

特集 当事者に届く生物学的精神医学研究：バイオマーカーを用いた精神疾患の客観的補助診断法の開発

双極性障害の診断と細胞内カルシウム・シグナリング

久住 一郎¹⁾, 鈴木 克治²⁾, 小山 司¹⁾

双極性障害の臨床的診断についての議論が最近盛んであり、抗うつ薬によるアクチベーション症候群の出現や双極スペクトラム障害概念の提唱などが注目を浴びている。特に、抑うつ状態を呈する患者に対する治療戦略を考える上で、双極性うつ病か単極性うつ病かを鑑別することは重要であるが、症候学的に両者を区別するのは非常に困難である。両者を鑑別できる簡易な生物学的マーカーが存在すれば、臨床的には大変有用である。双極性障害の病態に関連する生物学的素因マーカーとしてエビデンス水準の高いものが複数知られているが、その1つに細胞内カルシウム・シグナリングの異常が挙げられる。特に、検体採取が容易である血小板におけるアゴニスト刺激性細胞内カルシウム (Ca) 濃度増加反応が比較的多く検討されてきた。これまでの研究結果を総括すると、双極性障害患者の血小板内静止時 Ca 濃度は健常者と有意差はないが、セロトニンあるいはトロンビン刺激性 Ca 反応は健常者に比較して有意に亢進している。しかも、単極性うつ病やその他の精神疾患におけるセロトニン刺激性 Ca 反応は健常者とは有意差がなく、疾患特異性が確認されている。しかしながら、臨床における診断補助として利用するためには、いくつかの問題点が存在する。1つには、双極性障害患者群と健常群における Ca 反応の分布にはかなりの重なりがあり、ある閾値で両者を明確に識別することは困難である。他にも、採血後すぐにアッセイを行う必要があること、Ca 反応が服用中の薬剤によって影響を受けやすいこと、末梢系の検体における機能が中枢系機能を反映しているかについての傍証が乏しいことなどが挙げられ、臨床応用の実用化についてはいまだ課題が多いと言わざるを得ない。

<索引用語：双極性障害、生物学的マーカー、血小板、カルシウム、セロトニン>

1. 双極性障害の診断

気分障害、特に双極性障害の臨床的診断については現在議論が盛んである。抗うつ薬服用後に不安・焦燥感、不眠、易刺激性、衝動性などを生じるアクチベーション症候群が最近注目を浴びている。以前から、抗うつ薬による躁転については多数の報告がなされ、少なくとも双極性障害患者において、抗うつ薬はその種類にかかわらず躁転を誘発しうることが知られていた⁹⁾。しかも、年少者で抗うつ薬による躁転が起こりやすいことや抗うつ薬によって自殺念慮を伴う混合状態が誘発されやすいことなどから、混合状態と抗うつ薬によ

るアクチベーション症候群の類似性も議論されている⁹⁾。また、双極スペクトラム障害の概念が提唱され、操作的診断分類では「単極性うつ病（大うつ病性障害）」と診断されるが、将来的に双極性障害に移行するか、双極性障害に準じた治療が適切であると考えられる一群が抽出されている³⁾。双極性障害の家族歴があることや抗うつ薬によって（軽）躁状態が惹起されることが特徴であり、発揚性パーソナリティ、非定型うつ症状、精神病的症状、若年発症、抗うつ薬の効果減弱などを伴うことが多いとされる。

抗うつ薬に反応しない治療抵抗性うつ病患者の

著者所属：1) 北海道大学大学院医学研究科精神医学分野

2) 青森県立中央病院メンタルヘルス科

一部に双極性障害患者が隠れている可能性も指摘されている。うつ病と診断された患者を長期間観察すると、12.5%で双極性障害に診断変更されたことが報告されているが²⁾、2種類以上の十分量・十分期間の抗うつ薬に反応しないうつ病患者では最終的に双極性障害に診断変更される割合は40%前後にも達するという^{4,11)}。抑うつ状態が出現した時点で単極性うつ病と双極性障害を鑑別できれば、前者に対しては抗うつ薬中心、後者に対しては気分安定薬中心の治療を行うことができる。双極性うつ病では、不安定性、不機嫌、メランコリー症状、非定型症状、混合症状、精神病症状がみられやすい、重症である、早期あるいは出産後発症、再発回数が多い、不安障害や物質依存の合併、双極性障害の家族歴が多いことが特徴とされる⁹⁾。前出の双極スペクトラム障害の診断基準と重なり合っている項目も多いが、実際の臨床場面では鑑別はなかなか難しいことも事実である。

したがって、抑うつ状態を呈した患者において単極性うつ病か双極性障害かの鑑別診断を補助する生物学的指標の確立が切に望まれるところである。

2. 双極性障害の病態としての 細胞内カルシウム・シグナリング異常

Langan & McDonaldによる総説⁸⁾では、双極性障害の神経生物学的素因マーカーのうちエビデンス水準の高いものとして、活性型T細胞増加や可溶性IL-2受容体増加などの免疫系異常、視床下部-下垂体-副腎皮質系異常、プロテインキナーゼA活性亢進や細胞内カルシウム・シグナリング異常などの分子生物学的異常、側脳室拡大や白質病変などの構造画像的異常、磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)によるN-acetylaspartate低下やコリン増加、機能画像による前頭前野機能低下などが挙げられている。しかしながら、これらの指標は必ずしも双極性障害に疾患特異的に異常が認められるわけではなく、臨床診断のための補助的手段として必ずしも有用とは言えない。

上述した生物学的素因マーカーの1つである細胞内カルシウム・シグナリングのうち、これまで多数の研究が行われ、その評価が確立しているものとして、血小板内アゴニスト刺激性カルシウム(Ca)濃度増加反応が挙げられる。ヒト血小板に存在する受容体を介したホスファチジルイノシトール(PI)代謝回転の初期反応としてイノシトール三リン酸(IP₃)とジアシルグリセロール(DG)が産生され、前者がCa貯蔵部位から細胞内にCa²⁺を遊離させることから生じる反応である(図1)。遊離されたCa²⁺はカルモジュリン(CaM)と結合してCaM系カスケードを駆動し、DGはプロテインキナーゼC(PKC)を刺激してPKC系カスケードを駆動して、それぞれ血小板の形態変化や凝集という生理的な反応につながっている。

これまでの双極性障害患者における血小板内Ca濃度測定の研究結果は、Quirozらの最近の総説¹⁰⁾にまとめられている(表1, 2)。静止時Ca濃度は、研究初期に双極性障害患者で健常者よりも高いと報告されたが、次第に健常者と有意差がないという報告が増えてコンセンサスを得るに至っている。一方、セロトニンやトロンビンなどのアゴニスト刺激性Ca反応は健常者に比して、双極性障害患者で有意に高いという報告が大半である。様々なアゴニスト刺激によるCa反応が亢進していることから、双極性障害では受容体以降の細胞内情報伝達系に異常があることが示唆される。

健常者の血小板を用いて、PKC刺激または抑制薬、CaM抑制薬などの前処置後にアゴニスト刺激性Ca反応を検討した結果を表3にまとめた。これらの検討から、CaM系が抑制されているとアゴニスト刺激性Ca反応は亢進し、PKC系は亢進していても抑制されていてもアゴニスト刺激性Ca反応が抑制されるという複雑なフィードバック機構が働いていることが示唆される¹⁴⁾。PKC抑制剤のスタウロスポリンを前処置すると、健常者や単極性うつ病患者ではセロトニン刺激性Ca反応は非処置群よりも抑制されるが、双極性うつ病患者では抑制されない(図2)¹³⁾。このこ

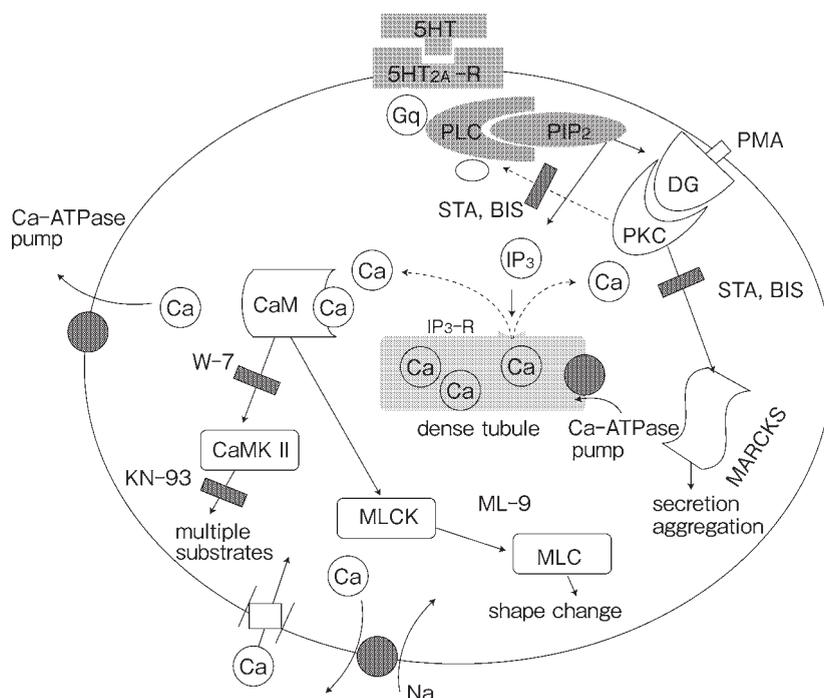


図1 ヒト血小板におけるセロトニン刺激性細胞内カルシウム・シグナリング
 5-HT：セロトニン，5-HT_{2A}-R：セロトニン_{2A}受容体，Gq：GTP結合蛋白，PLC：ホスホリパーゼC，PIP₂：ホスファチジルイノシトール4，5-二リン酸，IP₃：イノシトール1，4，5-三リン酸，IP₃-R：イノシトール1，4，5-三リン酸受容体，DG：ジアシルグリセロール，PKC：プロテインキナーゼC，CaM：カルモジュリン，PMA：ホルボール-12ミリステート-13アセテート，BIS：ビスインドリルマレイミドII，STA：スタウロスポリン，MLC：ミオシン軽鎖，MLCK：ミオシン軽鎖キナーゼ，CaMKII：カルモジュリンキナーゼII，W-7：カルモジュリン阻害薬，KN-93：カルモジュリンキナーゼII阻害薬，ML-9：ミオシン軽鎖キナーゼ阻害薬

とは、双極性障害の病態に PKC 系の亢進が関連していることを示唆している。また、気分安定薬であるリチウムやバルプロ酸がこれらの PKC 系や CaM 系のフィードバック機構にどう影響するかを検討してみると、リチウムは CaM 系の抑制に、バルプロ酸は PKC 系の増強に補助的に作用していることが明らかになった (表 4)^{1,14)}。したがって、リチウムとバルプロ酸は双極性障害の病態に対して異なる作用機序で効果を及ぼしている可能性がある。

3. 臨床応用の可能性

臨床的な診断補助として活用されるためには、様々な精神障害における疾患特異性が検証されなければならない。当初われわれは、セロトニン刺激性 Ca 反応が双極性障害群とメランコリー型大うつ病性障害群において非メランコリー型大うつ病性障害群や健常群に比べて有意に亢進していると報告していた⁹⁾。しかし、その後の7年間の縦断的経過観察で、当初メランコリー型大うつ病性障害に分類されていた53例中7例が双極性障害に診断変更されたため、その7例と残り46例の Ca 反応を比較してみると、前者が有意に高い Ca

表1 双極性障害患者における血小板内静止時 Ca 濃度 (文献10) より引用)

Reference	Intracellular Ca level	Treatment
Bowden, et al. (1988)	BD>UD	Untreated
Dubovsky, et al. (1989)	BM>C	Untreated/recovered
Tan, et al. (1990)	BE>C	Li treated
Dubovsky, et al. (1991)	BD>UD/BE=C	Untreated/treated
Dubovsky, et al. (1992)	BM/BD>C	Untreated
Kusumi, et al. (1992)	BD=UM=UN=C	Untreated
Kusumi, et al. (1994)	BD=UM=UN=C	Untreated
Berk, et al. (1994)	BM/BD/BE>C	Li treated
Dubovskyl, et al. (1994)	BM/SA=C	Not reported
Bothwell, et al. (1994)	B=UD=C	Treated
Tan, et al. (1995)	BM=C	HPD treated
Okamoto, et al. (1995)	BM>BE=C	Untreated/treated
Yamawaki, et al. (1996)	BD=UD=C	Untreated
Hough, et al. (1999)	B>C	Untreated/treated
Kusumi, et al. (2000)	BD=UM=UN=C	Untreated
Suzuki, et al. (2001)	BD=UM=UN=C	Untreated

BD：双極性うつ病，BM：双極性躁病，BE：双極性障害寛解状態，B：双極性障害，UD：単極性うつ病，UM：メランコリー型単極性うつ病，UN：非メランコリー型単極性うつ病，SA：統合失調感情障害，C：健常対照
Li：炭酸リチウム，HPD：ハロペリドール

反応を示していた¹²⁾。この結果を勘案して、様々な精神障害患者におけるセロトニン刺激性 Ca 反応を比較した結果を図3に示した。メランコリー型ならびに非メランコリー型大うつ病性障害、統合失調症、パニック障害、強迫性障害、社交不安障害、神経性過食症の各群は健常群と Ca 反応に有意差は認められず、Ca 反応の亢進は双極性障害に特異的な所見であることが確認された¹²⁾。

また、治療反応性の観点からも、Ca 反応の測定が有用であることが示された。健常群におけるセロトニン刺激性 Ca 反応の平均+2 標準偏差値を閾値として、高 Ca 反応群とそれ以外の群の2群に分けると、高 Ca 反応群では気分安定薬に対する反応が良好であり、それ以外の群では抗うつ薬に対する反応が良好であることが確認された⁷⁾。このことは、高 Ca 反応群に双極性障害が多く含まれることを間接的に示すとともに、治療初期の

段階で薬剤反応性を予測しうる可能性を示唆している。

4. 臨床応用における問題点

それでは、このセロトニン刺激性血小板内 Ca 反応は臨床診断の補助的検査法としてすぐに役立つのであろうか？ 残念ながら、現時点ではいくつかの問題点があると言わざるを得ない。

第一に、双極性障害群と健常群の Ca 反応の平均値に有意差が認められても、患者個々の Ca 反応の分布には両群で相当な重なりがあることである。診断ツールとして有用であるためには、両群の分布に重なりが少なく、ある閾値で明確に区別されることが理想である。第二に、アゴニスト刺激性血小板内 Ca 反応は、採血後の時間経過でかなり急激に減衰していくため、採血直後のアッセイが必要である⁵⁾。ましてや、検体を凍結保存し

表2 双極性障害患者におけるアゴニスト刺激性血小板内 Ca 濃度増加反応
(文献10) より引用)

Reference	Stimulation	Intracellular Ca level	Treatment
Dubovsky, et al. (1989)	PAF/Thr	BD>BE/UD/C	Untreated/recovered
Tan, et al. (1990)	Thr	BE>C	Li treated
Dubovsky, et al. (1991)	Thr	BD>UD/C	Untreated/treated
Kusumi, et al. (1992)	Thr	BD>UM/UN/C	Untreated
Kusumi, et al. (1994)	5-HT	BD/UM>UN/C	Untreated
Berk, et al. (1994)	Dopamine	BM/BD/BE=C	Li treated
Bothwell, et al. (1994)	5-HT/PAF	B/UD=C	Treated
Tan, et al. (1995)	Thr	BM>C	HPD treated
Okamoto, et al. (1995)	5-HT	BM>treated BE	Untreated/treated
Yamawaki, et al. (1996)	5-HT	BD/UD>C	Untreated
Hough, et al. (1999)	Thr/5-HT/TG	B>C	Untreated/treated
Kusumi, et al. (2000)	5-HT	B>C	Untreated
Suzuki, et al. (2001)	5-HT	BD>UM/UN/S/C	Untreated

BD：双極性うつ病，BM：双極性躁病，BE：双極性障害寛解状態，B：双極性障害，UD：単極性うつ病，UM：メラニコリー型単極性うつ病，UN：非メラニコリー型単極性うつ病，SA：統合失調感情障害，S：統合失調症，C：健常対照

Li：炭酸リチウム，HPD：ハロペリドール

PAF：血小板刺激因子，Thr：トロンビン，5-HT：セロトニン，TG：タブシガルギン

表3 PKC・CaM 調整剤のアゴニスト刺激性 Ca 反応に対する影響
(文献14) より引用)

	5-HT-induced	Thrombin-induced
Bipolar Disorder	↑	↑
PKC modulators		
PMA (activator)	↓	↓
Staurosporine (inhibitor) ~10nM	⇔	⇔
100nM	↓	↓
Bisindolylmaleimide II ~100nM	⇔	⇔
(inhibitor) 1μM	↓	↓
CaM modulators		
W-7 (CaM antagonist) 10~30μM	↑	↑
ML-9 (MLCK inhibitor) 30μM	↑	↑
KN 93 (CaMKII inhibitor) 10μM	↑	↑

PMA：ホルボール-12 ミリステート-13 アセテート，CaM：カルモジュリン，MLCK：ミオシン軽鎖キナーゼ，CaMKII：カルモジュリンキナーゼ II

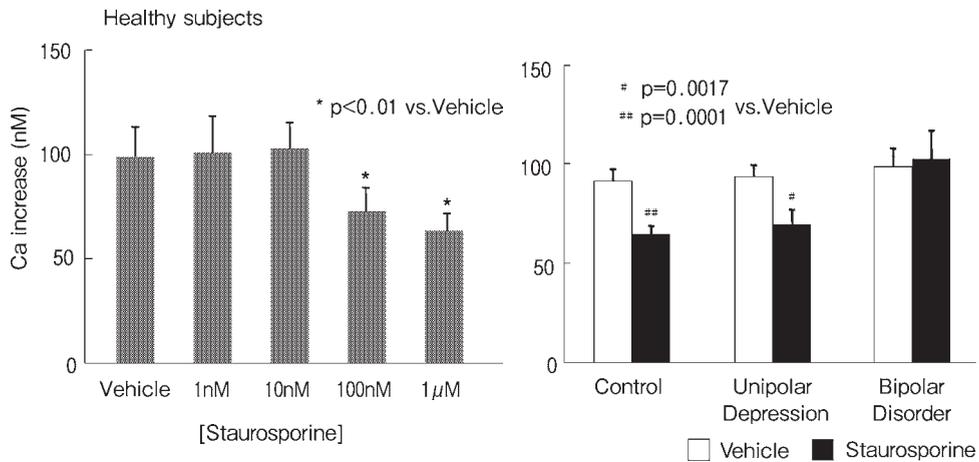


図2 健常者ならびに気分障害患者におけるセロトニン刺激性血小板内Ca反応に対するスタウロスポリンの影響 (文献13)より引用)

表4 PKC・CaM調整剤の影響下におけるセロトニン刺激性Ca反応に対するリチウムとバルプロ酸の効果(文献1), 14)より引用)

	5-HT induced Ca response	Li	VPA
Bipolar disorder	Enhanced		
Normal control	—	→	↓
PKC activators	Inhibitory	→	↑
PKC inhibitors	Inhibitory	→	↑
CAM inhibitors	Enhanced	↓	→
MLCK inhibitors	Enhanced	↓	→
CaMKII inhibitors	Enhanced	↓	→

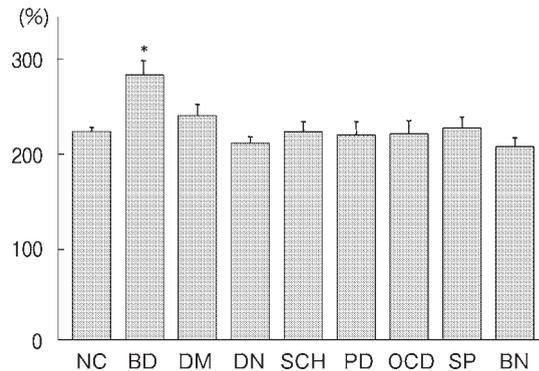


図3 様々な精神障害患者におけるセロトニン刺激性血小板内Ca反応 (文献12)より引用)

NC: normal control; BD: bipolar disorder; DM: major depressive disorder with melancholic feature; DN: major depressive disorder without melancholic feature; SCH: schizophrenia; PD: panic disorder; OCD: obsessive-compulsive disorder; SP: social phobia; BN: bulimia nervosa. *p=0.0134 compared with control.

て、後でまとめてアッセイするようなことも困難である。第三に、セロトニン刺激性Ca反応については、セロトニン5-HT_{2A}受容体に親和性を有する薬剤をあらかじめ服用していると、Ca反応に影響が出るため、基本的には未服薬の患者でしか正確な測定値が得られない。最後に、血小板という末梢系の検体での機能が中枢機能を反映

しているという証拠が十分ではない。これは、末梢系検体がなかなか超えられない課題の1つとも言える。

文 献

- 1) Akimoto, T., Kusumi, I., Suzuki, K., et al.: Effects of valproate on serotonin-induced intracellular calcium mobilization in human platelets. *J Psychiat Neurosci*, 32; 17-22, 2007
 - 2) Akiskal, H.S., Maser, J.D., Zeller, P.J., et al.: Switching from 'unipolar' to bipolar II. An 11-year prospective study of clinical and temperamental predictors in 559 patients. *Arch Gen Psychiatry*, 52; 114-123, 1995
 - 3) Gahemi, S.N., Ko, J.Y., Goodwin, F.K.: The bipolar spectrum and the antidepressant view of the world. *J Psychiatr Pract*, 7; 287-297, 2001
 - 4) Inoue, T., Nakagawa, S., Kitaichi, Y., et al.: Long-term outcome of antidepressant-refractory depression: The relevance of unrecognized bipolarity. *J Affect Disord*, 95; 61-67, 2006
 - 5) Kusumi, I., Koyama, T., Yamashita, I.: Effect of various factors on serotonin-induced Ca^{2+} response in human platelets. *Life Sci*, 48; 2405-2412, 1991
 - 6) Kusumi, I., Koyama, T., Yamashita, I.: Serotonin-induced platelet intracellular calcium mobilization in depressed patients. *Psychopharmacology*, 113; 322-327, 1994
 - 7) Kusumi, I., Suzuki, K., Sasaki, Y., et al.: Treatment response in depressed patients with enhanced Ca mobilization stimulated by serotonin. *Neuropsychopharmacology*, 23; 690-696, 2000
 - 8) Langan, C., McDonald, C.: Neurobiological trait abnormalities in bipolar disorder. *Mol Psychiatry*, 14; 833-846, 2009
 - 9) McElroy, S.L., Kotwal, R., Kaneria, R., et al.: Antidepressants and suicidal behavior in bipolar disorder. *Bipolar Disord*, 8; 596-617, 2006
 - 10) Quiroz, J.A., Gray, N.A., Kato, T., et al.: Mitochondrially mediated plasticity in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, 33; 2551-2565, 2008
 - 11) Sharma, V., Khan, M., Smith, A.: A closer look at treatment resistant depression: is it due to a bipolar diathesis? *J Affect Disord*, 84; 251-257, 2005
 - 12) Suzuki, K., Kusumi, I., Sasaki, Y., et al.: Serotonin-induced platelet intracellular calcium mobilization in various psychiatric disorders: is it specific to bipolar disorder? *J Affect Disord*, 64; 291-296, 2001
 - 13) Suzuki, K., Kusumi, I., Akimoto, T., et al.: Altered 5-HT-induced calcium response in the presence of staurosporine in blood platelets from bipolar disorder patients. *Neuropsychopharmacology*, 28; 1210-1214, 2003
 - 14) Suzuki, K., Kusumi, I., Akimoto, T., et al.: Effects of lithium and valproate on agonist-induced platelet intracellular calcium mobilization: relevance to myosin light chain kinase. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28; 67-72, 2004
-

Cellular Calcium Signaling in Bipolar Disorder

Ichiro KUSUMI¹⁾, Katsuji SUZUKI²⁾, Tsukasa KOYAMA¹⁾

1) *Department of Psychiatry, Hokkaido University Graduate School of Medicine*

2) *Department of Mental Health, Aomori Prefectural Central Hospital*

Many discussions have been made related to diagnosis of bipolar disorder in recent years. Especially, much attention has been devoted to the activation syndrome induced by antidepressants and the bipolar spectrum disorder proposed by Gahemi. Differential diagnosis between bipolar depression and monopolar depression is extremely important when planning treatment strategy, but it is difficult to differentiate between them using symptomatic information alone. Therefore, if an easily-accessible biological marker can differentiate between them, it is expected to be extremely useful in clinical practice.

Several trait biological markers associated with the pathophysiology of bipolar disorder have been identified with a high evidence level. Abnormality of cellular calcium signaling is regarded as one such replicable trait marker. Especially because human platelets are easily accessible, increasingly numerous reports describe studies of intracellular calcium concentration increase induced by various agonists in patients with bipolar disorder. Summarizing previous reports, the agonist-stimulated calcium response is enhanced significantly in patients with bipolar disorder compared to normal subjects, although resting intraplatelet calcium concentration does not differ between them. Moreover, serotonin-induced calcium response in monopolar depression and the other psychiatric diseases is not significantly different from that in normal subjects, which suggests that the enhanced calcium response to serotonin is specific to bipolar disorder among various diseases.

However, several problems arise in using this marker as a supplemental tool of clinical diagnosis. First, the calcium response has a fairly common distribution between bipolar depression and monopolar depression groups although the means of the responses are significantly different. Consequently, it is difficult to differentiate clearly between bipolar depression and monopolar depression merely by setting a discriminating value. Second, it is necessary to measure calcium response as soon as possible after blood collection. Third, drugs taken at the time of blood collection might affect the calcium response. Finally little evidence exists showing whether functions in peripheral tissue actually reflect brain function. Therefore, many obstacles remain to be solved before using this marker in clinical practice.

<Authors' abstract>

<Key words : bipolar disorder, biological marker, platelet, calcium, serotonin>