

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461726

研究課題名(和文)統合失調症患者での死後脳における脂肪酸異常のケース・コントロール研究

研究課題名(英文) Fatty acid composition in the postmortem frontal cortex of patients with schizophrenia: A case-control study

研究代表者

濱崎 景 (Hamazaki, Kei)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・准教授

研究者番号：50533494

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：死後脳の前頭葉(特に眼窩前頭皮質)では、ドコサヘキサエン酸(DHA)が低いことが知られている。本研究では統合失調症(n=95)および対照(n=93)の死後脳前頭葉(ブロードマン8)における、脂肪酸および脂肪酸結合蛋白(fatty acid-binding protein: FABP)の発現を測定した。DHAでは変化は認められなかった。アラキドン酸で低下が認められたが、ロジスティック回帰分析の結果から統合失調症の有無とは関連性は認められなかった。またFABP3, 5, 7では、統合失調症でFABP 3のみ有意な低下が認められた。

研究成果の概要(英文)：Abnormal levels of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), particularly docosahexaenoic acid (DHA), have been found in the postmortem frontal cortex, particularly the orbitofrontal cortex, of patients with schizophrenia. Altered mRNA expression of fatty acid binding protein (FABP) 5 and FABP7 has likewise been reported. This study investigated whether PUFAs in the frontal cortex [Brodmann area (BA) 8] and mRNA expression of FABP3, 5, and 7 were different between patients with schizophrenia (n = 95) and unaffected controls (n = 93). No significant differences were found in DHA between the groups. Although arachidonic acid (AA) levels were significantly decreased in the schizophrenia group, no association was found between AA and schizophrenia on logistic regression analysis. Only FABP3 expression was significantly lower in the schizophrenia group than in the control group.

研究分野：脂質代謝、疫学、公衆衛生学

キーワード：統合失調症 多価不飽和脂肪酸 脂肪酸結合蛋白 死後脳

1. 研究開始当初の背景

統合失調症と脂質栄養学的分野との関連、とりわけ n-3 系多価不飽和脂肪酸については、ここ 10 数年の間に様々な報告がされるようになってきた。疫学調査としては、統合失調症や気分障害での血液中の n-3 系多価不飽和脂肪酸が健常者に比べて有意に低いことが報告されている [Freeman, M.P., et al. J Clin Psychiatry, 67; 1954-1967, 2006]。また、死後脳についても前頭葉 (特に眼窩前頭皮質) で n-3 系多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸が減少しているという報告がされている [McNamara, R.K., et al. Schizophr Res, 91; 37-50, 2007]。我々は以前、統合失調症および双極性障害における死後脳海馬での n-6 系多価不飽和脂肪酸 (n-3 系多価不飽和脂肪酸と機能的に拮抗する) が減少していることを報告した [Hamazaki, K, et al. J Psychiatr Res, 44; 688-693, 2010]。さらに死後脳扁桃体において、統合失調症、双極性障害、大うつ病、対照者 (非精神疾患) の脂肪酸組成を調査したところ、統合失調症では、n-6 系多価不飽和脂肪酸であるドコサテトラエン酸が対照群に比べて有意に低下しているのを認めた [Hamazaki K, et al. J Psychiatr Res. 46; 1024-1028, 2012]。同様の調査を死後脳嗅内皮質で行ったところ、やはり統合失調症でドコサテトラエン酸が有意に低下し、また大うつ病では n-3 系多価不飽和脂肪酸であるドコサペンタエン酸が低下していた [Hamazaki K, et al. Psychiatry Res 210:346-350, 2013]。統合失調症患者に n-3 系多価不飽和脂肪酸を投与する介入試験では、あまり効果がないように思われていた。実際に 2006 年に Freeman ら [J Clin Psychiatry, 67; 1954-1967, 2006] が行ったメタ分析によると、その有効性は認められていなかった。ところがオーストラリアからの報告によると [Amminger GP, et al. Arch Gen Psychiatry 67:146-154, 2010]、精神疾患の前駆状態にある集団では効果が認められた。若年者 (13~25 歳) 81 人を対象とした二重盲検法試験では、精神病的障害発症を有意に予防しており、投与終了後 40 週間でも効果が持続していた。上記のこのことより、統合失調症の“発症脆弱性基盤”あるいは“顕在発症”に関わる栄養素の一つとして、多価不飽和脂肪酸が関与しているのではないかと考えられるようになってきた。また統合失調症に限らず、各精神疾患の病名間の生物学的境界ははっきりしておらず、脂肪酸代謝異常は気分障害や広汎性発達障害スペクトラムなどでも報告されてきている。そこで、病因に関して最も重要と思われる前頭葉の多価不飽和脂肪酸を、患者 95 名 + 対照者 93 名の死後脳サンプルを使ってケース・コントロール研究を行った。今までも前頭葉 (眼窩前頭皮質) の研究はあったが、患者 21 名、対照者 26 名という比

較的小さなものであり [McNamara, R.K., et al. Schizophr Res, 91; 37-50, 2007]、サブ解析に耐えうるサイズではなかった。今回はさらにサブ解析を行うことにより、クロロプロマジンなどの抗精神病薬の影響あるいは、自殺の有無における影響等についても解析した。

2. 研究の目的

(1) 統合失調症患者 95 名と対照者 93 名の死後脳における脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーにより調査した。統計学的手法を用いて様々な交絡因子で補正した上でロジスティック回帰分析によりオッズ比を求めた。

(2) 多価不飽和脂肪酸の取り込みや輸送、核内受容体と複合体を形成して他の遺伝子の発現調整に関わっている脂肪酸結合蛋白 (fatty acid-binding protein: FABP) も測定した。

3. 研究の方法

(1) 死後脳 (ブロードマンエリア (BA) 8) サンプルについて: オーストラリアの National Neuroscience Facility より、すでに死後脳サンプル (統合失調症 95 名 + 対照者 93 名) が、理化学研究所脳科学総合研究センター (BSI) へ研究用に提供を受けており、このサンプルを利用して脂肪酸を測定した。患者および対照の背景を表 1 に示す。

表 1
患者および対照の背景

| | 統合失調症 n = 95 | 対照 n = 93 | p 値 |
|-------------|-----------------|--------------|---------|
| 死亡時の年齢 (歳) | 45.9 ± 17.4 | 47.9 ± 17 | 0.43 |
| 性別 (男性/女性) | 70 / 25 | 73 / 20 | 0.50 |
| 死後から処理までの時間 | 41.7 ± 13.9 | 41.8 ± 14 | 0.98 |
| 保存期間 (年) | 17.2 ± 4.2 | 16.4 ± 4.5 | 0.26 |
| 脳組織の pH | 6.27 ± 0.24 | 6.16 ± 0.3 | 0.03 |
| 自殺数 (n) | 44 | 1 | <0.0001 |
| 脳の側 (左/右) | 84 / 11 | 83 / 10 | 1.00 |

p 値: 2 x 2 カテゴリー変数にはカイ二乗検定
連続変数には T 検定を使用した。

(2) 脂肪酸測定: 死後脳サンプルはドライアイス上で処理し、PBS (pH 7.4) でホモジナイズした後、Bligh and Dyer 法 [Bligh EG, et al. Can J Biochem Physiol 37; 911-997, 1959] にて総脂質を抽出した。その後、薄層クロマトグラフィーより総リン脂質分画を分離した。さらに塩酸メタノールによりメチル化後、キャピラリーカラム DB-225 (0.25 mm, 30 m length id, 0.25 μm; J&M Scientific, Folsom, CA) を用いて、ガスクロマトグラフ GC-2014 (島津製作所, 京都) にて測定した。昇温プログラムについては、GC - solution (島津製作所, 京都) にてコントロールされた。

(3) FABP 測定: FABP 3, 5, 7 の mRNA 発現量を Real-time PCR 法にて測定し、内部標準として GAPDH 遺伝子の発現量を使用した。

(4) 統計解析: 両群間の比較ではマン=ホイットニーのU検定を行った。オッズ比およびトレンド検定については、5つの共変量(性別、年齢、死後から脳摘出までの間隔、脳のpH、ミエリンファクター[Tatebayashi, Y, et al. Transl Psychiatry, 2012; 2, e204])で補正し、ロジスティック回帰分析にて算出した。

4. 研究成果

(1) 脂肪酸について: 脂肪酸の結果を表2に示す。両群においてドコサヘキサエン酸では特に有意差は認められなかった。以前より低下が指摘されているアラキドン酸については、統合失調症で有意な低下が認められたが、ロジスティック回帰分析によるオッズ比では有意な関連は認められなかった。また、今まであまり報告のなかった飽和脂肪酸では、ミリスチン酸(14:0)、ペヘン酸(22:0)、リグノセリン酸(24:0)で統合失調症で有意な上昇が認められた。さらに、以前は一価不飽和脂肪酸であるネルボン酸(24:1 n-9)の血中低値が、精神病高リスク者の精神病発症を予測する独立した因子であることが報告されていたが[Amminger, G.P., et al. Mol. Psychiatry 17:1150-1152, 2012]、今回の死後脳サンプルでは、逆に統合失調症で有意に高いという結果であった。

表 2. 前頭葉におけるリン脂質中脂肪酸組成

| Fatty acids (area %) | 統合失調症 (n=95) | | 対照 (n=93) | | p 値 |
|----------------------|--------------|------------------|-----------|------------------|---------|
| | 中間値 | 0.25 0.75 | 中間値 | 0.25 0.75 | |
| 飽和脂肪酸 | | | | | |
| ミリスチン酸 | 0.43 | (0.39, 0.45) | 0.40 | (0.37, 0.44) | 0.003 |
| パルミチン酸 | 21.68 | (20.61, 22.61) | 21.86 | (20.87, 22.54) | 0.47 |
| ステアリン酸 | 24.98 | (24.30, 25.62) | 25.11 | (24.60, 25.55) | 0.27 |
| アラキジン酸 | 0.23 | (0.21, 0.25) | 0.23 | (0.21, 0.25) | 0.82 |
| ペヘン酸 | 0.14 | (0.11, 0.17) | 0.12 | (0.10, 0.14) | 0.00004 |
| リグノセリン酸 | 0.30 | (0.20, 0.48) | 0.22 | (0.16, 0.31) | 0.001 |
| 飽和脂肪酸の小計 | 47.91 | (46.02, 49.07) | 47.88 | (46.70, 48.70) | 0.82 |
| 一価不飽和脂肪酸 | | | | | |
| パルミトレイン酸 | 0.50 | (0.46, 0.57) | 0.49 | (0.45, 0.56) | 0.45 |
| オレイン酸 | 16.28 | (15.28, 17.86) | 15.97 | (15.06, 17.01) | 0.14 |
| ヴァクセン酸 | 3.78 | (3.58, 4.07) | 3.71 | (3.42, 4.01) | 0.12 |
| ゴンド酸 | 0.69 | (0.54, 0.90) | 0.62 | (0.51, 0.80) | 0.07 |
| エルシン酸 | 0.06 | (0.04, 0.09) | 0.06 | (0.04, 0.08) | 0.13 |
| ネルボン酸 | 1.20 | (0.78, 1.76) | 0.88 | (0.65, 1.29) | 0.002 |
| 一価不飽和脂肪酸の小計 | 22.51 | (21.02, 24.48) | 21.95 | (20.39, 23.25) | 0.053 |
| n-3 多価不飽和脂肪酸 | | | | | |
| ドコサペンタエン酸(n-3) | 0.32 | (0.28, 0.37) | 0.34 | (0.28, 0.39) | 0.20 |
| ドコサヘキサエン酸 | 13.81 | (12.39, 14.51) | 14.12 | (13.08, 14.75) | 0.074 |
| n-3多価不飽和脂肪酸の小計 | 14.12 | (12.72, 14.81) | 14.55 | (13.36, 15.12) | 0.06 |
| n-6 多価不飽和脂肪酸 | | | | | |
| リノール酸 | 0.70 | (0.59, 0.79) | 0.70 | (0.60, 0.80) | 0.64 |
| エイコサジエン酸 | 0.10 | (0.09, 0.12) | 0.10 | (0.08, 0.11) | 0.13 |
| ジホモ - リノレン酸 | 0.90 | (0.78, 0.98) | 0.89 | (0.80, 1.03) | 0.55 |
| アラキドン酸 | 8.42 | (7.89, 8.92) | 8.65 | (8.21, 9.11) | 0.02 |
| ドコサテトラエン酸 | 5.10 | (4.74, 5.51) | 5.14 | (4.79, 5.48) | 0.95 |
| n-6多価不飽和脂肪酸の小計 | 15.24 | (14.65, 15.85) | 15.58 | (14.79, 16.20) | 0.02 |
| n-6 / n-3 | 1.11 | (1.03, 1.21) | 1.11 | (1.01, 1.18) | 0.49 |

p 値: マン・ホイットニーのU検定

(2) FABP について: 先行研究としては、すでに分担研究者の吉川らのグループにより、統合失調症患者の BA46 では FABP7 [Watanabe A, et al. PLoS Biol. 5:e297, 2007]および

FABP5 [Shimamoto, C. et al. Hum. Mol. Genet. 23,6495-6511, 2014]の発現が、健常者に比べて有意に増加していることが報告されている。また、性差によるサブ解析では、男性だけに有意差が認められ、女性では認められていない。今回、対照と統合失調症でノンパラメトリックな比較を行った結果、統合失調症で FABP3のみ有意に低下していた。また、性差によるサブ解析では、女性よりも男性でこの差が大きかった。更に各脂肪酸と FABP 3, 5, 7 との相関関係を見たところ、FABP 3 と飽和脂肪酸であるペヘン酸(22:0)とリグノセリン酸(24:0)とに有意な負の相関関係が認められた。一般的に FABP 3 は n-6 系多価不飽和脂肪酸(アラキドン酸を含む)と高い親和性を持つことが知られているが、今回、統合失調症患者でアラキドン酸が有意に低下しており、そのために代償的に FABP 3 の発現が増加したのではないかと考えられた。しかし、その一方でアラキドン酸と FABP 3 には相関関係が示されず、FABP 3 との関与のみで説明することはできない。今後この分野における更なる調査が必要と思われた。

(3) サブ解析

Cheon ら [Cheon Y, et al. J Neurochem 119:364-76, 2011]の報告によると、クロルプロマジンなどの抗精神病薬の投与により脳内でのアラキドン酸の取り込み率やターンオーバーが低下することが知られているが、本研究において抗精神病薬の投与されていた統合失調症患者(n=83)と非投与群(n=12)で脂肪酸を比較してみた。その結果、総 n-6 多価不飽和脂肪酸(すなわちリノール酸+エイコサジエン酸+ジホモ リノレン酸+アラキドン酸+ドコサテトラエン酸の合計)のみで、統計学的に有意に高値を示した。さらに、クロルプロマジン換算投与量と総 n-6 系多価不飽和脂肪酸との関連を検討したが特に有意な相関関係は認められなかった。以前より、末梢血多価不飽和脂肪酸(特に n-3 系多価不飽和脂肪酸)は自殺完遂[Lewis MD, et al. J Clin Psychiatry 72:1585-90, 2011]や自殺企図[Huan M, H et al. Biol Psychiatry 56:490-6, 2004]とに関連があることが指摘されている一方で、死後脳研究[Lalovic A, et al. J Psychiatry Neurosci 32:363-70, 2007, McNamara RK, et al. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 80:19-26, 2009]では関連がないとされる報告もあり、一致した見解は得られていない。そこで今回、統合失調症の有無にかかわらず、自殺が死因の 45 名とその他 143 名を比較したところ、自殺者でリノール酸、アラキジン酸、ドコサペンタエン酸が低下しており、それに対して n-6/n-3 比、エルカ酸、ドコサテトラエン酸では高値を示した。これらの意味するところは今後の検討が必要であるが、いずれにしても従来報告されていた末梢血中の n-3 低下とは異なるが、死後脳研究の報告とは合致する結果であった。

サブ解析の結果より、脂肪酸代謝に様々な因子が関与している可能性が示唆されたが、今後はさらにホスホリパーゼなどの酵素の検討も必要である。

今回の結果は、作業仮説（統合失調症の前頭葉で多価不飽和脂肪酸、特に n-3 系多価不飽和脂肪酸が低下）の通りにはならなかったが、研究自体、サンプルサイズとしては未だかつてない規模で行われており、この部位における n-3 系多価不飽和脂肪酸の違いはなかったという知見は重要である。今後はさらに範囲を拡大して、脂肪酸だけでなく上述したような関連する酵素なども調べる必要があると考えられた。

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)

Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Iwayama Y, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T. Fatty acid composition and fatty acid binding protein expression in the postmortem frontal cortex of patients with schizophrenia: A case-control study. Schizophr Res. 2016 Mar;171(1-3):225-32.

〔学会発表〕(計 3 件)

Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: A Case-control Study for Fatty Acid Composition of the Postmortem Prefrontal Cortex from Patients with Schizophrenia. International Society for Nutritional Psychiatry Research 2014 meeting; 2014 Apr 3-4; Melbourne (Australia).

Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: A Case-control Study for Fatty Acid Composition of the Postmortem Prefrontal Cortex from Patients with Schizophrenia. 11th Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids; 2014 Jun 28- Jul 2; Stockholm (Sweden).

浜崎景, 前川素子, 豊田倫子, Brian Dean, 浜崎 智仁, 吉川武男. 統合失調症の死後脳前頭葉における脂肪酸組成について. 日本脂質栄養学会第 23 回大会; 2014 Aug 29-30; 東京.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浜崎 景 (HAMZAKI, Kei)
富山大学・大学院医学薬学研究部・公衆衛生学・准教授
研究者番号: 50533494

(2) 研究分担者

吉川 武男 (YOSHIKAWA, Takeo)
独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・チームリーダー
研究者番号: 30249958

(3) 連携研究者

()

研究者番号: