

## 第 105 回日本精神神経学会総会

## 教育講演

## 精神障害の理解のための分子医学的アプローチ

上野 修一 (愛媛大学大学院医学系研究科脳とこころの医学)

精神障害は、遺伝因や環境因が複雑に絡み合った多因子疾患であり、精神障害を診断し、治療の反応、経過を探り、予後や再発を調べるための生物学的な指標はまだ十分ではない。精神障害は、中枢神経系を冒す疾患ではあるものの、神経系、免疫系、内分泌系を通して全身に影響する疾患であるため、末梢を循環する血液の状態から精神障害の病因を明らかにし、精神障害の状態像を把握できる指標が作れるのではないかと予想される。また、血液を循環するアミノ酸やビタミン群の変化が脳に影響を与えるかもしれない。今回、血液の状態から精神障害を理解する分子医学的方法を二つ紹介したい。ひとつは、末梢血中アミノ酸やビタミン量の変化から精神障害を理解する方法である。その例として、統合失調症とビタミン B<sub>6</sub> 合成の律速段階酵素 Pyridoxine-5'-Phosphate Oxidase (PNPO) 遺伝子との疾患-対照研究を示す。もうひとつは、末梢血白血球で発現する遺伝子中間産物 mRNA (messenger RNA) を測定することによる精神障害の理解である。mRNA は、最終産物のタンパク質と異なり抽出しやすく、real-time PCR 法や DNA チップを用いて、遺伝子の種類に関わらず同じ方法で定量することができる。末梢血白血球で発現する遺伝子量を、精神障害群と健常対照群で比較することや、同一個体で複数回にわたり調べることから、精神障害のなりやすさ、すなわち、体質に関する指標 (trait marker) およびその時点での状態像を表す指標 (state marker) を明らかにできる可能性がある。その例として、うつ病と末梢血遺伝子 mRNA 発現量の研究を提示する。

## はじめに

精神障害では、他の疾患に比べて、遺伝の疾患発症に関わる率が高いことは、臨床遺伝学的に確認されている。Plomin らは、双生児での疾病の発生の一致率を様々な疾患で調べ、精神障害では、一般内科疾患に比較して一卵性双生児の発症の一致率が高いことを報告した<sup>19)</sup>。しかしながら、遺伝子がほぼ一致する一卵性双生児に比較して、遺伝子の半分が同一である二卵性双生児では、その一致率は理論的には一卵性双生児の半分となるはずであるが、精神障害での二卵性双生児の一致率は半分よりも低い。これは関与する因子が単一でないことを示しており、精神障害は、多くの遺伝子が関わる多因子疾患であるとした。図 1 に示す

ように、病気は、遺伝などの生まれもった脆弱性からなる体質因と養育環境や栄養などの環境因との組み合わせにより発症する。たとえば、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝などと表現される単一遺伝子疾患では、疾病を起こす病因遺伝子に異常を持つかどうかが発症に大きく関与する。一方、交通事故などの外傷による障害では、環境因によって発症するかどうかはほぼ決定される。精神障害は、糖尿病や高血圧などの生活習慣病などと同様に、多くの遺伝因と環境因が相互に複雑に関与し発症する疾患と考えられ、ありふれた疾患 (common diseases) とか多因子疾患 (multifactorial diseases) であると表現される。そのため、精神障害においては、変更不能な因子

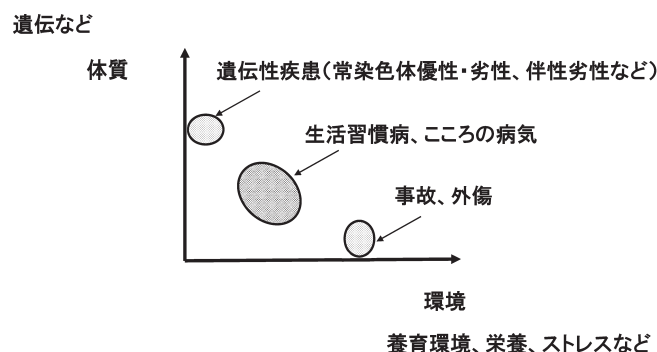


図1 病気の発症に関わる影響

(遺伝因)を明らかにすることにより、変更可能な因子(環境因)を整えることで、患者の発症を抑制し、治療反応を改善し、回復を支援し、再発を予防する方法が明らかにできると考えられる。

一方、どのような状態にあるかの指標も大切である。多くの身体疾患と異なり、精神障害においては、臨床診断は、熟練した精神科医が診察し行う。現在用いられているICD-10、DSM-IVなどの操作的診断基準は、まず、器質的疾患を除外したうえで、精神症状を誰でも判断できるような客観的基準を示し行うようになっている。そのため、統計学的に解析可能な客観的な診断基準ではあるものの、治療法の選択や予後については触れていない。生物学的な指標として、たとえば、うつ病では、視床下部-下垂体-副腎(hypothalamic pituitary adrenal, HPA)軸の過活動がみられることから、デキサメサゾン抑制試験(Dexamethasone suppression test, DST)や、その変法であるデキサメサゾン/CRH試験(dexamethasone-corticotrophin releasing hormone, DEX/CRH test)が、うつ病の病態を検出する方法として行われている<sup>21)</sup>。しかし、この方法では、約半数のうつ病患者しか検出できない。精神障害の診断、治療反応性の評価、将来の状態像、再発を知るための生物学的な指標などはほとんどなく、状態像の判断は、熟練した精神科医による面接や治療評価尺度などの心理検査により行っているの

が現状である。

今回、精神障害の病因、診断、状態像の把握、再発の有無など精神障害を把握するための手法として、末梢血から得られた情報から、精神障害を理解する手法を紹介したいと思う。

### 1. 疾患-対照研究を用いたアプローチ

ホモシステインは、メチオニンから合成される硫黄を含むアミノ酸であるが、生体内でのメチル化に関わる重要なアミノ酸である(図2)。ホモシステインの分解異常は、ホモシチン尿症として知られており、成長段階でのホモシステインの高値が、知的障害、てんかんなどの病態を引き起こす。また、血中ホモシステイン量が高いと、血管障害を引き起こしやすく、脳血管障害や虚血性心疾患になりやすい。統合失調症では、以前から血中ホモシステイン量が高いことが報告されてきたが、Muntjewerffらは、血中ホモシステイン量と統合失調症の関係を調べた報告のメタ解析を行い、血中ホモシステイン量が $5\mu\text{mol/L}$ 増加すると、統合失調症発症のオッズ比が1.7倍になることを示した<sup>15)</sup>。ホモシステイン量の調節は、ホモシステインからメチオニン合成酵素によりメチオニンに向かう系と、ホモシステインが分解され、シスタチオンとなり、さらに代謝を受け、グルタチオンに向かう系の双方によって調節されている<sup>22)</sup>。メチオニン合成酵素はビタミン $B_{12}$ を補酵素とし、一方、グルタチオンに向かう系のシ

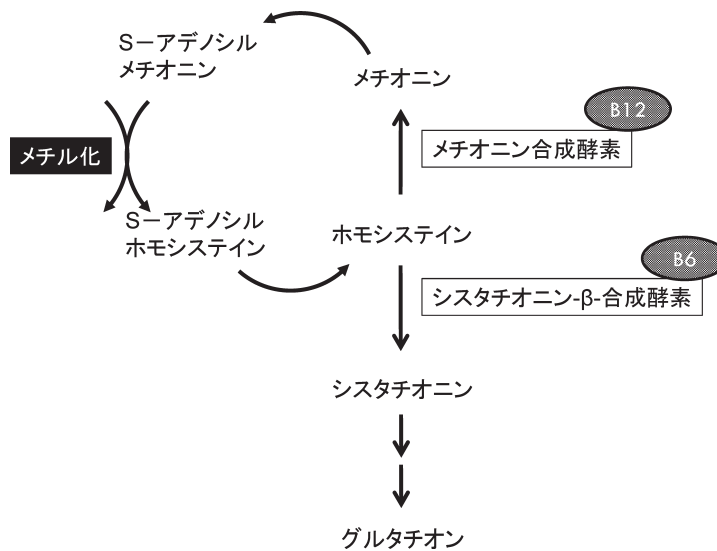


図2 ホモシステインの代謝

スタチオン- $\beta$ -合成酵素およびシスタチオンナーゼは、ビタミン B<sub>6</sub> を補酵素とする。そのため、統合失調症の高ホモシステイン血症には、ビタミン B 群の影響が予想されるが、Levine らは、高ホモシステイン血症を示す統合失調症患者にビタミン B 群を投与すると、血中ホモシステインは低下し、精神症状および高次脳機能は改善したと報告した<sup>9)</sup>。

上記から、血中ホモシステイン濃度の上昇に影響を与える因子としてビタミン B<sub>6</sub> に注目し、長期入院中の慢性の統合失調症患者の血中ビタミン B<sub>6</sub> 濃度を予備的に測定したところ、男女を問わず低下していることを確認した (未発表データ)。ビタミン B<sub>6</sub> 合成の律速段階酵素は PNP 酸化酵素 (pyridoxamine-n-phosphate, PNPO) であること<sup>16)</sup>、PNPO の欠損により精神障害を起こすこと<sup>14)</sup>、PNPO 遺伝子の座位がある 17 番染色体 17p11-q25 領域が統合失調症と関連すること<sup>26)</sup> から、統合失調症と PNPO 遺伝子に関連があると考え、統合失調症患者 356 名、健常対照者 582 名を用いて疾患-対照研究を行った。その結果、統合失調症と PNPO 遺伝子のプロモーター

部位にある一塩基多型 rs2325751 との間に最も有意な相関が確認され、ハプロタイプ解析によってもそれは証明された<sup>23)</sup>。しかしながら、統合失調症において、血中ビタミン B<sub>6</sub> 濃度が、ホモシステイン濃度や精神症状に直接影響を与えているかどうかについては確認しておらず、相関解析した症例数も少ないことから、この関連については、今後の検討が必要であると思われる。

## 2. 末梢血白血球発現遺伝子からのアプローチ

精神障害は中枢神経系を冒す疾患であるが、多くの精神障害は、神経系、免疫系、ホルモン系などを介して全身に作用し、中枢神経症状のみならず、全身の身体的な症状を呈する<sup>6)</sup> (図 3)。末梢血白血球は、全身を巡回しており、様々な情報を受け取る細胞であるため、中枢神経系で起こっている変化を表す指標となる可能性がある。末梢血白血球の messengerRNA (mRNA) は、遺伝子が発現するための遺伝子中間産物であるが、その量を定量することによって、精神障害の指標となるかどうか注目した。末梢血白血球は、静脈採血によって比較的侵襲性低く得ることができる試

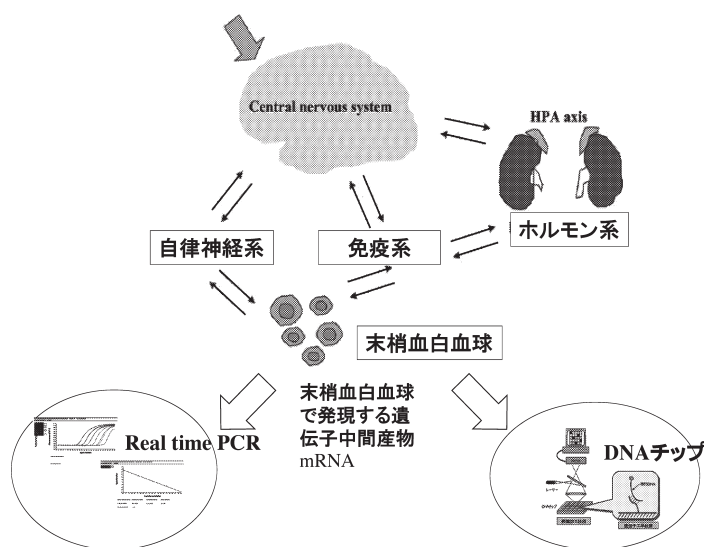


図3 精神障害の病態像把握のための方法論（文献15を改変）

料であり、患者の状態に合わせて、複数回試料の採取も可能である。最終産物のタンパク質の発現変化をみることもできるが、タンパク質は、20個以上のアミノ酸が並ぶ複合体ペプチドであり、それぞれが機能するために三次元構造をとっており、構造が複雑で異なった性質を持っているため、回収して正確に定量することが難しい。一方、mRNAは抽出がタンパク質に比較して容易であり、どの遺伝子でも同様の方法を用いた正確な定量が可能である。mRNAの発現量を調べる方法には、定量的real time PCR法と、DNAチップ法がある。real time PCR法は、polymerase chain reaction (PCR)を利用した定量法で、目的とする遺伝子産物は、反応サイクルごとに2倍、4倍、8倍と指数関数的に増幅され、やがてプラトーに達し遺伝子増幅は終了する。段階希釈した標準試料を同様に増幅させると、それぞれの標準試料も指数関数的に増幅され、スタート時点での標的DNAの量の多い順に増幅曲線が描かれる。測定したい試料と標準試料の増幅曲線のずれから遺伝子産物量を正確に定量することができる。一方、DNAチップを用いた解析は、発現している遺伝子を網羅的に解析することができるため、そ

れぞれの疾患に特異的な遺伝子の組み合わせのパターンを調べることができる方法であるが、特定の遺伝子に絞った定量性については、DNAチップはreal time PCR法に比較して劣る。

うつ病を中心に、末梢白血球での遺伝子発現研究をとらえてみると、まず、ドパミンDRD4受容体の発現量<sup>20)</sup>やCREB遺伝子発現<sup>8)</sup>が調べられた。我々が行ったうつ病と末梢白血球でのセロトニントランスポーター遺伝子発現との関連については、第103回本学会総会で発表し本雑誌に掲載しているのので、それも参考にさせていただきたい<sup>25)</sup>が、これまで行われているうつ病とreal time PCR法を用いた末梢白血球の遺伝子発現を調べた研究については、結果を表1にまとめて提示する。

### 最後に

これまで、精神科では、診断し、状態像を把握し、薬物効果や再発の有無について、定量化できる生物学的指標はほとんどなかったのが現実である。今回は、末梢血から得られた情報から、精神障害に関係する体質を表す指標 (trait marker) を明らかにできる可能性、および末梢白血球の

表1 うつ病と末梢白血球発現

遺伝子	変化	参考文献
SLC6A4 (Serotonin transporter)	増加	3, 24
	減少	10
CREB1 (cAMP response element-binding protein 1)	増加	7
	変化なし	8
GCCR alpha (Glucocorticoid Receptor alpha)	減少	12
HDAC5 (Histone deacetylase 5)	増加	7
SLC6A2 (Noradrenalin transporter)	減少	11
DRD4 (Dopamine receptor D4)	減少	20
VEGF (Vascular endothelial growth factor)	増加	5
PDLIM5 (PDZ and LIM domain 5)	減少	4
ARRB1 ( $\beta$ -arrestin 1)	減少	1, 13
GLO1 (glyoxalase-1)	減少	2
GDNF (Glial cell line-derived neurotrophic factor)	減少	18
ARTN (artemin)	減少	18
NTF-3 (neurotrophin 3)	減少	18
PDE4B (Phosphodiesterase 4B)	増加	17

遺伝子発現の解析によって精神障害の状態像を表す指標 (state marker) が得られる可能性を示した。このように新たな視点から精神障害の病因の解明や診断, 治療効果の判定, 再発の予測などが行われるようになると思われる。

#### 謝 辞

本研究の趣旨を理解し, 貴重な試料を提供していただいた患者ボランティアおよび健常ボランティアの方々の協力なしには行えなかった。今回の講演は, 私が徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部精神医学講座に所属していたときから現在まで共同研究として行ったものであり, 同教室の大森哲郎教授をはじめ教室員に感謝する。本稿で紹介した研究の一部は, 厚生労働省および文部科学省の科学研究費の助成を受けている。

#### 文 献

1) Avissar, S., Matuzany-Ruban, A., Tzukert, K., et al.: Beta-arrestin-1 levels: reduced in leukocytes of patients with depression and elevated by antidepressants in rat brain. *Am J Psychiatry*, 161; 2066-2072, 2004

2) Fujimoto, M., Uchida, S., Watanuki, T., et al.: Reduced expression of glyoxalase-1 mRNA in mood disorder patients. *Neurosci Lett*, 438; 196-199, 2008

3) Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., et al.: Serotonin transporter mRNA expression in peripheral leukocytes of patients with major depression before and after treatment with paroxetine. *Neurosci Lett*, 389; 12-16, 2005

4) Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., et al.: Gene expression and association analysis of LIM (PDLIM5) in major depression. *Neurosci Lett*, 400; 203-207, 2006

5) Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., et al.: Gene expression and association analysis of vascular endothelial growth factor in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31; 658-663, 2007

6) Iga, J., Ueno, S., Ohmori, T.: Molecular assessment of depression from mRNAs in the peripheral leukocytes. *Annals of Medicine*, 40; 336-342, 2008

7) Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., et al.: Altered HDAC5 and CREB mRNA expressions in the peripheral leukocytes of major depression. *Prog Neuropsychophar-*

macol Biol Psychiatry, 31 ; 628-632, 2007

8) Lai, I.C., Hong, C.J., Tsai, S.J.: Expression of cAMP response element-binding protein in major depression before and after antidepressant treatment. *Neuropsychobiology*, 48 ; 182-185, 2003

9) Levine, J., Stahl, Z., Sela, B.A., et al.: Homocysteine-reducing strategies improve symptoms in chronic schizophrenic patients with hyperhomocysteinemia. *Biol Psychiatry*, 60 ; 265-269, 2006

10) Lima, L., Urbina, M.: Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cell Mol Neurobiol*, 22 ; 797-804, 2002

11) Mata, S., Urbina, M., Manzano, E., et al.: Noradrenaline transporter and its turnover rate are decreased in blood lymphocytes of patients with major depression. *J Neuroimmunol*, 170 ; 134-140, 2005

12) Matsubara, T., Funato, H., Kobayashi, A., et al.: Reduced glucocorticoid receptor alpha expression in mood disorder patients and first-degree relatives. *Biol Psychiatry*, 59 ; 689-695, 2006

13) Matuzany-Ruban, A., Avissar, S., Schreiber, G.: Dynamics of beta-arrestin1 protein and mRNA levels elevation by antidepressants in mononuclear leukocytes of patients with depression. *J Affect Disord*, 88 ; 307-312, 2005

14) Mills, P.B., Surtees, R.A., Champion, M.P., et al.: Neonatal epileptic encephalopathy caused by mutations in the PNPO gene encoding pyridox(am) 5'-phosphate oxidase. *Hum Mol Genet*, 14 ; 1077-1086, 2005

15) Muntjewerff, J.W., Kahn, R.S., Blom, H.J., et al.: Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*, 11 ; 143-149, 2006

16) Ngo, E.O., LePage, G.R., Thanassi, J.W., et al.: Absence of pyridoxine-5'-phosphate oxidase (PNPO) activity in neoplastic cells: isolation, characterization, and expression of PNPO cDNA. *Biochemistry*, 37 ; 7741-7748, 1998

17) Numata, S., Iga, J., Nakataki, M., et al.: Gene

expression and association analyses of the phosphodiesterase 4B (PDE4B) gene in major depressive disorder in the Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B ; 527-534, 2009

18) Otsuki, K., Uchida, S., Watanuki, T., et al.: Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiatr Res*, 42 ; 1145-1153, 2008

19) Plomin, R., Owen, M.J., McGuffin, P.: The genetic basis of complex human behaviors. *Science*, 264 ; 1733-1739, 1994

20) Rocc, P., De Leo, C., Eva, C., et al.: Decrease of the D4 dopamine receptor messenger RNA expression in lymphocytes from patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 26 ; 1155-1160, 2002

21) Schatzberg, A.F., Garlow, S.J., Nemeroff, C.B.: Molecular and cellular mechanisms in depression. *Neuropsychopharmacology: Fifth Generation of Progress*, (ed. by Davis KL, Charney D, Coyle JT et al.). Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p.1039-1050, 2002

22) Schwammenthal, Y., Tanne, D.: Homocysteine, B-vitamin supplementation, and stroke prevention: from observational to interventional trials. *Lancet Neurol*, 3 ; 493-495, 2004

23) Song, H., Ueno, S., Numata, S., et al.: Association between PNPO and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res*, 97 ; 264-270, 2007

24) Tsao, C.W., Lin, Y.S., Chen, C.C., et al.: Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30 ; 899-905, 2006

25) 上野修一, 伊賀淳一, 沼田周助ほか: うつ病の心因, 内因, 器質因: うつ病を遺伝子から考える *精神経誌*, 109 ; 859-863, 2007

26) William, N.M., Norton, N., Williams, H., et al.: A systematic genomewide linkage study in 353 sib pairs with schizophrenia. *Am J Hum Genet*, 73 ; 1355-1367, 2003