

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：82611  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2010～2011  
 課題番号：22659215  
 研究課題名（和文） 安定同位体を用いた呼気ガス検査とビオプテリンの精神疾患における有用性の検討  
 研究課題名（英文） The application of stable isotope breath test and biopterin administration to the evaluation and treatment of psychiatric disorders  
 研究代表者  
 功刀 浩 (KUNUGI HIROSHI)  
 独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部 部長  
 研究者番号：40234471

研究成果の概要（和文）：カテコールアミン合成の材料であるフェニルアラニン安定同位体  $^{13}\text{C}$  で標識し、代謝の過程で呼気中より排出される  $^{13}\text{CO}_2$  を  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  として測定する呼気検査を、精神疾患に応用した。統合失調症 91 名、うつ病 77 名、躁うつ病 32 名、健常者 181 名に実施したところ、統合失調症において、呼気検査結果が有意に低下していた。また、上記被験者の血中 BH4 濃度を測定したところ、統合失調症において有意に低下していた。呼気検査と血中 BH4 の両方が低値をしめした統合失調症患者に、BH4 を投与した後に呼気検査を行ったが、呼気検査結果の改善はみられなかった。呼気ガス検査によるフェニルアラニンの代謝、BH4 濃度、精神症状の関係を調べることは極めて有意義である。

研究成果の概要（英文）：Phenylalanine is required for the synthesis of catecholamines.  $^{13}\text{C}$ -labeled phenylalanine breath test ( $^{13}\text{C}$ -PBT), in which total  $^{13}\text{CO}_2$  produced through metabolism of  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine was measured as  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  ratio, was administered to psychiatric patients. The subjects were 91 schizophrenia, 77 depression, 32 bipolar disorder patients and 181 controls.  $^{13}\text{C}$ -PBT results and serum BH4 level were significantly lower in the schizophrenia patients than in the controls.  $^{13}\text{C}$ -PBT after administration of BH4 was conducted in patients who had had both low  $^{13}\text{C}$ -PBT results and serum BH4 level, however  $^{13}\text{C}$ -PBT results were not improved. Examination of relationship between phenylalanine metabolism measured by breath test, BH4 level, and psychiatric symptoms may attribute to elucidate the pathophysiology of mental disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	2,900,000	390,000	3,290,000

研究分野：医師薬学

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：脳・神経、脳神経疾患、神経科学、薬学、バイオテクノロジー

## 1. 研究開始当初の背景

統合失調症や気分障害においては、カテコールアミンやセロトニンなどのモノアミンが病態において重要な役割を果たしていると考えられるが、日常臨床で汎用されている検査法はいまだにない。近年の技術革新によって安定同位体を用いた呼気ガス検査が医学に応用されるようになった。カテコールアミン合成の材料であるフェニルアラニンを $^{13}\text{C}$ で標識し、カテコールアミンが生合成される過程で呼気中より排出される $^{13}\text{CO}_2$ を測定することによって合成速度の指標とすることができ、肝機能を測定する方法としても確立しつつある。また、統合失調症や気分障害においてモノアミンの合成に重要なBH4が低下しているという報告や、BH4が治療効果をもつという報告がある。以上から、呼気ガス検査が精神疾患の診断指標（バイオマーカー）になる可能性、BH4がバイオマーカーとなる可能性、BH4の投与によって呼気ガス検査が改善するかについて検討することは極めて有意義である。

## 2. 研究の目的

(1) フェニルアラニンやトリプトファンを $^{13}\text{C}$ で標識して被験者に投与し、呼気ガス中の $^{13}\text{CO}_2$ を測定することにより、カテコールアミンやセロトニンの合成速度が、健常者と比較して気分障害や統合失調症患者で変化しているかどうか、さらに、臨床症状と関連するか否かについて明らかにする。

(2) 血中BH4濃度と診断・臨床症状との関連、BH4濃度と呼気ガス検査との関連について明らかにする。

(3) BH4の投与が呼気ガス検査所見を改善させるか否かについて明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 平成22年度は当初、 $^{13}\text{C}$ -トリプトファンを用いた検査（セロトニン生合成の指標）の有用性について検討する予定であったが、トリプトファンによる検討はコスト面で難点があったため、 $^{13}\text{C}$ -フェニルアラニン（ドーパミン、ノルアドレナリンの指標）を用いた検査に予定を変更して行った。呼気ガス検査を行い、診断や重症度との関連について検討するとともに、BH4濃度との関連について明らかにした。BH4濃度と診断や重症度との関連についても検討した。

<対象> 国立精神・神経医療研究センター病院や関連病院において治療中の気分障害（大うつ病、双極性障害）患者、統合失調症患者、および健常者のうち、研究について

文書で説明を行い、書面で同意を得られた者を対象とする。平成22年度は、統合失調症24名、うつ病24名、双極性障害5名と健常者42名の結果を得た。

<精神医学的評価> 患者に対しては、家族歴や既往歴、病歴などの詳細な臨床情報に加えて、気分障害に対してはハミルトンうつ病評価尺度（グリッド版）とヤング躁病評価スケール、統合失調症患者に対しては陽性・陰性症状評価尺度(PANSS)による症状評価を行った。健常者については、精神疾患簡易構造化面接法(MINI)に基づいた面接により精神疾患の既往や罹患がないことを確認した。<呼気ガス検査>  $^{13}\text{C}$ で標識したフェニルアラニンを用いた検討（カテコールアミンの合成速度の指標）は既に200例のデータが集まっているので、平成22年度は $^{13}\text{C}$ -トリプトファンを用いた検査（セロトニンの生合成速度の指標）の有用性について検討する。以下のプロトコールで行った。

①検査当日0時以降は絶食とし、②午前10時に10cc 静脈採血する（BH4測定と肝機能など生化学的検査のため）。③ $^{13}\text{C}$ で標識されたフェニルアラニン100mgを服用し、④服用直前、10分後、15分後、20分後、30分後、45分後、60分後、90分後、120分後（計8回）に呼気を250mlのアルミバッグに回収した。⑤呼気中の $^{13}\text{CO}_2$ を測定し（赤外分光分析装置UBiT-IR300[大塚電子]を用いた。本備品は実験室に備わっている）、時間経過をプロットする。

BH4濃度は、高速液体クロマトグラフィー（研究室に備わっている）で血清総ビオプテリン濃度として測定した。これまでの予備的検討では統合失調症患者で低下している結果が得られているが、さらにサンプル数を増やして確認した。

<統計解析> 肝機能検査で異常がみられた者などを除外したうえで、診断別の呼気ガス検査値を比較するとともに、BH4値との関連について検定した。呼気ガス所見と臨床データ（重症度、薬物）との関連について解析した。

BH4濃度と診断との関連、臨床データとの関連について解析した。

(2) 平成23年度は、BH4投与による呼気ガス検査所見の変動についても検討した。特に、平成22年度までにBH4濃度や呼気検査で低下がみられた被験者に対して再度検査を依頼する。以下のプロトコールを用いて行った。

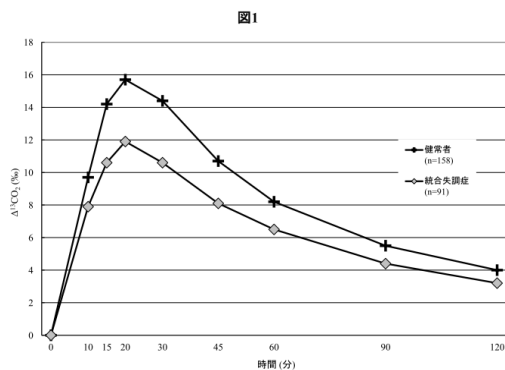
①第1回目検査当日0時以降は絶食とし、②午前10時に10cc採血する（BH4測定と生化学的検査）。③ $^{13}\text{C}$ で標識されたトリプトファン/フェニルアラニンを服用し、④呼気を

回収し時間経過をプロットする。⑤1週間後に第2回検査を同様に行うが、午前8時にBH4（ビオプテン顆粒0.4g、アスピオファーマ）を内服してその効果をみた。

なお、被験者の半数はBH4を内服後に行う検査を第1回目に行い、1週間後に内服しない検査を行う（順序を逆にする）。以上により、BH4を内服した後の呼気ガス検査結果の方が内服しないベースラインの呼気ガス検査結果より高くなるか否かについて検討した。

#### 4. 研究結果と考察

(1) 平成22年度は<sup>13</sup>C-トリプトファンを用いた検査（セロトニン生合成の指標）の有用性について検討する予定であったが、トリプトファンによる検討はコスト面で難点があったため、<sup>13</sup>C-フェニルアラニン（ドーパミン、ノルアドレナリンの指標）を用いた検査に予定を変更して行った。平成22年度は、統合失調症24名、うつ病24名、双極性障害5名と健常者42名の結果を得た。統合失調症と健常者の比較を21年度までに行っていた結果と合わせると、統合失調症患者（91名）の呼気ガス中の<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>排出量は健常者（158名）に比較して有意に低下していた（ $p < 0.001$ 、図1）。

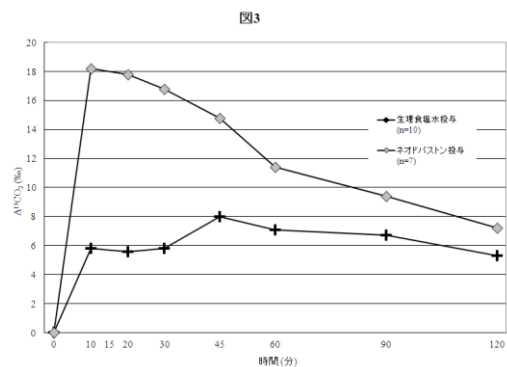
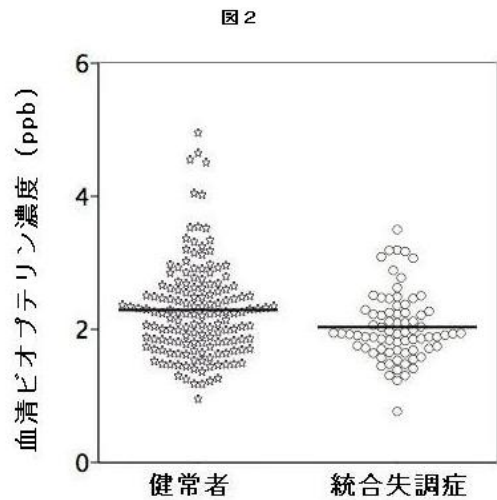


また、統合失調症患者のBH4濃度は健常者に比較して有意に低下していた（ $p < 0.001$ 、図2）。

次に統合失調症患者へのBH4投与が、呼気検査に及ぼす影響を調べたが、10mgのBH4（午前7時）は午前10時の呼気検査に影響を与えなかったことから（ $p = 0.90$ ）、より高用量のBH4投与が必要と考えられた。

動物実験により、脳内カテコラミンの変化が呼気ガスに及ぼす影響を検討した。ラットにドーパミン産生を促す薬物を投与し、呼気中の<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>量をしたところ、AUCはコントロール群に比較して著明に上昇していた（図3）。

以上から、呼気ガス検査は統合失調症やカテ

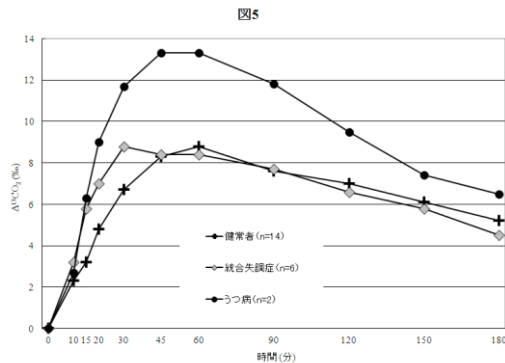
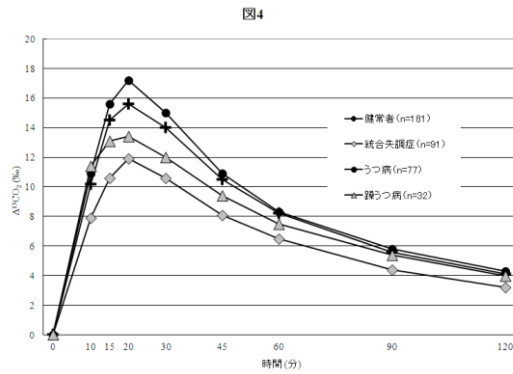


コラミンのバイオマーカーとなる可能性が支持された。

(2) 平成23年度は<sup>13</sup>C-フェニルアラニン（ドーパミン、ノルアドレナリンの指標）を用いた検査と、<sup>13</sup>C-トリプトファン（セロトニン生合成の指標）を用いた検査を行った。平成23年度は、うつ病53名、双極性障害27名と健常者23名の<sup>13</sup>C-フェニルアラニン呼気検査の結果を得た。統合失調症と健常者の比較を平成22年度までに行っていた結果と合わせると、統合失調症患者（91名）の呼気ガス中の<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>排出量は健常者（181名）に比較して有意に低下していた（ $p = 0.0005$ 、図4）。

また、躁うつ病（27名）の呼気ガス中の<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>排出量は健常者に比較して低く、統合失調症に比較して高いという傾向がみられた（図4）。

また平成23年度は、統合失調症6名、うつ病2名と健常者14名の<sup>13</sup>C-トリプトファン呼気検査の結果を得た。<sup>13</sup>C-トリプトファンの内服量は150mgとした。うつ病と健常者の比較をすると、うつ病患者（2名）の呼気ガス中の<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>排出量は健常者（14名）に比較して、増加している傾向がみられた（図5）。



統合失調症、気分障害と健常者のBH4検査について平成22年度までに行っていた結果と合わせて解析した。

統合失調症では、BH4濃度と呼気検査のパラメーターAUCは相関しなかったが（性別、年齢、体重を補正した偏相関係数 partial  $r=0.06$ ）、健常者では、BH4濃度とAUCの間に弱い相関（同偏相関係数 partial  $r=0.18$ ,  $p=0.029$ ）がみられた。うつ病では、BH4濃度とAUCは相関しなかった（性別、年齢、体重を補正した偏相関係数 partial  $r=-0.03$ ）。よって、統合失調症では、BH4が補酵素として働いて<sup>13</sup>C<sub>2</sub>が排出される化学反応が障害されている可能性が示唆された。

統合失調症のBH4濃度と重症度（PANSS陽性尺度、陰性尺度、総合病理尺度、合計点）について偏相関分析を行ったが、有意な相関はみられなかった。うつ病のBH4濃度と重症度（ハミルトンうつ病評価尺度）について偏相関分析を行ったが、有意な相関はみられなかった。躁うつ病のBH4濃度と重症度（ヤング躁病評価スケール）について相関分析を行ったが、有意な相関はみられなかった。

動物実験により、抗精神病薬が呼気ガスに及ぼす影響を検討した。ラットに抗精神病薬であるハロペリドール、リスパダールをそれぞれ慢性（3週間）投与し、<sup>13</sup>C-フェニルアラニン呼気検査をしたところ、 $\Delta^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ のAUCはコントロール群と比較して有意な差はなかった。よって、統合失調症で<sup>13</sup>C-フェニルアラニン呼気検査の結果が低下しているのは、抗精神病薬による影響ではないと推定された。

## 結論

以上の平成22年度と同23年度の結果から、<sup>13</sup>C-フェニルアラニン及び<sup>13</sup>C-トリプトファン呼気ガス検査は統合失調症やうつ病の補助診断の検査となり、また、BH4は統合失調症のバイオマーカーとなる可能性が支持された。

## 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1件）

- ① Toshiya Teraishi, Yuji Ozeki, Hiroaki Hori, Daimei Sasayama, Shuichi Chiba, Noriko Yamamoto, Haruko Tanaka, Yoshimi Iijima, Junko Matsuo, Yumiko Kawamoto, Yukiko Kinoshita, Kotaro Hattori, Miho Ota, Masahiro Kajiwara, Sumio Terada, Teruhiko Higuchi, Hiroshi Kunugi. <sup>13</sup>C-phenylalanine breath test detects altered phenylalanine kinetics in schizophrenia patients, *Translational Psychiatry* (2012) 2: e119  
doi:10.1038/tp.2012.48

〔学会発表〕（計0件）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

功刀 浩 (KUNUGI HIROSHI)

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部 部長  
研究者番号：40234471