

様 式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791209

研究課題名(和文) 脳内ステロイドメタボロミクスを用いた新規抗うつ薬の開発

研究課題名(英文) Developing a new antidepressant using steroid metabolomics in the brain

研究代表者

杉山 暢宏 (SUGIYAMA, Nobuhiro)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師

研究者番号：30422695

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円

研究成果の概要(和文)：エストロゲン受容体betaの刺激が抗うつ効果を持つことが示唆され、内因性リガンドがいくつか提唱されているが、これらステロイドのヒト血液中における正確な濃度は知られていない。

本研究では、これらのステロイドのヒト血液中ならびに唾液中の濃度を正確に決定し、うつ病の既往のある被験者と既往のない被験者でそれらの値を比較した。結果は、女性の健常群とうつ病の既往のある女性との間でDHEAの値に有意差を認めた。

閉経期のうつ病発症メカニズムの解明を目指す将来の研究には代表的な女性ホルモンであるestradiolだけではなく、エストロゲン受容体に親和性のある他のホルモンもあわせて検討することの重要性を示した。

研究成果の概要(英文)：Recent studies have suggested that selective stimulation of Estrogen Receptor (ER)beta, not ERalpha, has an anti-depressive effect. Several endogenous ligands for ERbeta have been proposed. However, little is known about the exact serum level of these hormones in human. The aim of this study was to precisely determine the serum and salivary levels of these hormones and compare the levels between the subjects with or without a past history of major depressive disorder(DSM-IV-TR). DHEA, estradiol, and cortisol were also measured. High-sensitive isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry reference method was used for steroid measurement. Levels of these steroids were determined. The result was that only DHEA was significantly lower in women with a history of depression than in women without depression. This study has suggested that not only E2, but also other estrogenic steroids are involved in further studies on the mechanism of depression during menopause.

研究分野：精神神経内分泌学

キーワード：更年期障害 うつ病 女性ホルモン

1. 研究開始当初の背景

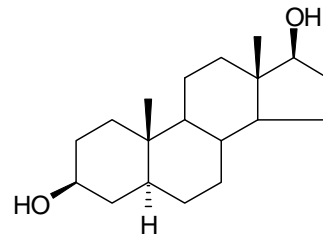
(1) 申請当時、年間4万人の自殺者が本邦では出ており、うつ病は優先して取り組むべき喫緊の課題である。現在の抗うつ薬は作用機序の似通ったいわゆる me too drug が多く、治療成績は不十分な現状がある。新しい機序に基づく画期的な治療薬、診断法、予防法が待たれている。治療薬開発が一向に進まない理由は、うつ病がいまだに病態の詳しく分かっていない原因不明の病であるからといえよう。

(2) うつ病の病態生理に切り込む視座の1つはその発症率、有病率の男女差である。閉経前後にうつ病の発症ピークがあることなどから、女性ホルモンなどステロイドホルモンの関与の可能性がある。21世紀初頭、第2のエストロゲン受容体 ERbeta が中脳縫線核(セロトニン神経起始核)に大量に発現していることが明らかにされた。縫線核にはエストロゲン受容体が存在しないと考えられていたため、大きな驚きを持って受け止められた。その後の検討から ERbeta の選択的刺激が抗うつ作用をもたらすことが動物実験で示され、新規抗うつ薬創薬への期待が高まっている。

(3) 研究代表者はエストロゲン作動性骨粗鬆症治療薬 raloxifene が抗うつ薬と併用して用いられたとき、その抗うつ効果を著しく増強すること(J Clin Psychiatry, 2007)、また同薬剤は拒食症症例が示す抑うつ症状にも極めて有効であること(J Clin Psychopharmacol, 2008)を世界で初めて報告した。これら2つの報告は一流誌を含む数多くの専門誌で頻回に引用され、同様の経験をしている精神科医が世界中にいることを知った。こうした臨床の実体験を通してエストロゲン受容体、特に ERbeta 作動薬が抗うつ薬創薬の新機軸となるとの確信に至った。研究代表者は ERbeta の発見者であるスウェーデン、カロリンスカ研究所のグスタフソン教授のもとで3年間研究する機会を得た。神経新生が特に盛んな神経発達期において ERbeta の発現が時空間的にダイナミックに変化することを示した(Mol Psychiatry, 2009)。また、驚くべきことにエストロゲンは実は一つではなく、よく知られた estradiol 以外に 3betaAdiol (5alpha-androstane-3beta, 17beta-diol) という第2のエストロゲンが存在し、ERbeta を介して神経発達期において重要な機能を担っていることを明らかにした(Mol Psychiatry, 2009, 図1参照)。我々は 3betaAdiol-ERbeta 系の分子基盤としては TGFbeta との cross talk の重要性を提唱した(PNAS, 2009)。10年間に及ぶ ERbeta 研究を基盤として、ERalpha と ERbeta は正反対の生理作用を持ち、中枢神経のエストロゲンへ

の応答は ERalpha と ERbeta のバランスの総和として決定される、という作業仮説(ERbeta と alpha の“陰と陽”仮説)を提唱し世界的に認知されるようになった(Trends Endocrinol Metab, 2010)。

(4) 研究代表者はこのような研究を通して、第3、第4のエストロゲン活性物質(代替エストロゲン)が存在するのではないかと、そのなかから中枢神経特異的、ERbeta 選択的な生理的リガンドがみつければ、新規抗うつ薬創薬の足がかりとなるのではないかと、という発想を抱くようになった。そしてうつ病を発症しやすい人とうつ病に生涯かからない人では、酵素活性の違いなどから ERbeta に親和性の高いステロイドの産生が異なるのではないかと、という作業仮説を立てた。



5 α -androstane-3 β ,17 β -diol

(Sugiyama et al, Mol Psychi, 2009)

図1 内因性 ER 選択的アゴニスト
新規ステロイドホルモンが ER 選択的
アゴニストとして報告されている

2. 研究の目的

上述の代替エストロゲンといわれるエストラジオール以外の女性ホルモンはいくつか提唱されていたが、血中濃度は極めて微量であり、その濃度はよく分かっていなかったもので、本研究の目的としては

(1) これらの代替エストロゲンのヒト血液中ならびに唾液中の濃度を正確に決定すること

(2) うつ病の既往のある被験者と既往のない被験者でそれらの値を比較すること

(3) 血液の濃度と唾液の濃度の相関をしらべること

の3つである。もし唾液との相関がよければ、今後の研究計画に鑑み、被験者の負担がより少ないと考えたからである。

3. 研究の方法

(1) 研究対象

選択基準

過去および現在まで精神科受診歴のない健康被験者 男性
過去および現在まで精神科受診歴のない健康被験者 女性
DSM-IV-TR 診断基準による大うつ病性障害、重症うつ病エピソード 男性
DSM-IV-TR 診断基準による大うつ病性障害、重症うつ病エピソード 女性

の4群を対象とした。健康被験者は当院の外来や当教室ホームページなどでボランティアを募った。うつ病患者は信州大学医学部附属病院精神科などを受診した症例を対象とした。ただし、倫理的配慮からうつ病患者への研究協力の依頼は抗うつ治療が成功した後の寛解維持期に行う。

除外基準：

重篤な一般身体疾患がある場合
認知症や軽度認知機能障害がある場合
CT 等脳画像検査や脳波検査で異常がある場合
IQ70 以下の場合
その他精神科医が対象として不適切であると判断した場合。

(2) 評価項目

症例の評価

検体採取時：年齢、閉経後何年経過したか（閉経はいつか）、測定時の体重、身長、腹囲、体脂肪率、飲酒歴、喫煙歴、HAM-D、Beck-II、MMSE、CDR、FAB、既往歴、常用薬、など

うつ病群においては、に加えて、過去のうつ病エピソードの回数、それぞれのエピソードの最重症 HAM-D、現在の投薬内容、ECT を要したか、抗精神病薬を使用したか、現在維持 ECT 中か否か

(3) 検体測定方法

被験者の負担軽減に最大限配慮し、検体採取はうつ病症例にあっては寛解後、被験者の文書による同意を得て行った。検体は日内変動を考慮して午前10時の提出をお願いした。コルチゾールは採取時の体位によって変化してしまう可能性があるため、唾液採取、採血とも坐位安静時と定めた。細部にはこだわらず被験者の負担とならないことを最優先した。月経周期の影響を避けるため、対象年齢を閉経後の高齢者とした。

(4) 測定したステロイド

5alpha androstane, 3beta, 17beta diol (3betaAdiol) 図1

dehydroepiandrosterone (DHEA)

cortisol

17beta E2

などを対象とした。

(4) ステロイド測定方法

ステロイド代謝物質は立体構造が酷似しているため、抗原抗体反応が原則使用できない。それぞれ化学的性質が少しずつ異なるため、脳内にいくつもある代謝物質の挙動を一度に俯瞰することは容易ではないが、メタボローム研究の最新テクノロジーを取り入れ、脳内ステロイド代謝物質解析という新たなアプローチを導入した。すなわち Isotope dilution-LC-MS/MS reference method (ID-LC-MS/MS) という極めて鋭敏で特異度の高い測定方法を採用した。

(5) 人権および倫理面への配慮

本研究は信州大学医学部医倫理委員会の審査承認を受けている（ステロイドホルモンとうつ病の関連性の検討，平成23年10月4日承認，承認番号1837）。

研究代表者は信州大学倫理FD講習会「臨床研究に関する倫理指針」改訂に伴う倫理審査プロセスの変更について、を受講済みである。

うつ病患者の精神的苦痛には最大限の配慮を行い、検体採取の依頼はうつ病が治った寛解維持期に行った。健常コントロールの被験者にも研究の意義、危険性等、丁寧な説明を行い、被験者本人からインフォームド・コンセントを文章で得て研究を行った。

4. 研究成果

(1) 女性の健常群とうつ病の既往のある女性との間で DHEA（ジハイドロテストステロン）の値に有意差を認めた。それ以外のステロイドでは健常群とうつ病の既往のある群で差が見られたホルモンはなかった。

(2) 女性に限ってみると、生涯うつ病に罹患したことのない被験者とうつ病の既往のある被験者において代表的な女性ホルモンであるエストラジオールの値に差がなかった。従来、閉経後にうつ病の発症が増えることの機序として、エストラジオールの低下が言われてきたが、今回の結果は、この仮説に対して大きな疑問を投げかけている。

つまり、閉経期のうつ病発症メカニズムの解明を目指す将来の研究には代表的な女性ホルモンであるエストラジオールだけではなく、エストロゲン受容体に親和性のある他のホルモンもあわせて検討することが重要であることを示すことができた。

(3)(1)で触れた DHEA については、唾液と血液の強い相関が示せたが、示せないステロイドもあった。測定技術をさらに向上させる必要がある。あるいは、血液と唾液が相関しないステロイドがある可能性、その理由の解明も今後必要になってくるかも知れない。

(4) 現在利用可能な抗うつ薬は、その作用機序が全てモノアミン仮説という唯一の古典的作業仮説に基づいて設計されている。しかし実臨床では 50% の患者が現在の抗うつ薬では寛解に至らない。モノアミン以外の全く別の作用機序を持つ新規抗うつ薬が強く求められている。男女差なく中脳縫線核に大量に発現している ERbeta の刺激は、セロトニン神経を活性化することが、説得力のあるデータに基づき広く認知されてきており、ERbeta 作動性新規生理的リガンドは新しいコンセプトを持った抗うつ薬になる公算が強い(図2)。

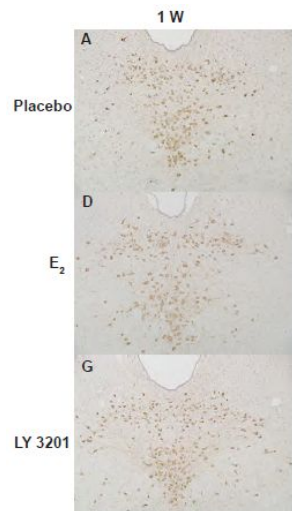


図2 卵摘後の TPH 陽性細胞

卵巣摘出後セロトニン産生細胞は失われていくが ER 選択的アゴニスト (LY3201) の同時投与により保持された (Mol Psychi, 2013 より)

(5) ホルモン補充療法の大規模臨床研究は婦人科腫瘍の発症リスク、虚血性心疾患発症リスクなどの上昇が指摘され、エストロゲン研究に暗い影を投げかけている。多くの精神科医がうつ病の治療選択肢としてエストロゲンを使うことには抵抗があるだろう。しかし、中枢神経選択的かつ ERbeta 選択的な生理アゴニストが発見できれば、それは認容性に優れ、婦人科系腫瘍の発症リスクの増加という欠点を持たず、エストロゲンの好ましい作用だけを有する一種の万能薬に

つながる可能性がある。多くの精神科医にとっても、ホルモン製剤というよりは、新規抗うつ薬として受け入れられ、幅広く使用されるはずである。

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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉山 暢宏 (SUGIYAMA, Nobuhiro)
信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師
研究者番号：3 0 4 2 2 6 9 5