0.042	0.0293

これらの結果から、グルタミン酸トランスポーター (EAAT1/3) は OCD の発症に何らかの役割を果たすことが示唆された。OCD の遺伝子研究はまだその数自体が少なく、その中で当研究のような探索的に SNP を同定して解析した例はない。また、グルタミン酸神経伝達に関与するトランスポーターの遺伝子変化と疾患との関連は、グルタミン酸神経系の OCD への発症への関わりを示唆し、今後治療薬開発の標的としての可能性を考えられるものでもある。

(3) OCD41 名、健常者 37 名のサンプルを対象

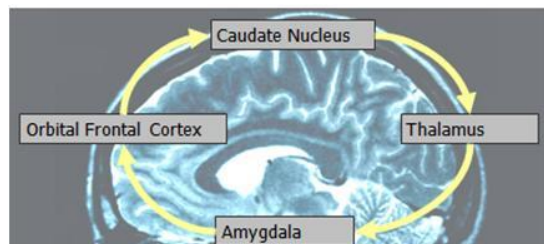
に、BDNF 濃度を測定した結果、BDNF 濃度は意外にも OCD 患者の方が優位に高かった ($p < 0.01$ 、図 4)。

(図 4)



うつ病をはじめとする精神疾患で血清 BDNF 濃度が低いとする報告が多いため、これはとりわけ興味深い。OCD では一部の機能的神経回路 (Cortico-thalamo-cortical circuit、図 5) が正常に比べて亢進していることがこれまでの画像研究から示唆されている。

(図 5)



また、(2) で示した EAAT の SNP との関連を合わせ、グルタミン酸神経経路の亢進と、この BDNF 濃度の上昇が OCD 発症もしくは病態に関連があるとすれば、生物学的指標の観点からこれまでに無い新しい視点を OCD 治療薬開発や、治療効果判定に与えるものである。

(4) $^1\text{H-MRS}$ は MRI の機械を用いて、脳内に存在する水素原子の磁気共鳴を利用したスペクトロスコピーで、脳内に豊富に存在する、NAA、クレアチン、コリンなどを対象にした定量測定がされてきた。グルタミン酸に関してはグルタミンや GABA との信号の重なりが問

題となっており、定量測定には困難がある状態が続いてきた。定量測定ソフト、LCModelを用いることで、グルタミン酸測定も可能とはなってきたが、今回内側前頭前野を対象に健常人 21 名を対象にその可能性を探ったところ、グルタミンとの分離において尚検討を要する結果であった。

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 2 件)

1. Nanbu M, Kurayama T, Nakazawa K, Matsuzawa D, Komiya Z, Haraguchi T, Ogura H, Hashimoto T, Yoshida S, Iyo M, Shimizu E. Impaired P50 suppression in fear extinction in obsessive-compulsive disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2010 17;34(2):317-22. 査読有り
2. Kurayama T, Nakazawa K, Matsuzawa D, Yoshida S, Nanbu M, Suto C, Shimizu E. Alterations of auditory p50 suppression in human fear conditioning and extinction. Biol Psychiatry. 2009 15;65(6):495-502. 査読有り

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松澤 大輔 (Daisuke Matsuzawa)
千葉大学大学院・医学研究院・助教
研究者番号：10447302

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし