

厚生労働科学研究研究費補助金
こころの健康科学研究事業

難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に
関する生物・心理・社会的統合研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山 脇 成 人

平成19年(2007年)3月

目 次

I. 総括研究報告

- 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物・心理・社会的統合研究……………1
山脇 成人

II. 分担研究報告

1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究…………… 17
山脇 成人
2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究…………… 21
森信 繁
3. 難治性うつ病の治療反応性予測と fMRI による客観的診断法の確立に関する研究…………… 25
岡本 泰昌
4. 生潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響…………… 29
山下 英尚
5. 難治性うつ病の長期転帰調査：bipolarity の関与…………… 33
久住 一郎
6. MRI による海馬容積の測定と評価…………… 37
内富 庸介
7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的マーカー開発に関する研究…………… 43
竹林 実
8. 難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有用性の検討：
血中 HVA, BDNF 動態からの検討…………… 47
中村 純
9. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究 うつ病のWHO長期予後調査
脳情報伝達系を介した老年期うつ病新規治療薬の開発…………… 51
小澤 寛樹

III. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 55

IV. 研究成果の刊行物・別刷…………… 59

I . 総括研究報告

難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物・心理・社会的統合研究

主任研究者 山脇成人 広島大学大学院医歯薬学総合研究科（精神神経医科学） 教授

研究要旨

大うつ病患者を対象に、難治化因子と想定される心理社会的要因、生物学的マーカー測定、海馬機能の脳画像解析を実施し、標準的薬物治療への反応性を前方視的に評価して、難治化に関連する因子を特定する目的で、初年度である平成18年度は難治性うつ病に関する後方視的研究を行うとともに、前方視的研究のための多施設共同研究プロトコール作成（倫理委員会申請）、心理社会的評価・生物学的マーカーなどに関する基礎的検討を行った。

1) 難治性うつ病に関する後方視的研究：

うつ病事例の長期予後調査から、以下のような事実が明らかになった。1) うつ病の長期転帰の調査から、24%がうつ病の遷延化のために深刻な社会生活の悪化、11%が自殺死に至っていた。2) 難治性うつ病事例の長期追跡調査結果から、当初単極性うつ病と診断されていた24%が双極性障害に診断変更され、bipolarityが難治性うつ病の要因として重要である。3) 脳血管障害を有するうつ病では病相期間、入院回数、認知症発症率が有意に高く、うつ病難治化の要因となる。4) 生物学的指標からみてもうつ病難治化の要因として、ドパミン代謝産物の減少や血清BDNF濃度の減少が関与している可能性が示された。5) 難治性うつ病では、薬物治療に抵抗性を示す症例ほど、認知療法にも反応性の乏しく、遺伝負因が高いことが明らかとなった。

2) 前方視的研究のための基礎的検討：

うつ病の難治化予測因子を抽出するために、心理社会的評価法、生物学的マーカーなどの検査バッテリーの妥当性を検討した上で、本施設共同研究に関するプロトコールを作成し、各施設での倫理委員会に承認を申請し認可を受けた。同時に本研究に用いる臨床診断評価法・心理検査・生物学的マーカー計測・脳画像評価についての、Inter-institute reliabilityの検討を行うと同時に、データ共有システムの整備も行った。具体的には以下のような、検査バッテリーを構築した。**A) 臨床評価**：診断は簡易構造化面接法(MINI)で行い、薬物反応性はハミルトンうつ病評価尺度(HAM-D)を心理社会機能の評価はGlobal Assessment of Function (GAF)の妥当性が確認した。**B) 心理社会的評価**：幼少期養育環境はEarly Traumatic Inventory-Self form (ETI-SF)を、対人関係はThematic Apperception Test (TAT)を、病前性格はNEO Five Factors Inventory (NEO-FFI)による評価の妥当性を確認した。**C) 生物学的マーカー**：脳由来神経栄養因子 (BDNF)・グリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)のmRNA、蛋白、遺伝子メチル化の測定法を確立した。**D) 脳形態機能画像検査**：MRIによる脳梗塞巣の評価法、1.5T MRIによる3D-SPGR Sequence画像のマニュアル・トレースによる海馬容積の計測方法、情動価を持った単語記憶課題を用いたfMRIによる海馬機能の計測方法を確立した。

分担研究者

森信 繁 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・助教授
岡本泰昌 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・講師
山下英尚 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・助手
久住一郎 北海道大学医学研究科・講師
内富庸介 国立がんセンター東病院臨床開発センター・部長
竹林 実 国立病院機構呉医療センター・精神科科長、臨床研究部室長
中村 純 産業医科大学精神医学教室・教授
小澤寛樹 長崎大学医歯薬総合研究科・教授

A. 研究目的

A-1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究

近年精神科診断で頻用される DSM-IV のうつ病診断は、過去 2 週間の大うつ病エピソードの有無による横断診断であり、内因・外因・心因という病因・病態や生育歴、病前性格などの縦断的視点が考慮されていない。そのため、治療にもそれらの視点が反映されず、薬物治療に反応しない難治性うつ病が増加している。一方、うつ病の治療アルゴリズムが作成されているが、抗うつ薬治療に反応しないことが判明した段階で、電気けいれん療法 (ECT) やリチウム増強療法を選択する手順になっており、治療反応性や難治化予測の客観的診断法はまだ確立されていない。うつ病治療の初期段階に、抗うつ薬に対する治療反応性を予測し、適切な治療的介入をすることはうつ病の難治化を予防するために必要不可欠である。このため本分担研究者らは、幼少期の不遇な養育環境、対人関係様式、病前性格が、どのようにうつ病の予後に影響をおよぼすかを解明する目的で初年度は、外来初診時に実施可能な、1) 幼少期の養育環境、2) 対人関係様式を規定するパーソナリティ、3) 人格、を評価できるテスト・バッテリーの作成を行った。

A-2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究

近年精神科診断で頻用される DSM-IV のうつ病診断は、過去 2 週間の大うつ病エピソードの有無による横断診断であり、内因・外因・心因という病因・病態や生育歴、病前性格などの縦断的視点が考慮されていない。そのため、治療にもそれらの視点が反映されず、薬物治療に反応しない難治性うつ病が増加している。一方、うつ病の治療アルゴリズムが作成されているが、抗うつ薬治療に反応しないことが判明した段階で、電気けいれん療法 (ECT) やリチウム増強療法を選択する手順になっており、治療反応性や難治化予測の客観的診断法はまだ確立されていない。

うつ病の客観的・科学的診断については、約 30 年前から試みられている。歴史的には 70 年代のモノアミン代謝産物の尿中・血

中・髄液中濃度による診断法に始まり、80 年代には視床下部—下垂体—副腎機能の抑制不全を標的としたデキサメサゾン抑制試験 (DST) による診断法や DST とアミン代謝産物濃度を組み合わせた診断法なども試みられたが、特異性などに問題があり実用化されなかった。その後は抗うつ薬がシナプス間隙でのモノアミン再取り込み阻害を主要作用とするのに、臨床効果の発現には最低 2 週間という期間を要することから、うつ病の病態を反映するマーカーとして細胞内情報伝達物質や遺伝子発現などを検討するのが妥当ではないかと考えられるようになってきた。特に、抗うつ薬慢性投与やストレスによって脳内での発現が変動する、脳由来神経成長因子 (BDNF) ・グリア細胞由来神経成長因子 (GDNF) などの神経成長因子の発現を中心に、血清中の濃度の計測が行われてきた。しかしながらこれらの神経栄養因子の血清中産物の由来ははっきりせず、BDNF は血小板由来であるため血小板が生成された時点の状態を反映するなど、うつ病の臨床病状変化と神経栄養因子の発現をリアルタイムにモニターすることは出来ないなどの問題点のあることがわかってきた。しかしながら、うつ病治療の初期段階に抗うつ薬に対する治療反応性を予測し、適切な治療的介入をすることは、うつ病の難治化を予防するために必要不可欠である。このため本分担研究者らは、うつ病の予後に関連する生物学的マーカーを同定する目的で、未治療うつ病患者を対象に抗うつ薬治療前・寛解後での、末梢血白血球由来の BDNF ・GDNF の mRNA 発現や BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化を解析する計画を立案してきた。初年度に当たる本年度は、末梢血白血球由来の BDNF, GDNF の mRNA 発現計測法の開発及び BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化解析のための基礎検討を行った。

A-3. 難治性うつ病の治療反応性予測と fMRI による客観的診断法の確立に関する研究

本年度は、難治性うつ病の治療反応性の予測に向けて、薬物療法や認知行動療法 (CBT) に対する反応性から、二群に分け両群の臨床的差異について後方視論的調査から明らかにする。また、難治性うつ病の客

観的診断法の確立に向けて、海馬機能を評価するための課題を作成し、若年健常者を用いてその課題の妥当性を検証することを目的とした。

A-4. 潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響

脳血管性うつ病 (vascular depression: VD) とは高齢発症のうつ病の中で、その発症や症状経過に脳血管障害の存在が関与したうつ病を指し示す言葉である。VD は脳血管障害を伴わないうつ病 (non-vascular depression: non-VD) と比較すると抗うつ薬に対する治療反応性が低いこと、認知機能の全般的な低下が認められることは多くの報告があり、VD の長期的な予後が低いことは予測されてはいるものの実際に VD の長期予後について検討した報告は皆無である。

そこで本研究では VD の長期的な予後を明らかにすることを目的として以下のような検討をおこなった。

A-5. 難治性うつ病の長期転帰調査：bipolarity の関与

多作用機序の異なる2種類以上の抗うつ薬を十分量、十分期間服用したのにもかかわらず、十分に改善しないうつ病は (抗うつ薬に) 難治性うつ病と呼ばれ、うつ病患者全体にしめる割合は必ずしも高くはないものの、長期に症状が持続するため臨床的には大きな問題である。しかし、難治性うつ病の原因・病態は未だ十分に解明されていない。本研究では難治性うつ病の長期経過について自然史的に検討した。

A-6. MRI による海馬容積の測定と評価

ストレス社会においてうつ病が社会的な問題となっている。うつ病による疾病負担は全疾病と比較して第4位と非常に影響が大きく、2020年には第2位になると予想される。患者の心理的負担のみでなく、心筋梗塞、脳卒中発症や治療予後とも関連するなど、今すぐ対策を採るべき重要な課題である。しかしながら、現在、主に使用されているうつ病診断基準は症状を基とした横断的診断であり、病態・病因に基づいておらず、病態・病因に基づく画期的治療法の開発に至っていない。更に、病態に基づく

治療反応性・予後診断のための客観的指標・診断法の確立も必要である。

そうした中、近年、急速に発達した脳画像撮像手技を用いた、うつ病患者の研究の結果、慢性再発性大うつ病において、記憶・情動と関連する海馬の容積が、健常対照者と比較して有意に小さいという報告がなされた。

海馬容積は、うつ病発症後からの経過が長期であるほど小さく、結果として小さくなったと考察されているが、うつ病発症前から縦断的に観察した研究はなく、最終的な結論は得られていない。また、治療反応性との関連、診断補助としての性能についての検討はほとんどなされておらず、今後の検討が必要である。扁桃容積に関してもいくつか報告はなされているが、結論は得られておらず、測定精度など方法論の問題が指摘されており、更に精度の高い測定方法の開発が必要である。

これまでの海馬および隣接し、情動調節に海馬とともに重要な機能を果たす扁桃容積を測定した報告は、その多くが症例数が少ないなど問題点が挙げられる。そこで、今回、まず、測定手技の信頼性を向上させるため、多数例サンプルにおける、海馬および扁桃容積測定の手技の確認および信頼性の確認を行うとともに、二次目的として、これまでに作成した測定マニュアルに従い、新たな評価者による手技習得可能性について検討を行った。

A-7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的マーカー開発に関する研究

うつ病は近年、ストレス社会において増加し、SSRI, SNRI などの新世代抗うつ薬の開発はなされているものの、改善しない難治性うつ病が相当数存在しており、自殺増加の大きな要因にもなっている。一方で、現在のうつ病の診断基準は病態を十分に考慮したものではなくなっている。本研究では、客観的な生物学的血液マーカーを用いて病因・病態を考慮したうつ病の治療反応性予測と難治性うつ病の客観的診断法を確立することを目的とする。

うつ病は、最近の画像および死後脳研究の進展から脳の神経・グリア回路網の器質的障害であると考えられている。以前は発

達期しか生じないと考えられていた神経新生 (neurogenesis) が健常成人の脳の特定の部位でも生じていることが近年明らかとなっており、神経新生の変化がうつ病の病態・治療に関連しているという指摘がなされている。一方、神経新生調節因子である栄養因子・成長因子が、うつ病の血液マーカーとして有用かどうか十分な検討はされていない。

今年度は、神経新生の調節に重要であることがすでに知られている3種類の栄養因子・成長因子である GDNF (グリア細胞由来神経栄養因子)、VEGF (血管内皮成長因子) と bFGF (塩基性線維芽細胞成長因子) に着目して末梢血液を用いて検討を行った。

A-8. 難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有用性の検討：血中 HVA, BDNF 動態からの検討

作用機序の異なる2種類の抗うつ薬を十分量 (例えばイミプラミン換算で150mg/day以上)、十分期間 (最低4週間以上) 投与しても、抑うつ症状が改善しないものを一般的に難治性うつ病と呼んでいる。難治性うつ病に対する治療法としては、リチウム、甲状腺ホルモンあるいはドパミン作動薬の追加による抗うつ薬の増強療法や電気痙攣療法が試みられている。我々はこれまで、難治性うつ病に対して先行投与のクロミプラミンにカルバマゼピンの追加により著効した症例や経頭蓋的磁気刺激療法の有効性について報告した。今回の研究では、難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有効性に関しての検討を行うことを目的とした。さらに難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の作用をカテコールアミン動態や脳由来神経栄養因子 (BDNF) への影響の観点からも検討した。

A-9. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究 うつ病のWHO長期予後調査 脳情報伝達系を介した老年期うつ病新規治療薬の開発

うつ病の生涯罹患率が10~20%に上る高頻度疾患であり、多くは生活上のストレスなどを契機に抑うつ状態が生じ、その後もストレスが重なり再発再燃を繰り返す。特に再発再燃が繰り返されると、今まで有効

だった抗うつ剤の効果が減弱し、症状の悪化を招く場合もある。従って、気分障害の長期経過の中で特徴的な躁転という急激な病相の変化や慢性化、治療抵抗性の解明が現在の気分障害における最重要課題である。その背景の脳情報伝達系を介した神経可塑的变化が注目されている。そこで今年度長崎WHOセンターにおけるうつ病長期転帰に関する再解析ならびに、cAMP系関与する薬剤のうつ病に関する効果のプレリミナリーの研究を行った。

B. 研究方法

B-1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究

難治性うつ病の心理社会的要因として、幼児期の養育環境、社会認知機能、性格特性がうつ病の難治化に及ぼす影響を検討するために、幼少期トラウマ体験 (Early Trauma Inventory: ETI)、主題統覚検査 (Thematic Apperception Test: TAT)、短縮版ネオ人格目録改訂版 (NEO-Five Factor Inventory: NEO-FFI) を用いた。

幼少期トラウマ体験は、Bremner, Vermetten, Mazure (2000) によって作成された Early Trauma Inventory の自己報告版を参考に作成したものである。この質問紙は、18歳以前にトラウマとなる出来事を経験したかどうかをたずねる項目からなり、以下の4つの領域がある。すなわち、一般的なトラウマ経験 (11項目)、身体的虐待 (5項目)、情緒的虐待 (5項目)、性的虐待 (1項目) であり、それぞれの出来事に対して経験したことがある場合は「ある」を、経験したことがない場合は「ない」を選択するものである。得点の算出方法は、トラウマとなる出来事を経験したことがある場合は1点、経験したことがない場合は0点として得点化され、22項目の合計点が高いほど、トラウマとなる出来事を多く経験したことを示している。

主題統覚検査は、マレー (Murray) によって作成された投射法性格検査である。この検査は、人物などが登場する日常生活場面などが描かれた20枚の図版を見せ、その登場人物の現在の欲求、そして過去や未来を含めた物語を語らせ、その内容から対象者

のパーソナリティ、特に欲求の内容やその対処などを中心に見ていく検査である。本研究では、対象者の対人関係における力動的態度をとらえる方法として用いられ、物語は、「依存性」「関係拒否」「親密性」の3点から分析される（石谷，1994を参照）。

「依存性」は、物語のなかに救護欲求が表れるか否かをみるものであり、主人公がほかの登場人物に救護欲求を向けていたり、また救護欲求が満たされないことからくる様々な不快な気分や感情を体験していたりすることが、物語の中に述べられているとき、1点として得点化される。「関係拒否」は、孤立や排除の欲求が表れているか否かをみるものであり、主人公がほかの登場人物に対して、敵意・脅威・警戒心・不信感を感じていること、また感じていることをうかがわせる言動が、物語の中に述べられているとき、1点として得点化される。「親密性」は、親和動機が表れているか否かをみるものであり、主人公が愛情・友情・幸福・安心を体験していたり、それをうかがわせる優しい言動が述べられていたり、登場人物間で相互に、それ自体が目的となる対話・当人たちの関係についての会話・苦悩する他者を援助するための対話が述べられているとき、1点として得点化される。親密性動機が高い者は低いものに比べて、他者から暖かい、情愛深いといった評価を受けることが多く、自己を開示し他者の幸福への配慮に高い反応傾向を示すとされており、「依存性」の高さは、受動的で一方的な関係性の強さを示している。

短縮版ネオ人格目録改訂版は、5因子からなる人格検査である。5因子はさらに6つの下位次元で構成され、より詳細な人格のプロフィールを示すことが可能である。5因子には、N：神経症傾向（不安、敵意、抑うつ、自意識、衝動性、傷つきやすさ）、E：外向性（温かさ、群居性、断行性、活動性、刺激希求性、よい感情）、O：開放性（空想、審美性、感情、行為、アイディア、価値）、A：調和性（信頼、実直さ、利他性、応諾、慎み深さ、優しさ）、C：誠実性（コンピテンス、秩序、良心性、達成追求、自己鍛錬、慎重さ）がある（全60項目）。「非常にそうだ」から「全くそうでない」までの5件法で回答を得るものである。

統計解析は、SPSS14.0を用いて回帰分析をおこない、難治性うつ病を予測する要因を検討する。具体的には、目的変数として抑うつ症状（HAMD）を投入し、説明変数として、養育環境、対人関係、性格特性を投入する。

本年度は、予備的な研究として、平成18年10月から広島大学病院にて入院治療をおこなっており、DSM-IVの大うつ病の診断基準を満たす症例に、Early Trauma Inventory（ETI）による調査を実施し、ETI得点が1点以上の症例をトラウマイベント高群、ETI得点が0点の症例をトラウマイベント低群と分類した。これら2群の症例について、幼少期の養育環境とうつ病の難治性との関連を検討するために、入院歴、うつ病発症からの持続期間について検討を行った。統計的分析は、SPSS14.0を用いてt検定をおこなった。

（倫理面への配慮）

被験者に対しては研究内容について十分な説明を行い文章にて同意を得た。本研究は広島大学倫理委員会にて承認を受けている研究計画に基づいて実施した。

B-2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究

B-2-1. 末梢白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現計測法の開発

ヒト末梢血6ml採血後、血球遠心分離剤（Nycoprep：AXIS-SHIELD社）を用い600×g、10分の遠心分離によって白血球層（WBC）を抽出する。RNA抽出キット（Ribo-Pure Blood：Ambion社）に付属したRNA Later溶液（Ambion社）をWBCに加え、RNAの分解を防ぎ-80℃にて保存する。保存したサンプルからのtotal RNA抽出には、Ambion社のRibo-Pure Blood Kitを用いて行った。簡単に方法を示すと、サンプルを120000rpm、1分の遠心後、沈殿にLysis溶液を加え、完全に溶解させる。続いてSodium Acetate溶液を加え、フェノール/クロロフォルム処理を行う。上清にエタノールを添加し、フィルターに核酸をトラップさせWashバッファーにて洗浄後、75℃にてElution溶液を添加し、核酸を抽出する。抽出した核酸2ugを対象に、逆転写キット（Quantiscript Reverse Transcription：

Quiagen 社)を用いてゲノム DNA を除去後、cDNA へ逆転写を行った。GeneBank より検索したヒト BDNF, GDNF 遺伝子のコード領域の塩基配列をベースに、real-time PCR 法に必要な forward & reverse primer, TaqMan probe を、Primer Express (Applied Biosystems 社)にて作成した。逆転写反応によって作製された cDNA をサンプルに、primer, probe と DNA Sequence Detection System 7900-HT を用いて、real-time PCR 法にて各 mRNA 発現を計測した。

B-2-2. 末梢血白血球由来の BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターメチル化の解析のための予備検討

BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化の解析には、methylation specific PCR (MSP) 法と bisulfite sequencing 法が用いられる。この方法では制限酵素消化と bisulfite 反応法をまず行う必要があるが、従来法ではこの過程に長時間を要する。従って本プロジェクトの目的である、抗うつ薬反応性を治療前あるいは治療初期に同定して難治化を予防するという趣旨に不適切となる恐れがある。このため初年度である本年度は、この制限酵素消化反応および bisulfite 反応過程の短縮化を Methylamp coupled DNA isolation and modification kit (Epigentek 社)の使用にて試み、本プロジェクトの目的に適するよう方法の改良を行った。

具体的には、血清サンプルを DNA digestion powder and buffer に混和して 65°C, 10 分のインキュベーションにて DNA 消化を行った後に、isolation enhancer を含む buffer とカラム遠心操作にて DNA 抽出を行った。血清サンプルより抽出された DNA サンプルを、DNA modifier を含む buffer にて再びインキュベーションし、非メチル化シトシンをウラシルに変換した。その後は再度 DNA binding buffer と混和してカラム遠心操作にてウラシル化 DNA をカラム吸着後、DNA elution buffer によるカラムからの抽出を行った。

(倫理面への配慮)

被験者に対しては研究内容について十分な説明を行い文章にて同意を得た。本研究は広島大学倫理委員会にて承認を受けている研究計画に基づいて実施した。

B-3. 難治性うつ病の治療反応性予測と fMRI による客観的診断法の確立に関する研究

[検討-1-1]

DSM-IV の大うつ病の診断基準を満足し、十分量の fluvoxamine を 4 週間投与したにも関わらず Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) による改善率が 25%未満の症例、あるいは 6 週間投与したにも関わらず HRSD による改善率が 50%未満の症例を非反応群とした。それ以外の症例を反応群とした。これらの症例について年齢、性、診断(単一/反復性)、身体疾患の合併、ストレス因の存在、治療開始時の HRSD、Global Assessment of Functioning (GAF) などについて後方視論的に調査を行った。

[検討-1-2]

DSM-IV の大うつ病の診断基準を満足し、12 週間の CBT を行い、その間の HRSD による改善率が 50%未満の症例を非反応群とした。それ以外の症例を反応群とした。抗うつ薬抵抗性の定義は Thase & Rush (1997) に従い分類した。CBT 実施前の抗うつ薬抵抗性のレベルと CBT の治療反応性について比較検討した。

[検討-2]

海馬機能の測定のため、漢字二文字の単語の組み合わせを記憶する課題を作成し、若年健常者 27 名を対象に基礎検討を行った。課題前半では、単語対を被験者に記憶させ(符号化フェーズ)、後半では記憶した単語の組み合わせを判断させた(想起フェーズ)。脅威語の単語対を記憶する条件と中性語の単語対を記憶する条件が設定された。統制条件では 2 つの曜日の異同を判断させ、実験はブロックデザインで行われた。

(倫理面への配慮)

被験者に対しては研究内容について十分な説明を行い文章にて同意を得た。本研究は広島大学倫理委員会にて承認を受けている研究計画に基づいて実施した。

B-4. 潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響

平成 2 年度から平成 12 年度の間に関島大学病院および県立広島病院精神科で入院治療をおこなった 50 歳以上発症の大うつ病患者のうち、治療時に頭部 MRI を施行され、

初回入院治療であった 170 例の患者を対象とした。上記の対象に対して研究の趣旨および研究への参加依頼を説明した文章とともに調査票を郵送し、治療開始以降現在までの健康状態（うつ病、認知症、その他の神経疾患、身体疾患など）に関する質問をおこなった。診療録で治療状況が確認できる対象については診療録の記載からも上記事項の確認をおこなった。

初回入院治療時の MRI 所見（潜在性脳梗塞の有無）から対象を VD 群および non-VD 群に分け、両群の間で経過観察期間中のうつ病相の期間、回数、入院回数、脳卒中、パーキンソニズム、認知症、その他の身体疾患、死亡などの予後について比較をおこなった。

（倫理面への配慮）被験者に対して本研究の趣旨を十分に説明し、書面にて同意を得た。本研究は広島大学医学部倫理委員会にて承認を受けている研究計画に基づいて実施した。

B-5. 難治性うつ病の長期転帰調査：bipolarity の関与

1995 年当科で調査した難治性うつ病 34 例（精神経誌 98: 329-342, 1996）のうち、1995 年以降 1 年以上経過を追うことが出来た 26 例（双極性うつ病 5 例、単極性うつ病 21 例）について最長 11 年間の前向き長期転帰調査を行った。最終診断・寛解の有無・再発・増強治療の効果について検討した。なお、本研究は自然史的 (naturalistic) な調査であり、調査対象となった患者の同意は得ていないが、患者のプライバシーに関する情報が外部に一切漏れることがないように配慮した。

B-6. MRI による海馬容積の測定と評価

国立がんセンター東病院乳腺外科において乳がんの初回手術を受けた 18-55 歳女性の GE 製 1.5T MRI により高解像度 3D-SPGR シークエンス (TR=25msec, TE=5msec, flip angle=45°, number of excitation=2, matrix=256 × 256 pixel, field of view=230mm) を用いて撮像された脳画像のデータベースを使用した、初回乳がん術後のうつ病と脳形態の関連についての検討研究で測定する画像を使用した。上記研究は、

国立がんセンター倫理審査委員会で承認された後に行われ、参加者に対して文書を用いて十分な説明後、同意を得て行われた。また、臨床研究の指針等、必要な法令等を遵守し行われた。

海馬・扁桃容積の測定は既に策定したマニュアルトレースのための基準および方法に従い、コンピューター画面に ANALYZE PC software を用いて表示した脳画像上の海馬・扁桃境界をペンタブレットデバイスを使用してトレースを行った。最終的に海馬・扁桃に含まれるボクセル数から容積を算出した (松岡ら、脳神経, 55 巻 8 号 2003 年)。測定する MRI 脳画像数は 264 画像であった。右の海馬・扁桃容積測定に際し、左右のバイアスを防ぐために測定者にブラインドで、左右反転した画像を作成し、264 画像に追加した。また、測定順によるバイアスを避けるため順をランダム化し、測定精度の中間評価として評価者内 (再測定) 信頼性を評価のため、100 画像ごとに 10 画像を複製しランダムな順で挿入した。更に、最終的な再測定信頼性評価のために全画像から 30 画像を複製しランダムな順で挿入した。結果として全体で 660 画像のトレースを行うこととした。最終的な主目的は 660 画像測定時の 30 画像の評価者内信頼性としての級内相関 (ICC) 値とした。また、中間解析として各 100 画像ごとの評価者内信頼性を評価した。中間解析の ICC 値は、その値が 0.7 以下の場合は 100 画像を再度測定するための基準として使用した。評価者間信頼性を評価するために、はじめの 200 画像からランダムに 15 画像を選択し、下記に記述する他評価者に測定させ、ICC 値を算出した。

上記の評価者間信頼性の値は、新たな評価者が既存のマニュアルに従い本手技の習得が可能か否かを検討するための、本研究の二次目的の評価を兼ねている。新たな評価者と既存の訓練された評価者との間の評価者間信頼性としての ICC 値が 0.7 以上であれば、手技が習得できたと判断することとした。この二人目の測定者は、既存のマニュアルトレース基準に従い新たに手技の習得を行う者とし、これまでに十分訓練された測定手技を習得した者の指導の下、十分習得できたと判断され、評価者間 ICC が

0.7 以上であることが確認される時点までの期間を測定した。

また、参照として、1 海馬・扁桃体容積測定に要する時間を概算した。

今回は、220 画像までの中間報告結果を示す。

B-7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的マーカー開発に関する研究

(1) 呉医療センター倫理委員会での承認をうけ、文書によるインフォームドコンセントを得た、うつ病および躁うつ病患者 56 名（全例服薬中、部分あるいは完全寛解状態）および健常人 56 名の血中 GDNF および TGF- β について、全血サンプルを酸処置し、ELISA 法を用いて定量化を行った。

(2) 国立精神・神経センター武蔵病院倫理委員会での承認をうけ、文書による同意が得られたうつ病患者 16 名（全例服薬中、部分あるいは完全寛解状態）および健常人 16 名を対象に血清を用いて VEGF および bFGF について ELISA 法にて定量化を行った。

B-8. 難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有用性の検討：血中 HVA, BDNF 動態からの検討

対象は産業医科大学病院神経精神科の外來および入院患者 25 例である（性別 M/F: 10/15, 年齢 56 ± 17 yr）。20 例が DSM-IV の大うつ病性障害、5 例が双極 I 型障害（最も最近のエピソードがうつ病）であり、22 例が精神病性の特徴を伴っていた。全例に対して非定型抗精神病薬による治療が行われた。精神症状の評価は Hamilton Rating Scale for Depression (Ham-D) と Positive and Negative Symptom Scale (PANSS) で行い、Ham-D 得点が 50% 以上改善した群を responder 群、50% 未満を nonresponder 群とした。また、非定型抗精神病薬投与直前と投与 4 週間後に採血を行いカテコールアミン代謝産物 (HVA, MHPG) の血中濃度を HPLC-ECD 法、BDNF の血中濃度を sandwich ELISA 法で測定した。本研究は産業医科大学倫理委員会の承認を受けており、患者には書面による説明を行い同意を得た。

B-9. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究 うつ病のWHO長期予後調査 脳情報

伝達系を介した老年期うつ病新規治療薬の開発

うつ病長期転帰 1972 年に開始された the Schedule for Standardized Assessment of Depressive Disorders (WHO/SADD) 研究にエントリーされた患者の 94.4% である、102 例に関して、89 例には直接面接（一部は電話面接）を行い、6 例は診療録や他の情報源により調査を行い 5 年後の状態を調査した。73 例は病相、間歇期にあり、35 名は病相期間中であった。結果は表 1 にまとめる。

シロスタゾールを脳梗塞後うつ病患者 3 名に関して 50–200mg 投与し、0、4、8、12 週時の HAMD、血清 BDNF を測定した。BDNF を Promega BDNF Emax™ ImmunoAssay System を用い ELISA 法により測定した。HAMD は経時的に減少を示し、血中 BDNF は経時的に増加を示した。

C. 研究成果

C-1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究

幼少期トラウマ体験の調査では、18 歳以前に経験したトラウマとなる出来事の多さがうつ病の治療抵抗を高めることが予測され、不遇な養育環境がうつ病の難治化に影響を及ぼすことが明らかにされる。

主題統覚検査では、「依存性」の強さがうつ病の治療抵抗を高めることが予測される。「依存性」の強い人は、特定の相手とともにいて、常に直接的に強化を受けていないと安定せず、行動を起せない。そのため、自己の行動の準拠棒として絶えず他者を必要とし、相手への配慮や尊重よりも自己の存立のために他者を必要とする対人関係をもつことが指摘されているからである。また、「関係拒否」の強さもうつ病の治療抵抗を高めることが予測される。「関係拒否」の強い人は、同一性の脆弱さゆえに相手を過剰に意識する。そのため、自己の卑小感を強めたり、相手を拒み関係から離れたり関係を損なうような言動をするため、関与が困難であることが指摘されているからである。このような結果から、対人関係の在り方がうつ病の難治化に影響を及ぼすことが明らかにされる。

短縮版ネオ人格目録改訂版では、主に、

神経症傾向の高さと内向性の高さがうつ病の治療抵抗を高めることが予測され、性格特性がうつ病の難治化に影響を及ぼすことが明らかにされる。

本年度に実施した ETI によるうつ病予後調査の結果、18 例の対象の内、トラウマイベント高群は 11 例、トラウマイベント低群は 7 例であった。両群間で、入院歴、うつ病発症からの持続期間について t 検定をおこなった結果、どちらに関しても統計的に有意な結果は得られなかったものの、うつ病発症からの持続期間については、トラウマイベント高群がトラウマイベント低群よりも平均年数が高く（高群：10.81、低群：5.50）、トラウマイベントを多く経験している症例は、うつ病発症からの持続期間が長いことが示された。

C-2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究

C-2-1. 末梢血白血球由来の BDNF, GDNF mRNA 発現計測法の開発

末梢血よりグロビン由来の mRNA 発現を出来るだけ除外するため Nycy Prep を用いて白血球層を分離し、これから total RNA を抽出して逆転写反応にて cDNA を合成する方法を用いて、real-time PCR 法による BDNF, GDNF mRNA 発現の計測を可能にすることに成功した。BDNF mRNA の発現は real-time PCR amplification curve でみると、おおよそ PCR サイクルで 29 サイクルから増幅されており、Ct 値は 32.5 サイクルと十分に検出できていた。GDNF mRNA の発現も同様に real-time PCR amplification curve でみると、おおよそ PCR サイクルで 31 サイクルから増幅されており、Ct 値は 34.5 サイクルと十分に検出できていた。今回の計測結果からみると、BDNF mRNA 発現量は GDNF mRNA 発現量に比べて、約 4 倍末梢血白血球では高いことがわかった。またこれらの mRNA 発現をモニターした real-time PCR の amplification curve からみて、未治療うつ病時に予想される発現低下にも本方法は十分対応しうる方法であると思われた。

C-2-2. 末梢血白血球由来の BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターメチル化の解析のための予備検討

ヒト血清 1 ml から Methylamp coupled DNA

isolation and modification kit (Epigentek 社)を用いて、DNA 制限酵素消化・抽出・bisulfite 反応を行い、GDNF 遺伝子第 1 エクソン上の CpG アイランド内のシトシン・メチル化を MSP 法にて検出することが可能であった。本キットの使用によって、血液採取から MSP 法へのステップを僅か 3 時間と大幅に短縮することが可能となった。

C-3. 難治性うつ病の治療反応性予測と fMRI による客観的診断法の確立に関する研究

[検討-1-1]

35 例の対象の内、反応群は 22 例、非反応群は 11 例、中断群は 4 例であった。両群間で、年齢、性、診断（単一/反復性）、身体疾患の合併、ストレス因の存在、治療開始時の HRSD、Global Assessment of Functioning (GAF) については変化がなかったが、遺伝負因(気分障害)の存在に関しては非反応群で高い割合(46% vs 9%)を示していた。

[検討-1-2]

22 例の対象の内、反応群は 10 例、非反応群は 12 例であった。Stage I の抵抗性うつ病 4 例中 4 例(100%)、Stage II の 7 例中 2 例(28%)、Stage III の 11 例中 3 例(27%)が治療反応を示していた。

[検討-2]

符号化フェーズでは、左前頭前野、内側前頭前野、海馬、及び視覚野の賦活が認められた。さらに符号化フェーズにおける脅威語条件では、中性語条件に比較して後部帯状回の活動が亢進していた。想起フェーズでは符号化フェーズで賦活していた領域に加え、右前頭前野も賦活していた。また、想起フェーズにおける海馬活動は、脅威語条件よりも中性語条件において亢進していた。さらに PPI 解析を用いて、海馬と皮質の結合性を評価した。その結果、海馬は前頭前野、島、下頭頂葉と強い関連性を示した。条件ごとに結合性を比較したところ、脅威語条件では、中性語条件と比較して島や前帯状回と結合性が高くなっていた。中性語条件では、脅威語条件と比較して側頭葉と強い結合性を示した。

C-4. 潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響

89 例 (VD 群 39 例、男性 13 例、女性 26 例、non-VD 群 50 例、男性 18 例、女性 32 例、平均経過観察期間 9.4 年) から回答が得られた。回答を得られた対象と得られなかった対象との間には年齢、性別などの背景因子には差はなかった。

VD 群では non-VD 群と比較してうつ病相期間 (平均 2.6 年対 1.3 年)、入院回数 (平均 1.1 回対 0.4 回) とともに有意に多く、経過観察期間中に認知症を発症した割合 (18% 対 4%) も有意に高かった。脳卒中、パーキンソニズムの発症、経過観察期間中の死亡も VD 群で高かったものの有意ではなかった。

C-5. 難治性うつ病の長期転帰調査 : bipolarity の関与

1) 最終観察時の診断は双極性障害 10 例、単極性うつ病 16 例であり、観察開始時の単極性うつ病のうち 5 例 (24%) は長期経過観察中に双極性障害に診断が変更となった。

2) 26 例中 18 例は経過観察中に完全寛解に至ったが、そのうち 7 例は薬物療法中止などにより再発した。

3) 1995 年調査時の個々の増強治療の有効率を長期観察後の最終病型診断に基づいて解析すると、炭酸リチウムや甲状腺ホルモンの抗うつ薬との併用は単極性うつ病よりも双極性うつ病でより有効性が高い傾向がみられたが、ドパミン・アゴニストの抗うつ薬との併用は単極性うつ病でも双極性うつ病でも同様の有効率を示した。炭酸リチウムによる増強治療に反応した 5 例のうち 4 例は最終診断が双極性障害であった。

C-6. MRI による海馬容積の測定と評価

1-110 画像中の 10 画像における海馬容積の評価者内信頼性は ICC=0.98、扁桃体は ICC=0.99、111-220 画像中ではそれぞれ、0.96 および 0.77 であった。1-220 画像全体の 20 画像の ICC はそれぞれ 0.97 および 0.94 であった。1 海馬・扁桃体測定に要する時間は約 2 時間であった。

新たな評価者は精神科医師で、既に策定されているマニュアルトレース基準を元に練習用の脳画像を用いてトレースの練習をするとともに、既に測定手技を習得している測定者から直接 3 回、電話他で数回、海馬・扁桃体の形態、トレース基準について

の指導を受けた。1-220 画像までの 15 画像を用いた、新たな評価者との評価者間信頼性は海馬で ICC=0.95、扁桃体で ICC=0.73 であった。新たな評価者の手技習得は 2 ヶ月を要した。

C-7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的マーカー開発に関する研究

1) うつ病および躁うつ病患者の血中 GDNF 濃度は、健常者と比較して有意に低かった ($P < 0.001$)。一方、血中 TGF- β 濃度は健常人との差は見られなかった。

2) 血中 VEGF 濃度は、うつ病患者で有意に高かった ($p = 0.019$) が、血中 bFGF 濃度は有意な差はなかった。特に、うつ病患者群の中で精神疾患の遺伝負因のある患者に VEGF が高い傾向が見られた。

C-8. 難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有用性の検討 : 血中 HVA, BDNF 動態からの検討

1) 25 例中 22 例では抗うつ薬あるいは気分安定薬が少なくとも 4 週間以上先行投与されている症例に非定型抗精神病薬 (リスペリドン 17 例、ペロスピロン 3 例、オランザピン 2 例) が追加投与され、残り 3 例ではリスペリドン単剤による治療が行われた。先行投与されていた薬物の内訳は、パロキセチン 7 例、リチウム 4 例、バルプロ酸 3 例、ミルナシプラン 2 例、フルボキサミン 2 例、クロミプラミン 1 例、アミトリプチリン 1 例、アモキサピン 1 例であった。2) Ham-D 得点はリスペリドン投与前の 26 ± 8 点からリスペリドン投与 4 週間後には 17 ± 11 点に低下した。3) PANSS 陽性症状 (PANSS-P) 得点はリスペリドン投与前の 20 ± 6 点からリスペリドン投与 4 週間後には 13 ± 8 点に低下した。4) 25 例中 13 例 (52%) が非定型抗精神病薬投与 4 週間後までに responder となった。5) responder 群と nonresponder 群の間には性別、年齢、Ham-D、PANSS-P 得点に差は認められなかったが、responder 群では nonresponder 群より有意に非定型抗精神病薬投与前の血中 HVA 濃度が高値であった。6) responder 群と nonresponder 群でリスペリドン投与前の血中 MHPG 濃度に差は認められなかった。7) リスペリドン投与による Ham-D 得点の変化と血中 HVA 濃度の変化には有意

な負の相関が認められた。8) リスペリドン投与による Ham-D 得点の変化と血中 MHPG 濃度の変化には関連が認められなかった。9) 難治性うつ病患者では健常者と比較して血中 BDNF 濃度が有意に低値であった。10) Ham-D 得点と血中 BDNF 濃度との間には有意な負の相関が認められた。10) 非定型抗精神病薬追加投与後の responder では 4 週間後に血中 BDNF 濃度の増加が認められた。

C-9. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究 うつ病の WHO 長期予後調査 脳情報伝達系を介した老年期うつ病新規治療薬の開発

うつ患者のコホートは Basle、モントリオール、長崎、テヘラン、東京とした。患者は社会的・臨床的機能を測る標準化された尺度を用いて評価された結果によると。① 439 人 (79%) の 10 年間の追跡調査ができた。② 1/3 (36%) は、少なくとも追跡調査中に一回は再発し、それらの半分 (18%) は予後が非常に不良であった。③ 24% は追跡調査の間半分以上にわたって、深刻な社会生活の悪化をきたした。④ 1/5 (21%) 以上は、完全寛解が見られなかった。⑤ 1/5 (22%) の人は 1 年以上のうつ病エピソードが少なくとも 1 度はあり、そのうち 10% の人は調査中に 2 年以上継続したうつ病エピソードが見られた。⑥ 11% の人は自殺で亡くなり、そのうちさらに 14% は自殺未遂があった。

以上のように長崎 WHO センターにおけるうつ病の長期転帰の結果では、① 約 20% のうつ病患者は慢性化する。② 約 20-50% のうつ病患者は社会機能を損なう③ 心因性は内因性より予後悪く、自殺率が高い④ うつ病患者の 10% は自殺を試みる事が明らかになった。従って難治因子として心因・心理学的要因を同定する事が重要であり、今後心理社会的検討を加え、解析を行う予定である。

これまで報告者らは薬理学研究から向精神病薬の作用点として 2 次メッセンジャーを中心とした脳情報伝達系の関与を示し、また神経幹細胞において抗うつ薬が神経細胞分化機能を促進し、これに CREB-BDNF 系が関与することを報告した。よって気分障害の原因と治療に関与する神経可塑性の基

盤が cAMP-CREB-BDNF から神経幹細胞を介して行われていることが強く推察され、脳情報伝達系を介して、内在性神経幹細胞を活性化することが新たな気分障害の治療法として最も有力な方法であると考えられた。そこでプレリリミナリーであるが基礎研究において、cAMP-CREB 系を活性化することが確認され、臨床的に脳梗塞の再発予防に有効である PDE (ホスホジエステラーゼ) 3B 型の阻害薬シロスタゾールを 5 名の脳梗塞後うつ患者に投与したところ、症状の改善と血中 BDNF が経時的に増加を示し、新たなうつ病の治療薬としての可能性が示唆された。今後症例数を増やしていく予定である。

D. 考察

D-1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究

本年度は、難治性うつ病に関連する要因について検討した。その結果、不遇な養育環境、葛藤に満ちた対人関係、性格特性の偏りがうつ病の難治化を予測する要因であることが示唆された。対人関係においては、特に「依存性」や「関係拒否」といった対人関係の在り方がうつ病の治療抵抗を強めることが示された。また、性格特性においては、特に「神経症傾向」や「内向性」の高さがうつ病の難治化を予測することが示された。これらの特徴は、うつ病の治療において、難治化を予防する治療方法を検討する際のポイントとなることが示唆された。

さて、本年度の研究結果から、難治性うつ病に幼少期の不遇な養育環境が影響を及ぼしている可能性が示唆された。養育環境とうつ病との関連についてのこれまでの研究では、Parental Bonding Instrument (PBI) を用いてうつ病の養育歴を検討し、不遇な養育環境で育ったという認知とうつ病の発症とが関連しているという報告 (Duggan Sham, Minnlee, et al., 1998; McLaughlin, Heath, Bucholz, et al., 2000) もあることから、養育の質がうつ病に対する脆弱性を高めることが示唆された。しかしながら、PBI は個人の養育に対する評価であり、実際の養育環境とは異なる可能性もある。このようなことから、トラウマとなるような出

来事の有無に限定した Early Trauma Inventory (ETI)の方が、不遇な養育環境を評価する上では妥当性が高いと考えられる。また、本研究で使用した主題統覚検査 (TAT) は、ロールシャッハ・テストと比較して実施時間が短いため研究参加者の負担を軽減できる点や対人関係に関わる力動的態度をとらえる評価法として優れている点で有益である。

実施時間が短いという点では、NEO-FFIも同様である。現在、本邦において標準化されている5因子モデル性格検査は、本研究で使用した短縮版ネオ人格目録改訂版 (NEO-FFI)、5因子性格検査 (FFPQ)、主要5因子性格検査 (BFPI) の3種類である。FFPQ、BFPIは、本邦で開発、翻案されており、FFPQは150項目、BFPIは70項目と項目数が多く、研究参加者の負担が大きい。一方、本研究で使用したNEO-FFIはFFPQとBFPIに比べて30項目と項目数が少ないため簡便である。また、NEO-FFIはCosta & McCrae (1985, 1992) によって開発され、多くの国で翻案されるなど、性格検査として広く支持されているという利点がある。これらのことから、本研究で使用した心理検査は、養育環境や対人関係、性格特性を測定する検査として妥当であることが示唆された。

D-2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究

D-2-1. 末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現計測法の開発

本年度の研究結果から、ヒト末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現の計測が可能であることが明らかにされた。これまでにヒトでのBDNF発現の報告は、血清・血漿を用いての検討と死後脳を用いての解析がある。うつ病の病状の変化と血清BDNF濃度の研究については、これまでにShimizuら (Biol Psychiatry 54: 70-75, 2003) やKaregeら (Biol Psychiatry 57:1068-1072, 2005) の報告がある。両者の研究とも、うつ病病相期では有意なBDNF濃度の低下を報告しており、特に前者の研究ではBDNF濃度低下は病相寛解期で回復することも報告されている。多数例での今後の検討を要するも、これらの報告は血清BDNF濃度の変動がうつ病の予後の推測に寄与する可能を示唆して

いる。しかしながら血清BDNFの由来の大半は、血小板からの放出によることが報告されており、血清BDNF濃度の低下は発現の減少ではなく血小板機能の低下を反映している可能性もある。同時に血小板由来ということは、血小板が骨髄で形成された時点でのBDNF発現を反映しており、採血時の病態を血清BDNF濃度はリアルタイムで反映しているわけではないと考えられる。また死後脳を用いたBDNF発現の検討では、治療に伴う変化を検討することは不可能であり、本研究の趣旨には適していない研究手法である。従って末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現をモニターしていくことは、病状変化をよりリアルタイムでこれらの遺伝子発現が反映しているかを検討出来ると考えられる。脳内と末梢血白血球でのmRNA発現の相関については、今後、ラットを用いて解析していく必要があると思われる。また抗うつ薬の慢性投与によってラット海馬ではBDNF mRNA発現の亢進することが報告されており、本研究でも抗うつ薬治療によって白血球由来のBDNF mRNAも亢進する可能性があり、治療効果とは無関係に発現の亢進することも予想される。従って、今後はうつ病臨床症状の改善を慎重にモニターしながら、発現量の変化を追跡していく必要があると思われる。

D-2-2. 末梢血白血球由来のBDNF, GDNF 遺伝子プロモーターメチル化の解析のための予備検討

これまでのうつ病についての基礎的・臨床的研究から、うつ病病相期でのBDNF, GDNF発現減少、病相寛解期でのBDNF, GDNF発現正常化が報告されている。最近のエピジェネティクス研究の進歩から、このような発現の変動には各遺伝子のプロモーター上にあるCpGアイランドのシトシンのメチル化の変動が、密接に関与していると考えられている。従って末梢血由来ではあるがBDNF, GDNF 遺伝子のプロモーターのメチル化を治療前に解析することは、その後の抗うつ薬によるこれらの遺伝子発現の変動を予測する意味で重要な情報を提供してくれることになると予想される。初年度の実験結果から、迅速に血清サンプルからDNA消化・抽出・修飾を行うことが可能であり、メチル化をMSP法にて解析することも可能である

ことがわかった。

D-3. 難治性うつ病の治療反応性予測とfMRIによる客観的診断法の確立に関する研究

検討-1-1の結果から、抗うつ薬抵抗性うつ病の背景に気分障害の遺伝負因の存在が推定された。

また検討-1-2の結果から抗うつ薬抵抗性うつ病では、そのレベルが高いほど認知行動療法にも抵抗することが推定された。

検討-2の結果から、符号化及び想起フェーズの両方で海馬の賦活が確認され、これまでの結果と一致する結果が得られた。

D-4. 潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響

VDではうつ病自体の長期的予後が低く、持続的な器質性の認知障害をきたしやすいことが明らかとなった。認知症への進展はnon-VD群では4%と同年代の健常高齢者と同程度であり、老年期うつ病の中でも特にVD患者において認知障害に注意しながら治療をおこなっていく必要性が示唆された。

本研究ではうつ病への罹患歴のない健常高齢者との比較をおこなっていないため、今後は健常高齢者と比較して結果を確認する必要がある。

D-5. 難治性うつ病の長期転帰調査：bipolarityの関与

双極性うつ病では抗うつ薬による躁転、不安定化のほか、抗うつ薬に対して治療抵抗性であることが従来から指摘されているが、本研究の結果は難治性うつ病の成因において双極性(bipolarity)がはたす役割が大きいことを示唆している。しかも、今回の調査対象となった双極性難治性うつ病症例はすべてうつ病相で発症していることから、「うつ病相で発症する双極性障害」のうつ病相が難治性である可能性が示唆される。

D-6. MRIによる海馬容積の測定と評価

220画像と多数例の画像サンプル測定においても海馬・扁桃体容積測定の信頼性は、過去の報告と比較して差を認めなかった。また、これまでに策定した、海馬・扁桃体容積測定のマニュアルトレース基準を用いれば、十分な測定信頼性を得られるまでの

手技が習得できることが確認された。

D-7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的マーカー開発に関する研究

プレリミナリーな結果であり、未服薬患者での検討および死後脳などを用いた直接的な検討が必要であるが、今回の結果は、血中GDNFおよびVEGFがうつ病の生物学的マーカーとなる可能性を示唆した。

D-8. 難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有効性の検討：血中HVA, BDNF動態からの検討

今回の結果より、難治性うつ病に対する抗うつ薬および気分安定薬への非定型抗精神病薬の追加投与の有効性が示唆された。非定型抗精神病薬の難治性うつ病に対する作用機序には非定型抗精神病薬ドパミン神経系への関与が考えられる。また、血中BDNF濃度は抑うつ症状の重症度と関連しており、抑うつ症状の改善と共に増加していることから抑うつ状態のstate markerである可能性が示唆される。

E. 結論

E-1. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する心理・社会的研究

うつ病治療の初期段階で、抗うつ薬に対する治療反応性を予測し難治化を予防するスクリーニング法を開発する目的で、幼少期の不遇な養育環境、対人関係様式、病前性格がどのようにうつ病治療反応性に影響するかを検討するための、外来初診時に評価可能なテスト・バッテリーの作成を行った。幼少期の不遇な養育環境はETI-SFを、対人関係様式はTATの簡略式を、病前性格はNEO-FFIを、それぞれ用いることによって評価が可能であることがわかった。

E-2. 難治性うつ病の治療反応性予測と客観的診断法に関する生物学的研究

本年度の予備的実験の結果から、ヒト末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現をreal-time PCR法を用いることで、世界で初めて計測した。PCR amplification curveからみて、BDNF, GDNF mRNA発現量の変動は十分に解析可能であることもわかった。BDNF,

GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化を解析する目的で、Methylamp coupled DNA isolation and modification kit (Epigentek 社) を用いて血清サンプルから DNA の bisulfite 反応を行い、GDNF 遺伝子の第 1 エクソン内のシトシンのメチル化を検出することが出来た。

E-3. 難治性うつ病の治療反応性予測と fMRI による客観的診断法の確立に関する研究

抗うつ薬抵抗性うつ病の要因として気分障害の遺伝負因や、抗うつ薬に抵抗する度合いが高いほど CBT に対しても抵抗する可能性が示唆された。また、脳機能画像研究からは今回作成した課題は、海馬機能の測定に用いることができると考えられた。

E-4. 潜在性脳梗塞がうつ病の難治化に及ぼす影響

本研究は VD の長期的予後の低さや認知症の発症率の高さを実証的に明らかとした初めての研究である。本研究の結果は今後の VD の治療手法開発のための研究の基礎となる重要な成果である。

E-5. 難治性うつ病の長期転帰調査：bipolarity の関与

本研究によって難治性うつ病の長期経過がはじめて明らかになった。大部分の症例 (69%) は寛解にいたるが、その後再発する症例も多く、長期の維持療法の必要性が示唆される。また、経過観察中に双極性障害に診断が変更となる症例も多く、難治性うつ病の一因として bipolarity の関与があげられる。

E-6. MRI による海馬容積の測定と評価

1.5T MRI による高解像度 3D-SPGR シークエンスを用いて撮像した脳画像を元にした、海馬・扁桃体容積測定は十分な信頼性が確認された。今後、うつ病と海馬・扁桃体容積の関連についての因果関係推測のための縦断研究、診断補助としての性能、治療反応性の予測のための研究等へとつながる結果が得られた。

E-7. 難治性うつ病の診断・治療の生物学的

マーカー開発に関する研究

うつ病の生物学的血液マーカーとして GDNF および VEGF が有用である可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

G-1. 論文発表

- 1) Erabi,K , Morinobu,S., Kawano,K., Tsuji, S., Yamawaki,S. : Neonatal isolation changes the expression of IGF-IR and IGFBP-2 in the hippocampus in response to adulthood restraint stress. The International Journal of Neuropsychopharmacology 19:1-13, 2006.
- 2) Toki,S., Morinobu,S., Imanaka,A., Yamamoto,S., Yamawaki,S., Honma,K. : Importance of early lighting conditions in maternal care by dams well as anxiety and memory later in life of offspring. European Journal of Neuroscience 25: 815-829, 2007.
- 3) Takami,H., Okamoto,Y., Yamashita,H., Okada,G., Yamawaki,S. : Attenuated Anterior Cingulate Activation During a Verbal Fluency Task in Elderly Patients With a History of Multiple-Episode Depression. The American Journal Geriatric Psychiatry (in press).
- 4) Hama,S., Yamashita,H., Shigenobu,M., Watanabe,A., Kurisu,K., Yamawaki,S., Kitaoka,T. : Post-stroke affective or apathetic depression and lesion location: left frontal lobe and bilateral basal ganglia. European Archives Psychiatry and Clinical Neuroscience (in press).
- 5) Inoue,T., Nakagawa,S., Kitaichi,Y., Izumi, T., Tanaka,T., Masui,T., Kusumi,I., Denda, K., Koyama,T. : Long-term outcome of antidepressant-refractory depression: The relevance of unrecognized bipolarity. Journal of Affective Disorders 95: 61-67, 2006.

- 6) Yoshikawa,E., Matsuoka,Y., Yamasue,H., Inagaki,M., Nakano,T., Akechi,T., Kobayakawa,M., Fujimori,M., Nakaya,N., Akizuki N., Imoto S., Murakami,K., Kasai, K., Uchitomi,Y. : Prefrontal Cortex and Amygdala Volume in First Minor or Major Depressive Episode After Cancer Diagnosis. *Biological Psychiatry* 59: 707-712, 2006.
- 7) Takebayashi,M., Hisaoka,K., Nishida,A., Tsuchioka,M., Miyoshi,I., Kozuru,T., Hikasa,S., Okamoto,Y., Shinno,H., Morinobu,S., Yamawaki,S. : Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 9: 607-612, 2006.
- 8) Hisaoka,K., Takebayashi,M., Tsuchioka,M., Maeda,N., Nakata,Y., Yamawaki,S. : Antidepressants increase glial cell line-derived neurotrophic factor production through monoamine independent activation of protein tyrosine kinase and extracellular signal-regulated kinase in glial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 321: 148-157, 2007.
- 9) Goto,M., Yoshimura,R., Kakihara, S. Shinkai, K., Yamada, Y., Kaji, K., Ueda, N., Nakamura, J. : Risperidone in the treatment of psychotic depression. *Progress-Neuropsychopharmacology & Biological psychiatry* 30: 701-707, 2006.
- 10) Yukimasa,T., Nakamura,Y., Hori, H., Ikenouchi,A., Ueda,N., Nakamura,J. : High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves refractory depression by influencing catecholamine and brain-derived neurotrophic factors. *Pharmacopsychiatry* 39: 52-59, 2006.
- 11) Yoshimura,R., Ueda,N., Shinkai,K., Nakamura,J. : Two cases of bipolar disorder successfully stabilized for five years with a low dose of risperidone and lithium. *Pharmacopsychiatry* 39 : 223-224, 2006.
- 12) Ikenouchi,A, Yoshimura,R, Ikemura,N, Utsunomiya,K, Mitoma,M, Nakamura,J. : Plasma levels of brain-derived neurotrophic factor and catecholamine metabolites are increased during active phase of psychotic symptoms in CNS lupus. *Progress in NeuroPsychopharmacol and Biological Psychiatry* 30: 1359-1368, 2006.
- 13) 森信 繁 : うつ病の薬物療法の限界- そのときどうするか-, *臨床精神薬理*. 9:1671-1766, 2006.
- 14) 森信 繁 : うつ病発症脆弱性と養育環境、基礎心理学研究(印刷中).
- 15) 森信 繁 : ストレス脆弱性形成と養育環境、児童青年精神医学とその近接領域(印刷中).
- 16) 土岐 茂、岡本泰昌 : うつ病の病態はどこまで明らかになっているのか?、*医薬ジャーナル* 42: 1209-1213, 2006.
- 17) 吉野敦雄、岡田 剛、岡本泰昌 : 治療抵抗性うつ病の脳画像研究、脳と精神の医学(印刷中).
- 18) 岡田 剛、岡本泰昌、山脇成人 : Functional MRI; うつ病の補助診断法としての可能性、*精神医学*(印刷中).
- 19) 山下英尚、山脇成人 : 精神神経系の加齢変化、*老年医学*(印刷中).
- 20) 土岡麻美、竹林 実 : 脳におけるトランスアクチベーション機構について- モノアミンと神経栄養因子とのクロストークの可能性- *精神科* 9: 344-350, 2006.
- 21) 岡本龍也、吉村玲児、中村 純 : 修正型 ETC が著効した精神病性うつ病の 1 例 : brain-derived neurotrophic factor (BDNF) とカテコールアミン代謝産物の血中動態からの検討. *臨床精神医学* 25: 1189-1193, 2006.
- 22) 西原浩司、小澤寛樹 : 神経栄養因子関連のトピック- 精神神経分野との関連性を中心に - *Medico* 37: 135-138, 2006.

G-2. 学会発表

- 23) Imanaka,A., Morinobu,S., Toki,S,

Yamawaki,S. : Importance of early environment in the development of PTSD-like behavior. 25th Collegium Internationale

Neuro-psychopharmacologium. 2006.7. (Chicago)

- 24) 森信 繁 : ストレス脆弱性形成と養育環境 第 47 回日本児童精神医学会総会, 2006 年 10 月 (幕張)
- 25) 森信 繁 : うつ病発症脆弱性と養育環境 第 25 回日本基礎心理学会, 2006 年 6 月 (広島)
- 26) 森信 繁 : 社会ストレスと内分泌変化 第 1 回行動内分泌研究会, 2006 年 10 月 (横浜)
- 27) 岡村寿代、森信 繁、岩本泰行、小鶴俊郎、山脇成人、田中康雄 : 3 歳児健療制度を用いた母親の養育ストレス度調査 第 47 回日本児童精神医学会総会, 2006 年 10 月 (幕張)
- 28) 吉野敦雄、森信 繁、小野 泉、林 敬子 : Clomipramine が著効した小児うつ病に伴うひきこもりの一例. 第 47 回日本児童精神医学会総会, 2006 年 10 月 (幕張)
- 29) 山下英尚、山脇成人 : ABC 研究会, 2006 年 12 月 (東京)
- 30) 井上 猛、久住一郎、他 : 難治性うつ病の長期転帰. 第 25 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会, 2006 年 6 月 (佐世保)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告