

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月27日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2012

課題番号：24659535

研究課題名（和文） 地域精神保健活動に立脚した生物学的精神医学研究の構築

研究課題名（英文） Establishment of biological research linked with community mental health service

研究代表者

富田 博秋 (TOMITA HIROAKI)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：90295064

研究成果の概要（和文）：

被災後の精神保健活動と健康調査に関し、留意点の整理を行った。また、本研究への参加に同意した東日本大震災被災者のうち、心的外傷後ストレス反応が一定水準以上の者とそうでない者の唾液中の遺伝子発現プロファイルの比較を行い、唾液検体を災害ストレスのバイオマーカー研究に用いることの妥当性を多角的に検討した。唾液に含まれるヒト由来の細胞や細菌検体に留意すれば、ストレス研究に有用であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Considerations in conducting mental health promotion and health survey were summarized. Saliva samples from victims of the Great East Japan Earthquake of 2011 were collected upon informed-consent, and difference in comprehensive gene expression profiles of the samples between groups showing high- and low post-traumatic stress responses were analyzed. Data indicated the validity of analyzing saliva samples as an indicator of post-traumatic stress, as long as considerations on proportion of each component cell type in saliva.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

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：脳神経疾患・ストレス・神経科学・社会科学・マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

(1) 生物学的精神医学研究が医療機関ベースでなされている現状：従来、血液などの臨床検体を対象とする精神疾患の生物学的病態解明のための研究は医療機関を受診する罹患者を対象に遂行されることがほとんどである。特定の医療機関を受診する罹患者は地域の中で疾患に罹患したもののうち特定のバイアスがかかっている集団であるため、疾患の本態を捉えるためには地域ベースの集団を対象に研究をデザインすることが望ましく、公衆衛生や社会精神医学研究では行われるものの、生物学的研究は医療機関

ベースで行われることが暗黙の前提となっている。このことは、地域ベースの生物学的研究の体制構築には、関心の共有、実態の把握、説明、協力の要請、検体の採取、移送、保管などに困難や多大な時間と労力を要するなどの現実的制約が大きいこと、また、先例がないため体制構築の道筋が不明瞭であることなどによると考えられる。

(2) 地域ベースの生物学的精神医学研究の必要性：東日本大震災を含む大規模災害に伴う災害ストレス関連疾患は、症状が周囲に認識され難いため医療機関受診に至らないケースが多く、地域精神保

健レベルで有効な医療技術の開発が望まれるが、病気の本態から地域ベースでの調査研究を行わなければその本態に迫ることは困難である。また、今後、医療の体制はより地域に密着した構造に変革していくことが予想され、研究体制のあり方も、情報や関心を地域社会と共有しながら地域に根ざしたものに変わっていくことが望ましいと考えられる。

(3) 地域ベースの生物学的精神医学研究の課題とその克服：一方で地域ベースの生物学的精神医学研究を行うためには、医療機関ベースで行うものとは異なる倫理的、技術的な配慮が必要であると考えられる。本研究は、倫理的、技術的に妥当で望ましい地域ベースの生物学的精神医学のあり方を検討するとともに、地域ベースの生物学的研究を行っていく上で有用な技術の開発を目指す。

2. 研究の目的

本研究は、地域精神保健活動に立脚して地域ベースで精神疾患の生物学的な病態解明を目指す研究を有効に行うための情報を集積し、今後、同様の研究が盛んに行われる素地を作ること大きな目標とする。そのた柵こ、(1)地域住民や地域精神保健活動従事者-の意識調査を行うことで、地域との相互理解を深めながら研究を遂行する上で有用な情報を抽出すること、(2)ストレス負荷による唾液と血硬の免疫細胞の機能、遺伝子発現プロファイルの変化の相関を検討し、地域ベースで血液よりも採取が容易である唾液検体を対象とする生物学的研究の有用性と応用可能性を検討するという目的の2つの調査研究を行う。本研究により地域ベースの生物学的な精神疾患研究の体制づくりの促進、地域ベースの生物学的精神医学研究に有用な技術開発、地域社会-の精神医学研究の普及啓発に貢献することを旨す。

3. 研究の方法

【 研究1：地域精神保健活動に立脚した生物学的精神医学研究のあり方についての地域精神保健活動従事者、地域住民の意識調査 】

本申請研究に関連して行う東日本大震災の災害ストレスの心身への影響を調べる先行調査研究（七ヶ浜町と東北大学医学系研究科との共同事業）により、七ヶ浜町の全被災者約3000名のうち、調査研究に賛同するものを対象に、問診票を用いて健康、生活の状況を調査する。更に、上記の調査研究を行う際に本申請研究への協力の意思を表明したものから、健康調査の結果、健康状態の比較的悪い者200名と比較的良い者200名を抽出する。この対象者にPTSD 臨床診断面接尺度、悲嘆評価尺度などにより、詳細な災害ストレス関連疾患の状態の詳細な評価を行うとともに、唾液3 mlを採取し、こ

の唾液検体の分子遺伝学的性状を解析し、災害ストレス関連疾患の症状の強さに相関して変化する分子遺伝学的変化を特定する。この先行調査および本申請研究は東北大学大学院医学系研究科倫理委員会で妥当性を検討した上で承認を受けた方法に従って行う。

申請者らは、東日本大震災以来、七ヶ浜町役場の保健師らと連携して、七ヶ浜町で個別や集団での健康相談や研修会開催を週1回のペースで行うなどの精神保健活動を行ってきており、上記の調査の進行に伴って、調査の結果、災害ストレスが強く出ている住民の個別の相談や集団での研修会、茶話会の開催を行ったり、刊行物を配布するなどにより情報のフィードバックなどを行う計画である。

本申請研究として、上記の健康調査と詳細調査、唾液採取の工程が終了した時点で、生物学的研究本体とは別個に、七ヶ浜町の被災者3000名全員を対象に、(1) 研究調査の趣旨についての理解を問う質問、(2) 調査の趣旨や手続きのそれぞれについての意見、感想、改善点、要望について問う質問、(3) 医学研究、医療、保健制度全般についての考えを問う質問、(4) 町役場や申請者らが行う精神保健活動の利用状況と感想、改善点などの質問を含む質問票を送付し、無記名での回答の返信を依頼する。地域精神保健活動に従事する関係者や関連する部署の町役場職員にも同様の無記名式の質問票に回答を得ると同時に、対面での聞き取りも行う。

上記の意識調査の結果を、健康調査のみに参加した者と、唾液採取を含む生物学的研究にも参加した者との2群での理解や意識の差を比較検討する。また、説明同意のあり方や研究の進め方について、改善点や配慮すべき点を抽出する。また、町役場や申請者らが行う精神保健活動が、研究調査の理解や意識に及ぼす影響について評価する。上記の解析から、今後、地域ベースの精神医学研究デザインを立案する上で有用な情報を抽出、整理し、論文等で公表する。

【 研究2：地域精神保健活動に立脚した生物学的精神医学研究における唾液検体の有用性と妥当性の検討 】

唾液検体は災害ストレスの心身への評価などの地域ベースの生物学的精神医学研究を推進する上で、有用な研究対象となることが期待される一方、これまでのところ唾液中の生物学的現象解析の技法の開発とその理論的基盤となる情報は乏しいのが現状である。本研究では健康者にストレスタスクを負荷した前後の血液と唾液を採取して、申請者らが世界に先駆けて開発した特定の免疫細胞を単離して、3万種以上の遺伝子発現のプロファイルを解析する技術を用いて、同一個体から採取した唾液検体と血液検体を解析し、唾液と血液中の同一の免疫細胞の間の機能や遺伝子発現プロファイルの相関

を詳細に解析することで、災害ストレスへの反応や精神疾患の病態形成に関わる生物学的指標の特定に有用な情報基盤を得る。

[急性ストレス状態の形成と検体の採取] 健常者(n=6)のストレスタスク(200問程度の計算テスト)前後で唾液5mLおよび血液10mLを採取する。

[唾液と血液からのリンパ球分画] 唾液からリンパ球の共通細胞表面マーカーであるCD45の磁気ビーズ付加抗体を用いて、血液からはMiltenyibiotec社のWhole Blood CD45 Microbeadsを用いてMACS磁気細胞分離法によりCD45陽性リンパ球を単離する。

[RNAの抽出・精製] QIAGEN社のRNA抽出・精製キットを用いて各細胞からTotal RNAを抽出、精製し、核酸等分析装置等でRNA検体の退縮の程度を評価し、分光光度計により、濃度測定を行う。精製されたRNAはマイクロチューブに分注し-80度の冷凍庫に保存しておく。

[マイクロアレイ実験] 精製された24検体のTotal RNA(血液由来リンパ球6検体(健常者6人×2<ストレスタスク前後>)、唾液由来リンパ球;12検体健常者6人×2<ストレスタスク前後>、被災地協力者6人)を各500ngからIllumina社が提供するプロトコールに従ってビオチンラベル化したcRNAを合成する。ビオチンラベル化cRNAをIllumina社のマイクロアレイ SentrrixHuman 6 Expression BeadsChipに18時間ハイブリダイズする。Array上のプローブに非特異的に付着したcRNAを除去した後、付加されたビオチンを蛍光標識する。洗浄を行った後、専用のScannerであるBeadsStationを用いて各プローブ当たりの蛍光強度を定量する。

[データ解析] マイクロアレイの結果からIllumina社が提供するアルゴリズムを用いて各遺伝子の発現量を算出する。健常者における急性ストレス前後でのデータの比較、健常者と罹患者の唾液でのデータの比較、血液-唾液間のデータ比較をすることで、唾液-血液のベースの遺伝子発現の相関性やストレス応答についてのデータの相関性を評価する。

[定量PCR実験とタンパク質定量実験] マイクロアレイ実験により、血液と唾液との間に高い相関性が確認された遺伝子と、唾液のリンパ球で急性ストレスに反応して顕著に発現変化を来す遺伝子につき、特異的なプライマーセットを合成する。また、すでに抽出されているTotalRNAを用いてApplied Biosystems社 Taq Man Reverse Transcription Reagentsを用いプロトコールに従ってOligo dT PrimerによりcDNAを合成する。サイバー・グリーン法による定量RT-PCRにより、Bio-Rad社 CFX96RealtimeSystemにより遺伝子発現を定量し確認する。また各実験工程でのばらつきが偽陽性を引き起こしている可

能性を除くため、各施行を6回以上繰り返した上でSPSS等のソフトウェアを用いた統計解析により、その再現性を評価する。また、マイクロアレイ実験において血液と唾液との間に高い相関性が確認された遺伝子と、唾液のリンパ球で急性ストレスに反応して顕著に発現変化を来す遺伝子がコードしているタンパク質の発現量の変化を免疫測定法やウエスタンブロットティング法により定量し発現変化を確認する。これらの知見は唾液検体を対象に災害ストレスの心身への影響を評価したり、唾液検体から血中の免疫細胞の機能を推測する上で有用である他、唾液検体を対象とする研究手法の開発に有用と考えられる。

4. 研究成果

本研究では、地域精神保健活動に立脚して地域ベースで精神疾患の生物学的な病態解明を目指す研究を有効に行うための情報を集積し、今後、同様の研究が盛んに行われる素地を作ること为目标に下記の調査・研究を行った。(1)被災後の精神保健活動と被災後に行っている健康調査に関する聞き取りを行い、健康調査を行う上での留意点の整理を行った。(2)ストレス負荷による唾液と血液の免疫細胞の機能、遺伝子発現プロファイルの変化の相関を検討し、地域ベースで血液よりも採取が容易である唾液検体を対象とする生物学的研究の有用性と応用可能性を検討するための研究を行った。東日本大震災に被災した者で研究の趣旨を理解し、書面での同意の得られたもののうち、心的外傷後ストレス反応が一定水準以上に顕れている者とほとんど顕れていない者各8名の唾液を採取し、総RNAの抽出、遺伝子発現プロファイルの比較を行うとともに、唾液中の単球、粘膜上皮細胞分画毎の遺伝子発現プロファイルとの比較を行った。更に、この16名とは独立の約50名の唾液検体でも検証することで、唾液検体を災害ストレスのバイオマーカー研究に用いることの妥当性を多角的に検討した。唾液にはヒト由来の多様な細胞とともに細菌検体も含まれているが、このことに留意すれば、ストレス研究に有用であることが示唆された。本研究の成果は地域ベースの生物学的な精神疾患研究の体制づくりの促進と技術開発に貢献するものと期待される。

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 5件)

1) Yoneda Y, Saitsu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Kurotaki N, Tomita H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ogata

K, Naritomi K, Matsumoto N. Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of NFIX cause Sotos-like features. *J Hum Genet*[査読有], 57(3):207-11, 2012 (Mar). doi:10.1038/jhg.2012.7

2) Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N. Mutations in PRRT2 responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions. *J Hum Genet*[査読有], 57(6):399, 2012(June). doi: 10.1038/jhg.2012.23.

3) Okada T, Hashimoto R, Yamamori H, Umeda-Yano S, Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Ikemoto K, Kunii Y, Tomita H, Ito A, Takeda M. Expression analysis of a novel mRNA variant of the schizophrenia risk gene ZNF804A. *Schizophr Res*[査読有], 141(2-3):277-8, 2012(Nov). doi: 10.1016/j.schres.2012.08.015.

4) 富田博秋, 鈴木大輔: 災害によるPTSDの疫学とリスクファクター. 特集 災害ストレスとPTSD; 災害医療の観点から. *Pharma Medica*[査読有] 30 (12), 13-17, 2012 (Dec).

5) 富田博秋 うつ病の死後脳研究によるバイオマーカー探索. *医学のあゆみ*[査読有] 244:496-501. 2012.

[学会発表] (計 12件)

1) Tomita H. Psychological Impact Learned from the 2011 Tohoku Earthquake. UK-Japan Joint Workshop Disaster Risk Reduction (招待講演) 東京[2012/10/4-5]

2) Yu Z, Ono C, Tomita H. Molecular conformational changes in microglia and differentiated monocytic cells induced by therapeutic concentrations of lithium. *Collegium internationale neuro-psychopharmacologicum 28th congress* スウェーデン/ストックホルム[2012/6/3-7]

3) Tomita H, Ono C, Yu Z, Suzuki D, Tsukida M, Ueda Y, Hozawa A, Tsuji I. Multi-faceted approaches to identify social, psychological, and biological factors involved in disaster-related mental health problems 8th APRU Research Symposium on Multi-hazards around the Pacific Rim 仙台[2012/9/21]

4) 小野千晶, 兪 志前, 石井直人, 富田博秋

Gene expression profiling of specific immune cells in peripheral blood samples as a tool for neuropsychological bases of traumatic stress-related diseases. (トラウマ性ストレス関連疾患の精神神経免疫相関機序解明への応用を見据えた末梢血中の免疫細胞の遺伝子発現プロファイリング解析) International Society Traumatic Stress Studies 28th Annual Meeting (第28回 国際トラウマティック・ストレス学会) アメリカ/ロサンゼルス [2012/11/1]

5) 上田 譲, 鈴木大輔, 築田美抄, 金吉晴, 辻 一郎, 富田博秋 The influence of individual physical-social characteristics on mental health among the Great East Japan Earthquake victims. (沿岸部被災者の精神的健康に対する生活状況および個人的特性の影響) International Society Traumatic Stress Studies 28th Annual Meeting (第28回 国際トラウマティック・ストレス学会) アメリカ/ロサンゼルス [2012/11/2]

6) Suzuki D, Tsukida M, Ueda Y, Kim Y, Tsuji I, Tomita H. Habits of Alcohol Use and Cigarette Smoking in Disaster Victims Relate to Mental Health. International Society Traumatic Stress Studies 28th Annual Meeting (第28回 国際トラウマティック・ストレス学会) アメリカ/ロサンゼルス [2012/11/2]

7) 築田美抄, 上田 譲, 鈴木大輔, 金吉晴, 辻 一郎, 富田博秋 Social network and mental health conditions among the Great East Japan Earthquake victims. (人のつながりと被災者の精神的健康) International Society Traumatic Stress Studies 28th Annual Meeting (第28回 国際トラウマティック・ストレス学会) アメリカ/ロサンゼルス [2012/11/2]

8) 富田博秋 災害精神医学と被災地精神保健の現況と展望 第11回日本トラウマティック・ストレス学会 福岡県春日市 [2012/6/10]

9) 小野千晶, 兪 志前, 石井直人, 富田博秋 末梢血中の特定の免疫細胞の遺伝子発現プロファイリング解析~トラウマ性ストレス関連疾患の精神神経免疫相関機序解明への応用を見据えて~ 第11回日本トラウマティック・ストレス学会 福岡県春日市 [2012/6/10]

10) 鈴木大輔, 築田美抄, 上田 譲, 金吉晴, 辻 一郎, 富田博秋 被災者の飲

酒・喫煙習慣と精神的健康との関連
第11回日本トラウマティック・ストレス学
会 福岡県春日市[2012/6/10]

11) 上田 讓, 鈴木大輔, 築田美抄, 金
吉晴, 辻 一郎, 富田博秋 沿岸部被災者の
精神的健康に対する生活状況および個人的
特性の影響 第11回日本トラウマティック・
ストレス学会 福岡県春日市[2012/6/10]

12) 築田美抄, 上田 讓, 鈴木大輔, 金
吉晴, 辻 一郎, 富田博秋 「人のつなが
り」と被災者の精神的健康 第11回日本トラ
ウマティック・ストレス学会 福岡県春日市
[2012/6/10]

[図書] (計 1件)

- 1) 富田 博秋 東日本大震災を分析する. 明
石書店 2013 (印刷中)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田 博秋 (TOMITA HIROAKI)
東北大学・災害科学国際研究所・教授
研究者番号: 50295064

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし