

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861040

研究課題名(和文)カルボニルストレス関連分子をバイオマーカーとした統合失調症の病態解明

研究課題名(英文) Investigation to elucidate the pathophysiology of schizophrenia using carbonyl stress biomarkers

研究代表者

宮下 光弘 (MIYASHITA, Mitsuhiro)

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・主席研究員

研究者番号：60532132

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：一部の統合失調症におけるカルボニルストレスの亢進について、新たな大規模コホートで再現性を確認した。統合失調症156名、健常者221名で検証した結果、患者群でのペントシジンの有意な上昇とビタミンB6の有意な低下を再確認した。また、カルボニルストレスが亢進している患者群について、「入院患者の割合が高い」、「入院期間が長期に及ぶ」、「抗精神病薬の量が多い」という治療抵抗性に類似した臨床特徴を抽出した。さらにビタミンB6と精神症状が負に相関することを見出した。本研究の成果は、治療抵抗性統合失調症におけるビタミンB6の治療が、安全かつ有効な治療法となる可能性を示唆していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated reproducibility of enhanced carbonyl stress in another new larger cohort of schizophrenic patients. As a result of the investigation, we found significant increase of pentosidine levels and decrease of serum pyridoxal in schizophrenia, respectively when compared to those of control subjects. In addition, we found that patients with enhanced carbonyl stress shared many clinical features with treatment-resistant schizophrenia. These include a higher proportion of inpatients, longer durations of hospitalization, and higher doses of antipsychotic medication, compared with patients without carbonyl stress. Interestingly, psychopathological symptoms showed a tendency towards negative association with serum vitamin B6 levels. Our results support the idea that treatment regimes reducing carbonyl stress, such as supplementation of pyridoxamine, could provide novel therapeutic benefits for this subgroup of patients.

研究分野：内因性精神疾患研究

キーワード：カルボニルストレス 統合失調症 ペントシジン ビタミンB6

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は幻覚や妄想などの陽性症状、感情鈍麻や意欲減退などの陰性症状を主症状とし、最近では認知機能障害をきたすことも知られており、急性増悪と寛解を繰り返しながら慢性的に経過する精神疾患である。生涯有病率は約 0.3~0.7%と身近な疾患であり、思春期から青年期にかけて発症することが多い。回復には生物学的治療のみならず心理社会的アプローチが必須である。しかしながら本疾患の原因や病態はほとんど解明されておらず、目安となる生物学的指標も見出されていない。また異種性の問題もあり、個々のニーズに応じたきめ細やかな診断や治療が実現しているとは言い難い現状にある。2010年、我々は遺伝子解析によって統合失調症の病態解明を試み、グリオキサラーゼ1(以下 GL01)遺伝子に稀なフレームシフト変異を同定して以来、カルボニルストレスという代謝異常に焦点を当て、研究を精力的に進めてきた。

反応性に富む有害なカルボニル化合物の産生増加や、カルボニル化合物の解毒システムの破綻によって引き起こされる代謝の異常をカルボニルストレスという。GL01は、抗酸化物質であるグルタチオンの存在下で、カルボニル化合物を無害な乳酸に代謝する酵素であり、カルボニル解毒システムにおける重要な構成分子である。GL01の活性が低下するとカルボニル化合物の代謝が障害されることでカルボニルストレスが亢進し、非酵素的反応(メイラード反応)を経て終末糖化産物(Advanced glycation end-products; AGEs、以下 AGEs)が蓄積する。AGEsは細胞膜表面にある AGEs 受容体(Receptor for AGEs; RAGE)に結合し、細胞内の炎症シグナルを活性化することで、糖尿病、動脈硬化、心血管障害、腎機能障害などの内科疾患やアルツハイマー病などの中枢神経疾患の病態に深く関与する有害な分子である。一方、AGEsの消去にはビタミン B6 が大きな役割を果たしている。3種類のビタミン B6(ピリドキサミン、ピリドキサル、ピリドキシン)のうち、ピリドキサミンだけが AGEs をスカベンジして消去する機能を有しており、ピリドキサミンの枯渇は他の2種類のビタミン B6 を低下させることも知られている。

我々は、多発家系の発端者に焦点を当て、カルボニル化合物の解毒酵素である GL01 に着目した網羅的変異探索を行った結果、GL01の第一エクソンに稀なフレームシフト変異を持つ1症例を同定した。フレームシフトを生じていた患者では、GL01の遺伝子発現量、蛋白発現量ともに健常人の50%にまで低下し、酵素活性も半分に低下していたため、カルボニル化合物の解毒システムが破綻し、代表的な AGEs であるペントシジンの蓄積とビタミン B6 の低下というカルボニルストレスの亢進が生じていた。また、統合失調症46名、健常人61名を比較したところ、統合失調症

の約2割でカルボニルストレスが亢進することを明らかにした。以上のように、GL01の稀なフレームシフト変異を同定して以降、一般の統合失調症の約2割に数衍可能なカルボニルストレスという代謝異常の関与を見出すことに成功した。

2. 研究の目的

上述した背景にもとづき、本研究では以下の目的を設定した。

- (1) 統合失調症における、カルボニルストレスの亢進の再現性を大規模かつ新たなコホートで検証する。
- (2) カルボニルストレスが亢進する統合失調症の臨床特徴を明らかにし、ビタミン B6 の治療薬としての可能性について検証する。
- (3) カルボニルストレス関連バイオマーカー(ペントシジン、ビタミン B6)を縦断的に追跡し、病態との関連性を明らかにする。

3. 研究の方法

研究の目的で示した(1)に関する研究の方法は以下のとおりである。

統合失調症患者156名と健常人221名で血漿ペントシジン濃度とビタミン B6 濃度を比較検討する。血漿ペントシジンは糖尿病や腎機能障害で上昇することが知られているため、該当者を除外して解析する。

研究の目的で示した(2)に関する研究の方法は以下のとおりである。

カルボニルストレスを呈する患者の臨床特徴について、カルボニルストレスを反映する二つの有力なバイオマーカー候補分子であるペントシジンとビタミン B6 を用いて精査する。糖尿病と腎機能障害を除外した163名の統合失調症患者を4群に分類する。分類方法は、第1群(ペントシジン正常かつビタミン B6 正常群)、第2群(ペントシジン正常かつビタミン B6 低下群)、第3群(ペントシジン高値かつビタミン B6 正常群)、第4群(ペントシジン高値かつビタミン B6 低下群)とする。検体収集時の本人調査とカルテ調査を実施し、各群の臨床特徴を比較検討する。また、統合失調症の精神症状評価尺度である Positive And Negative Syndrome Scale(以下、PANSS)を用いて、ペントシジンやビタミン B6 との関連性を検討し、ビタミン B6 の治療薬としての可能性を検証する。

研究の目的で示した(3)に関する研究の方法は以下のとおりである。

統合失調症患者を追跡し、ペントシジンやビタミン B6 と糖化指標、腎機能、GL01 活性、抗精神病薬量や臨床項目との関連性を検証する。

4. 研究成果

研究の目的(1)についての成果を以下に示す。

先行研究に則って糖尿病、腎機能障害を除外した上で、年齢を調整した統合失調症 156 名、健常者 221 名で検証したところ、患者群と健常者群の血漿ペントシジン濃度はそれぞれ、 67.7 ± 64.9 ng/mL, 41.9 ± 11.1 ng/mL であり、患者群での有意な上昇を再確認した ($p < 0.0001$)。また、患者群と健常者群の血清ビタミン B6 濃度はそれぞれ、 7.7 ± 4.9 ng/mL と 10.2 ± 5.5 ng/mL と患者群で有意に低下していることも再確認した ($p < 0.0001$) 《図 1 参照、雑誌論文(4) から引用し改変》。さらに、健常者の平均値+2SD をカットオフポイントとしてペントシジン高値群を抽出し、さらにビタミン B6 の値が正常以下であるカルボニルストレス群を抽出すると、統合失調症の 11.8% (156 名中 18 名) でカルボニルストレスの亢進を認めた。一方、健常者群ではわずか 0.01% (221 名中 1 名) であった。以上から、一部の統合失調症におけるカルボニルストレスの亢進は再現性の高い現象であり、ペントシジンのバイオマーカーとしての有用性が改めて実証された。以上の結果をまとめて、Psychiatry and Clinical Neuroscience 誌に発表した。

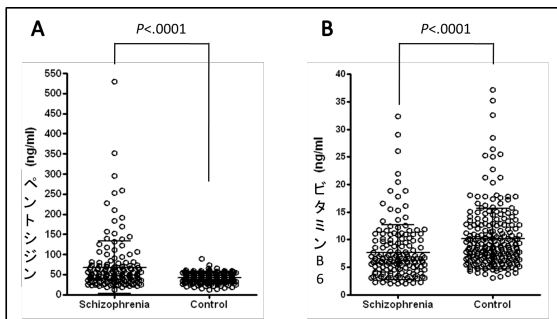


図1. 統合失調症における血漿ペントシジンの蓄積(A)と血清ビタミンB6(ピリドキサーールの枯渇(B)の再現性(統合失調症156名、健常者221名で比較。糖尿病、腎機能障害は除く)

研究の目的(2)についての成果を以下に示す。

カルボニルストレスを呈する患者群(第4群、26名、 51.4 ± 11.7 歳、男性17名、女性9名)では、カルボニルストレスの無い患者群(第1群:67名、 46.9 ± 14.7 歳、男性28名、女性39名)と比較して、入院患者の割合が高く(第4群:80.8%、第1群:23.9%、 $p < 0.0001$)入院期間が4.2倍と長期に及び(第4群: 17.4 ± 16.9 、第1群 4.2 ± 9.2 、 $p < 0.001$ 、単位:年)投与されている抗精神病薬の量が多い(第4群: 1143.9 ± 743.6 、第1群 773.8 ± 652.4 、 $p < 0.05$ 、単位:mg/日、CP換算)という特徴が明らかになった。この特徴は Kane らが定義する治療抵抗性統合失調症の特徴に類似していると考えられた。

さらに163名中、PANSS面接の同意が得られた49名の患者群で、年齢、抗精神病薬投与量、治療環境(入院・外来)などの交絡因

子を独立変数として組み入れた上で、ペントシジン、ビタミン B6 と PANSS スコアとの関連を多重回帰分析で検討した。その結果、PANSS のトータルスコア、陽性症状スコア、総合精神病理スコアにおいて、ビタミン B6 が独立した負の相関因子であり得ることも見出した《表1参照。雑誌論文(3)から引用し改変》。現段階では治療抵抗性統合失調症に対して科学的根拠を有する有効な治療薬は、クロザピンだけである。しかしながら、無顆粒球症や糖代謝異常など致死的な副作用を生じることが稀ではない。本研究の成果は、治療抵抗性統合失調症におけるビタミン B6 の治療が、安全かつ有効な治療法となる可能性を示唆している。以上の結果をまとめて、Schizophrenia Bulletin 誌に発表した。

我々は医師主導型治験において、ビタミン B6(ピリドキサミン)を10名の統合失調症患者に投与した。その結果、2名で顕著な症状の改善を認めた。また、他の1名ではペントシジンの減少を伴った症状の改善を認めた。さらに、薬剤性パーキンソニズムの改善も4例で認めている。現在、治験の結果をまとめて、論文として公表する予定である。

表1. PANSS とペントシジン、ビタミン B6 の関連

	臨床因子	調整済重決定係数	p-値
陽性症状尺度	抗精神病薬	0.317	0.0016
	ピリドキサール		0.0133
	入院/外来		0.0344
陰性症状尺度	抗精神病薬	0.380	0.0028
	入院/外来		0.0032
	年齢		0.0130
総合精神病理	抗精神病薬	0.384	0.0004
	ピリドキサール		0.0336
	入院/外来		0.0374
	年齢		0.0973
合計スコア	抗精神病薬	0.402	0.0010
	入院/外来		0.0013
	ピリドキサール		0.00148

研究の目的(3)についての成果を以下に示す。

採血時に入院していた患者74名、外来に通院していた患者152名を対象に、入院患者の場合は、退院の可否、退院後の再入院の有無を、外来通院患者の場合は入院の有無をそれぞれ調査した。入院患者56名(平均年齢 45.9 ± 12.5 歳、男女比=21/34)を前向きに追跡した結果、採血時にペントシジンが正常であった群と比較して、ペントシジン高値群では、退院できなかった患者の割合が2.7倍に達することを見出した ($p = .0083$, Fisher's Exact test)。同様に、外来通院患者136名

の予備的検討では、ペントシジン高値群で再入院を要する患者数が 10%ほど増加するという所見を得ている。以上の結果を取りまとめて論文として公表する予定である。

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 6 件)

- (1) Makoto Arai, Mitsuhiro Miyashita, Akiko Kobori, Tomoe Ichikawa, Kazuya Toriumi, Yasue Horiuchi, Sachiko Hatakeyama, Masanari Itokawa : Carbonyl stress and schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* (68): 655-665, 2014. (査読有) doi: 10.1111/pcn.12216.
- (2) Itokawa M, Miyashita M, Arai M, Miyata T : Carbonyl stress in schizophrenia. *Biochemical Society Transactions* 42 (2): 468-472, 2014. (査読有). doi: 10.1042/BST20140044.
- (3) Mitsuhiro Miyashita, Makoto Arai, Akiko Kobori, Tomoe Ichikawa, Kazuya Toriumi, Kazuhiro Niizato, Kenichi Oshima, Yuji Okazaki, Takeo Yoshikawa, Naoji Amano, Toshio Miyata, and Masanari Itokawa : Clinical Features of Schizophrenia With Enhanced Carbonyl Stress. *Schizophrenia Bulletin* 40 (5): 1040-1046, 2014. (査読有). doi:10.1093/schbul/sbt129.
- (4) Mitsuhiro Miyashita, Makoto Arai, Hiroko Yuzawa, Kazuhiro Niizato, Kenichi Oshima, Itaru Kushima, Ryota Hashimoto, Motoyuk Fukumoto, Shinsuk Koike, Tomoko Toyota, Hiroshi Ujike, Tadao Arinami, Kiyoto Kasai, Masatoshi Takeda, Norio Ozaki, Yuji Okazaki, Takeo Yoshikawa, Naoji Amano, Toshio Miyata, Masanari Itokawa : Replication of enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* (68): 83-84, 2014. (査読有) letters to the editor. doi: 10.1111/pcn.12081.
- (5) 宮下光弘、新井誠、市川智恵、鳥海和也、小堀晶子、天野直二、糸川昌成. カルボニルストレスからみた治

療抵抗性統合失調症の理解と今後の展開, *臨床精神薬理* 17 (12), 1631-1636, 2014, (査読無)

- (6) 宮下光弘、新井誠、市川智恵、鳥海和也、小堀晶子、天野直二、糸川昌成 : カルボニルストレスという代謝異常と統合失調症: 体に負担の少ないビタミン B6 による治療法の研究. 和田健編、総合病院精神医学 第 25 巻 (3): 254-261, 2013, (査読有)

[学会発表](計 5 件)

- (1) 宮下光弘、新井誠、小堀晶子、鳥海和也、堀内泰江、市川智恵、新里和弘、大島健一、高橋克昌、石本佳代、徳永太郎、岡崎祐士、吉川武男、天野直二、宮田敏男、糸川昌成. カルボニルストレス性統合失調症におけるビタミン B6 補充臨床試験. 第 10 回日本統合失調症学会. 都市センターホテル(東京都・千代田区) [2015/03/27]
- (2) 宮下光弘、ビタミン B 群欠乏症、第 23 回日本臨床精神神経薬理学会、スタディグループ 3、統合失調症様症状を呈する身体疾患の鑑別、沖縄コンベンションセンター(沖縄県・宜野湾市) [2013/10/24-26]
- (3) Mitsuhiro Miyashita, Makoto Araia, Akiko Koboria, Tomoe Ichikawaa, Kazuya Toriumia, Hiroko Yuzawab, Izumi Noharaa, Mayumi Araia, Nanako Obataa, Yuji Okazakic, Takeo Yoshikawad, Naoji Amanoe, Masanari Itokawa. Clinical features of schizophrenia with enhanced carbonyl stress, 11th world congress of biological psychiatry, Kyoto, Japan, 23-27/June/2013.
- (4) 宮下光弘、新井誠、市川智恵、鳥海和也、小堀晶子、新井麻友美、小幡菜々子、岡崎祐士、吉川武男、天野直二、糸川昌成、カルボニルストレス性統合失調症の臨床特徴、第 109 回日本精神神経学会、福岡国際会議場・福岡サンパレスホテル&ホール(福岡県・福岡市) [2013/5/23-25]
- (5) 宮下光弘、新井誠、小堀晶子、市川智恵、鳥海和也、新井麻友美、小幡菜々子、野原泉、大島健一、新里和弘、岡崎祐士、

吉川 武男、天野 直二、糸川 昌成、カルボニルストレスを呈する統合失調症の臨床特徴 第8回統合失調症学会 浦河町総合文化会館、浦河ウエリントンホテル（北海道・浦河町）[2013/0419-20]

〔図書〕(計 1件)

(1) 宮下光弘、新井誠、市川智恵、鳥海和也、小堀晶子、天野直二、糸川昌成：統合失調症の臨床試験、糸川昌成編、書籍「メンタル医療～原因解明と診断、治療の最前線～」、シーエムシー出版、2013年10月刊行、第4編、第18章（査読無）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0件）

取得状況（計 0件）

〔その他〕

東京都医学総合研究所・精神医学行動分野・統合失調症プロジェクトホームページ

6．研究組織

(1)研究代表者

宮下光弘（MIYASHITA Mitsuhiro）

公益財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・主席研究員

研究者番号：60532132

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし