

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19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山 脇 成 人

平成20年(2008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. うつ病難治化の心理社会的要因の解析研究……	24
山脇 成人	
2. うつ病難治化の生物学的要因に関する研究……	29
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……	33
岡本 泰昌	
4. MRI による海馬容積の測定と評価……	36
稲垣 正俊	
5. 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……	44
竹林 実	
6. 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 BDNF, cytokines 動態からの検討……	48
中村 純	
7. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究……	51
小澤 寛樹	
8. 抗うつ薬の初期反応性と診断変更・副作用の関連ドパミン・アゴニストの 難治性うつ病に対する効果……	53
久住 一郎	
9. 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因と治療法に関する研究……	57
寺尾 岳	
10. 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研究……	61
三村 將	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表……	64
IV. 研究成果の刊行物・別刷……	68

I. 総括研究報告

総括研究報告書

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、海馬の構造・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、昨年度に引き続き平成19年度も未治療うつ病を対象とした多施設共同研究を推進した。同時にすでに難治化したうつ病を対象に、難治化した要因を抽出するための後方視的研究も昨年度に引き続き行った。

多施設共同前方視研究：

平成19年12月までに48例が登録されたものの脱落例も10例と多く、現在までの抗うつ薬による反応性が同定された25例を対象に、NEO-FFIによる性格傾向とETIによる幼少期トラウマ体験の解析を行った。その結果、1) 治療脱落群ではNEO-FFIによる神経症傾向の亢進・外向性の低下が特徴である。2) 非反応群での幼児期のトラウマ体験が、反応群・脱落群と比較して最も少ない、という事実が得られている。現在、各分担関連施設にも未服薬うつ病症例の登録を依頼し、平成20年度には統計解析に必要な目標症例を集積する。

後方視研究：

各分担関連施設にて、これまでに異なった種類の抗うつ薬2剤以上の治療にて反応の得られなかったうつ病症例を対象に、難治化の要因について解析した。その結果、1) 双極性障害への移行が、うつ病の難治化予測因子となりうる可能性が示唆された。2) 精神病像を伴う難治性うつ病に対して、非定型抗精神病薬追加により39%が治療反応を示した。3) 精神運動抑制を主とする難治性うつ病に対して、ドパミン作動薬追加により50%の治療反応を示し、大脳基底核機能障害との関連性が示唆された。4) 難治性を示す脳血管性うつ病のアパシーは、大脳基底核の脳血管病変と相関していた。5) うつ病のアパシーに報酬予測機能異常が想定され、脳内ドパミン・セロトニン機能の関与が示された、などの事実が得られている。

分担研究者

森信 繁	広島大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授
岡本泰昌	広島大学大学院医歯薬学総合研究科・講師
稲垣正俊	国立精神・神経センター精神保健研究所・室長
竹林 実	国立病院機構呉医療センター・精神科科长、臨床研究部室長
中村 純	産業医科大学医学部・教授
小澤寛樹	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授
久住一郎	北海道大学院医学研究科・講師
寺尾 岳	大分大学医学部・教授
三村 将	昭和大学医学部・准教授

A. 研究目的

A-1. うつ病難治化の心理社会的要因の解析研究

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、薬物療法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) やリチウム増強治療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、幼児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。

昨年度に引き続き、本年度も、難治性うつ病の心理社会的要因の予測に向けて予備的検討を行った。難治性うつ病の心理社会的要因の 1 つとして挙げられている不遇な養育環境、対人関係様式、病前性格について、うつ病の難治性との関連を検討することを目的とした。

A-2. うつ病難治化の生物学的要因に関する研究

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 年代には視床下部一下垂体一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。初年度に開発した、末梢血白血球由来の BDNF, GDNF mRNA 発現計測法に基づき、本年度は未治療うつ病患者での発現量や、少数例ではあるが治療前・後での発現量の比較を行った。また BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化解析につい

ては、本年度は各遺伝子 exon1 の上流の CpG アイランド内のシトシンのメチル化の検討を健康者を対象に行った。

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連合記憶課題を作成し、若年健常者を用いてその課題の妥当性を検証した。その結果、符号化及び想起プロセスの両方で海馬の頑健な賦活が確認され、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。さらに、海馬機能が難治性うつ病の予測因子として機能するか検討するため、この課題を遂行中のうつ病患者と健常対照者の脳活動のデータ収集を行っている。まず、うつ病患者と健常対照者における海馬機能の差異に関して検討した結果、うつ病患者では海馬傍回の活動が健常者よりも低下していることが明らかとなった。この知見は、うつ病における海馬は容積減少だけでなく、機能低下も起こしている可能性を示唆している。

A-4. 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

なる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。扁桃体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海馬に隣接し、情動調節に海馬とともに重要な機能を果たす扁桃体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、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、海馬および扁桃体容積測定の手技の確認および信頼性の検討を行った（1：マニュアルトレース法による海馬・扁桃体容積測定の信頼性の検討）。また、本研究班では、海馬容積がうつ病の治療反応性と関連するという仮説の基に、難治化と関連するか否かについて検討を行う計画である。本年度は、最終解析の実施可能性を検討する目的で、これまでに集積された症例を用いて、これまでのうつ病患者で海馬容積が小さいとする結果を再現するか否かを実際に採用予定の解析方法（上述のマニュアルトレース法および voxel-based morphometry 法：VBM 法）を用いて予備的に検討し、研究デザイン・解析方法が妥当であるか否かを検討することとした。（2：うつ病の治療抵抗性（難治化）と海馬容積の関連についての解析のための予備的検討）。

A-5. 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、アメリカ精神医学会の DSM 診断が用いられることが多いが、病態を十分に考慮したものではなく、診断および治療反応性に関して客観的な検査所見も含まれていない。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・グリア回路網の神経可塑的・器質的障害であると考えられている。病態として抗うつ薬の作用からモノアミン仮説が提唱されて久しいが、モノアミンのみですべて説明することは、困難であり、特に特に難治化の要因に関しては不可能である。現在までうつ病の脳可塑性障害に関与する分子は数多く提唱されてきているが、しかしながら、それらの病態に関与する分子メカニズムは未だ不明であり、従ってうつ病の生物学的マーカーは依然確立していない。

シグマ-1受容体は、1996年にクローニングされ、近年急速にその機能が解明され、従来の受容体と異なった神経分化・保護作用を有するシャペロン分子であることが判明し、なおかつ抗うつ薬・ステロイドホルモンへの親和性が高い、特異な受容体である。後者の特徴である抗うつ薬・ステロイドホルモンへの高い親和性に関して精神疾患への関与は推定されていたが、着目されていなかった。そこで本年度は、シグマ-1受容体に着目し、患者末梢血液を用いてうつ病の病態への関与の可能性を検討した。

A-6. 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 BDNF, cytokines 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ストラテジーとしては経頭蓋的磁気刺激療法や電気痙攣療法が用いられることが多い(Yukimasa et al, 2006; Okamoto et al, in press)。我々は、難治性うつ病に対する非定型抗精神病薬の有効性を明らかにし、その作用機序として非定型抗精神病薬によるドパミン神経系の抑制が関連していることを明らかにした(Goto et al, 2006)。今回の研究では、(1)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、更に多数例での検討、(2)非定型

抗精神病薬の血中BDNFへの作用の検討、(3)うつ病の難治化に関与するcytokineの同定が主な目的である。

A-7. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究

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。その背景として「加齢」と「身体疾患」に注目され、とくにうつ病を併発しやすい身体疾患は高齢者に多く(高血圧・脳血管性障害・慢性身体疾患)、今後の高齢化社会により老年期うつ病の増加が予想され、また高齢の「うつ病」を理由に過小評価されやすい。そこで高齢者の身体疾患として慢性閉塞性肺疾患(COPD)とうつ病の関連性を検討した。また生物学視点からうつ病慢性化の原因としてのリチウムの神経幹細胞の役割を検討した。

A-8. 抗うつ薬の初期反応性と診断変更・副作用の関連ドパミン・アゴニストの難治性うつ病に対する効果

A-8-1. 青年期うつ病における診断変更の予測因子：抗うつ薬の初期反応性と副作用の検討

新規抗うつ薬の登場に伴って、うつ病に対する薬物療法が手近なものとなり、抗うつ薬の使用機会が増えている。一方で、activation syndrome (AS)や躁転・急速交代化の問題など、抗うつ薬の弊害的側面にも注目が集まりつつある。とりわけ青年期では「うつ病」の診断が困難な場合があり、ASの危険性も高いことから、抗うつ薬の適正使用が求められる。今回、北海道大学病院精神科神経科(当科)において初診時「うつ病」と診断された青年期症例に対し、抗うつ薬の初期反応性および副作用を後方視的に調査し、最終診断との関連を検討した。

A-8-2. 難治性うつ病に対するドパミンアゴニストの効果と効果予測因子に関する研究

SSRI と SNRI が我が国臨床に導入されて以来、副作用の少なさからこれらの新規抗うつ薬はうつ病治療の第一選択薬となってきた。しかし、SSRI、SNRI、三環系抗うつ薬など数種類の作用機序の異なる抗うつ薬による十分な治療によって寛解にいたらない難治性うつ病の問題は依然解決されていない。ドパミン・アゴニストの抗うつ薬への併用が難治性うつ病に対して有効であることを、我々はこれまで論文で報告してきた (Inoue et al. 1996; Izumi et al. 2000; Inoue et al. 2006)。我々の研究も含めてドパミン・アゴニストの難治性うつ病の効果に関する論文は国内外を通じて 14 編しかなく、さらに厳密な定義に基づいて難治性単極性大うつ病へのドパミン・アゴニストの効果を前方視的に検討した研究はこれまで報告されていない (井上他 2007)。昨年度に引き続き、本年度もドパミン・アゴニストの作用機序を解明する目的で、ドパミン・アゴニスト (pramipexole, cabergoline) の治療前後に FDG-PET を測定し、脳糖代謝の異常・変化がおこる脳部位を特定する解析を行うための研究を行った。

A-9. 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因と治療法に関する研究

1) 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因

月経前不快気分症候群 (Premenstrual Dysphoric Disorder; 以下、PMDD と略す) は、従来、月経前緊張症 (Premenstrual Syndrome; 以下、PMS と略す) とされていたもののうち精神症状が顕著なものと位置づけられ、DSM-IV-TR にも診断基準の試案が公表されている。PMDD は、黄体後期に症状が最も重度になり、卵胞期の開始 (月経開始) 後、2,3 日で完全に回復することから、うつ病の再発・寛解を自律性に毎月繰り返しているモデルとみなすこともできる。再発から寛解に至る過程で変動する何らかの因子を捉えることが出来れば、難治性うつ病を寛解させる手がかりになるかもしれないと考え、その候補のひとつとして中枢セロトニン神経機能を検討する。また、難治性うつ病の患者の睡眠・覚醒リズムをアクチグラムにより評価することにより、その関与を解明する。難治性うつ病に対して、ECT を施行し、その前後で中枢セロトニン機能を

測定し、反応群と非反応群の比較を行う。さらに、症例検討であるが十分な抗うつ薬治療ができない要因のひとつとしてセロトニン症候群、抗うつ薬を十分投与しても寛解しない要因として dysthymia 親和型性格を取り上げる。

2) 難治性うつ病の治療法に関する検討

抗うつ薬抵抗性うつ病に関してリチウムを追加する増強療法の効果はメタ解析でも立証され、十分なエビデンスのある治療である。ところがリチウムはさまざまな副作用があるために、心疾患を有する高齢者には控える傾向にある。1986 年に Kushnir がこのような患者に対するリチウム増強療法の効果を報告して以来、ほとんど追試がなされていないために、私どもは患者の同意を得たうえで慎重にリチウム追加を行ったので症例検討として取り上げる。また、新規抗精神病薬を抗うつ薬に追加して増強効果を得る方法も普及してきており、アリピプラゾールを用いた増強療法も注目されている。私どもは少量のアリピプラゾールの併用による増強効果を検討したので、症例検討として取り上げる。

さらに、薬物抵抗性のうつ病に対し、rTMS がある。今回の研究では、難治性精神疾患に対する rTMS を行い、その効果を randomized, double-blind, placebo-controlled study で厳格に評価することを目的とする。

A-10. 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研究

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、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し、これらの結果をもとに、うつ病の難治化予測の科学的診断法を確立すること、また、難治性のうつ病に対する rTMS の有効性および rTMS への反応性に関連する因子を特定し、治療法の選択の判断根拠を確立することを目的とする。

B. 研究方法

B-1. うつ病難治化の心理社会的要因の解析研究

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、対人関係様式、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 (Murry) によって作成された投映法性格検査である。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。

DSM-IV の大うつ病の診断基準を満たし、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、脱落例を脱落群、それ以外の症例を反応群とした。これらの症例について、幼児期の養育環境、対人関係様式、性格特性について検討を行った。

(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-2. うつ病難治化の生物学的要因に関する研究

B-2-1. 未治療うつ病者の末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA 発現の検討

昨年度報告した方法を用いて、未治療うつ病患者 7 名と健康対照者 9 名を対象に、末梢血白血球由来の BDNF, GDNF mRNA 発現を解析した。またこの内 3 名のうつ病患者では、治療前・後での BDNF, GDNF mRNA 発現の変動の解析も行った。

方法について簡単に記載すると、以下のようになる。ヒト末梢血 6 ml 採血後、血球遠心分離剤 (Nyco Prep : AXIS-SHIELD 社) を用い白血球層 (WBC) を抽出し、RNA 抽出キット (Ribo-Pure Blood : Ambion 社) にて total RNA を抽出した。抽出した total RNA 2 ug を対象に、逆転写キット (Quantiscript Reverse Transcription : Quiagen 社) を用いて cDNA へ逆転写を行い、real-time PCR 装置 (DNA Sequence Detection System 7900-HT) にて発現量を計測した。なお各サンプルの BDNF, GDNF mRNA 発現量は、GAPDH mRNA 発現量で補正した値を用いている。

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

健康者 9 名を対象に、末梢血由来の BDNF, GDNF 遺伝子プロモーターのメチル化の解析を、methylation specific PCR (MSP) 法にて行った。

方法について簡単に記載すると、以下のようになる。Bisulfite 反応は、Methylamp coupled DNA isolation and modification kit (Epigentek 社) を用いて行った。具体的には、血液サンプルを DNA digestion powder and buffer に混和して DNA 消化を行った後に、カラム遠心操作にて DNA 抽出を行った。この 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。ヒト BDNF, GDNF 遺伝子の exon1 上流のコア領域に存在する CpG アイランドを対象に、メチル化・非メチ

ル化プライマーを作成した。設計したプライマーと bisulfite 反応を行った DNA サンプルを用いて PCR 法にて増幅後、アガロース・ゲル電気泳動にて、メチル化・非メチル化産物の検出を行った。

(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] 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 fMRI を用いて基礎検討を行った。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。

[検討-2] 検討-1 において作成した課題を一定の基準を満たす治療前のうつ病患者とその対照者に遂行してもらい、その際の脳活動を fMRI にて測定した。現在までにうつ病患者 9 名、対象健常者 7 名のデータが得られている。うつ病群と対照群で、年齢、性別比、IQ に差はなかった。

(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-4. MRI による海馬容積の測定と評価

1) マニュアルトレース法による海馬・扁桃容積測定の信頼性の検討

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 1.5 Tesla 核磁気共鳴画像 (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・扁桃体容積の測定は、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・扁桃体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・扁桃体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)。海馬頭部と扁桃体、海馬尾部と視床後部の区別、扁桃体前縁境界は、他の脳部位と区別が困難であるため、補助線や海馬・扁桃体以外の特徴的な脳内構造物を外的基準として使用し、ある脳部位については除外する方法を採用し、計測の信頼性を向上させることとした。

海馬境界のトレースは、海馬尾部から同定し、体部、頭部へと進めた。(松岡ら、脳神経, 55 巻 8 号 2003 年)。尾部最後部は、灰白質が側脳室三角に接して内側下部に出現するスライスと定義した。Andreas-Retzius gyrus と小帯回、脳弓脚は尾部から除外した。尾部内側の境界は白質により容易に判別できた。前方に進むと、小帯回と Andreas-Retzius gyrus から海馬尾部を区別する際に注意を要した。尾部と Andreas-Retzius gyrus の間に任意の境界線を設ける必要があり、側脳室三角の内側端から海馬傍回に至る垂直線を引いた。海馬尾部から上方境界を定めるための境界線も使用した。脳脚から区別が難しく、側脳室三角に接するような灰白質として出現する。そこで、水平線を脳槽上方と脳梁の境界から側脳室三角まで引いた。尾部下端は灰白質から白質への移行により同定した。

前方に進むと、視床枕が描出され、尾部は内側が押しつぶされるような形態をとる。脳弓脚を外側境界とする。海馬支脚を下方境界とした。

体部の上方と下方境界は矢状断で同定可能であった。冠状断像で体部と内側嗅領は S 状の構造物の上を囲んでいるいくつかの

部位から構成され、上半分は灰白質の海馬支脚、アンモン角、歯状回と海馬采を含み、下部は海馬傍回がある。海馬采は体部の上内側に存在し、画面上では白質として定義され海馬に含め、これと海馬白板を上端とした。矢状断像は上端の視覚化に適しており参照しながら境界を決定した。内嗅皮質から海馬傍回を区別するのは非常に困難であるが、海馬支脚の下端に沿って脳槽に真っ直ぐ抜けた。

上内側は、鈎状尖と海馬支脚の位置関係に注意して処理し、外側境界は、側脳室下角で決定した。

頭部上方は灰白質が扁桃体、海馬、基底核と混在し、境界の同定が困難であるが、海馬の外側、前方、上方の境界を確認する構造物として側脳室下角、鈎状窩を使用した。海馬白板も上前方の境界を確認する構造物である。矢状断像も使用し、前方境界を決定した。また、水平断像も前方内側境界の確認に使用した。内側と下方の境界は、体部の境界と同様であった。

扁桃体のトレースは、まず、冠状断像で、扁桃体と側頭葉頸部が灰白質と同等の大きさに見える最前方スライスを決定し、このスライスを扁桃体前方境界とした。扁桃体は、嗅内溝からトレースを開始し、半月回から脳槽に抜けるように描いた。詳細は松岡らの報告に記述されている(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・扁桃体容積測定に際し、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 以下の場合には 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。

今回は 1-330 画像までの結果を示す。

2) うつ病の治療抵抗性(難治化)と海馬容積の関連についての解析のための予備的検討

精神疾患簡易構造化面接法：The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.) を用いてアメリカ精神医学会精神疾患の分類と診断の手引き第 IV-TR 版：DSM-IV-TR に準拠したうつ病性障害の内、大うつ病性障害単一エピソードまたは大うつ病性障害反復性の診断を満たし、下記の基準を満たす者を対象者とした：1) 未治療もしくは不十分な量と期間の一種類の抗うつ薬による治療中、抗不安薬・睡眠薬による治療中、2) 今回のエピソード発症から 3 ヶ月以内、3) 前回のエピソード寛解から 6 ヶ月以上の寛解を維持(回復)している患者、4) 登録時評価の The Hamilton Rating Scale for Depression 17 項目版 (HAM-D17) 得点が 18 点以上、5) 登録時評価の HAM-D「抑うつ気分」の得点が 2 点以上、6) 20 歳以上 65 歳未満、8) 本人から文章による同意が得られた者。ただし、以下の患者は除外した：1) 今回のエピソードにおいて既に十分な量、十分な期間の 1 種類の抗うつ薬の治療が行われている患者、2) 気分安定薬、興奮剤を含む向精神薬または中枢神経系作動薬を試験開始時に使用している患者、3) DSM-IV の双極性障害・統合失調症(生涯)、物質乱用(観察開始前 6 ヶ月以内)と診断された患者。不安障害のため観察開始前 6 ヶ月以内に治療をした患者。もしくは、パーソナリティ障害 (DSM-IV-TR) を並存する患者、4) 試験開始前 3 ヶ月以内に電気けいれん療法を受けた患者、5) 標準的な通院精神療法の併用は可能とするが、定型化された精神療法(認知行動療法、対人関係療法など)を受けている患者、6) 重要な臨床検査異常(血液学的検査、生化学的検査)、7) 妊婦、授乳期間中の患者、8) 重度な心臓、肝臓、腎臓、呼吸器、内分泌系、神経系または血液系の疾患を有しており、症状が安定していないか、もしくは、観察開始後 3 ヶ月以

内に治療のため入院する予定のある患者、9) てんかんを含むけいれん性疾患を有する患者。またはその既往のある患者で、観察開始前 6 ヶ月以内にけいれん発作のあった患者、1.0) 脳に器質的な疾患を有する患者、1.1) 自殺傾向が著しい (HAM-D「自殺」の得点が 4 点以上) の患者、1.2) 重度なアレルギー、複数の薬剤による副作用、または薬物アレルギーのある患者、1.3) その他、試験担当医師が本試験の参加に不適切と判断した患者。対象患者のリクルートは広島大学医学部附属病院精神神経科の外来・入院患者で行った。各対象者と年齢、性別、利き手をマッチさせた健常対照者を募集し、同様な調査を行った。

構造 MRI の撮像は GE 製 1.5 テスラの MRI を用いて、MPRAGE シークエンスにより撮像を行った(192 スライス、thickness=1.0mm、TR=2160ms、TE=3.93、flip angle=15 度、FOV=256mm)。得られた脳画像は DICOM 形式から Analyze 形式に変換し、以下のマニュアルトレース法による測定及び Statistical Parametric Mapping 5 ソフトウェアを用いた Voxel-Based Morphometry 法による解析を行った。

マニュアルトレース法による解析では、前述の方法に従い海馬及び扁桃体容積を測定した。測定順はランダム化し、測定者は対象者の背景情報等について盲件化された状態で測定を行った。全灰白質、白質、脳脊髄液腔容積は Linux fedora7 OS 上で MatlabR2007a ソフトウェア及び Statistical Parametric Mapping ソフトウェアを使用し、Christian Gaser による VBM5.1 tool box モジュールを使用して計測した。解析は、左及び右海馬の頭蓋内容積比を t-test を用いて比較した。本年度の解析は予備的検討のため、有意な差が有るかどうかについての p 値等の統計値による判断を用いず、統計値を記述するにとどめた。VBM による解析では、上述のソフトウェアを使用し、Full Factorial Design から、2 群比較デザインとし、灰白質の部分脳形態の差の検出を行った。特に海馬領域を関心領域とした。予備的検討であるため、多重検定補正を行わず、Extent threshold=1000 voxel の条件で $p < 0.001$ の領域の有無を判断した。

なお、本研究班での最終解析である、難治性うつ病群と非難治性うつ病群とでの海馬容積の比較は多重検定の問題を避けるため、中間解析を行わないこととし、研究と中である本年度は解析を行わず結果を得ないこととした。

B-5. 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) 対象

呉医療センター倫理委員会での承認を受け、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 名を対象とした。

(2) 患者背景

患者および健常者の男女比は同じであり 17:39 であった。平均年齢は患者群 59.0 才であり健常者群 47.5 才と比較して有意に高かった。発病年齢は 51.9 才であり、うつ病と躁うつ病群では発病年齢には有意な差は無かった。病相エピソードは平均 3.01 回であり、抗うつ薬内用量はイミプラミン換算で 117.7mg であった。

(3) 方法

血中のシグマ-1 受容体蛋白の同定についてはウエスタン法にて行った。具体的には全血を PBS で希釈して非還元状態で SDS-PAGE を行い、抗シグマ-1 受容体抗体 [rabbit polyclonal serum against guinea pig sigma-1 receptor (144-165) 抗体: NIH, Su 博士から供与] および 2 次抗体 (抗 rabbit HRP conjugated IgG 抗体: バイオラド社) を用いて測定した。得られたバンドをスキナーで取り込み数値化した。メンブレンごとに対照サンプルをいれて、メンブレン間のばらつきがないように補正した。今までシグマ-1 受容体の発現低下に関与することが知られているシグマ-1 受容体遺伝子プロモーター領域の 2 種類の遺伝子多型 (GC-241-240TT, T-485A) についての検討は DNA を抽出して PCR-RFLP 法で宮武らの方法 (Miyatake et al., 2004) を改変して行った。

B-6. 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 BDNF, cytokines 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来および入院患者 38 例である (性別 M/F: 12/26, 年齢 54 ± 16 yr)。28 例が DSM-IV の大うつ病性障害、10 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、26 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) を用いて行い、Ham-D 得点が 50% 以上改善した群を反応群、50% 未満を非反応群と定義した。錐体外路症状の評価は Simpson and Angus Scale (SAS) を用いて行なった。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 BDNF, IL-6, TNF α 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同意を得た。加えて、性別年齢を一致させた健常者群 106 例と SSRI/SNRI 反応群 (fluvoxamine, paroxetine, sertraline, milnacipran 投与 8 週間後の Ham-D が 50% 以上改善した症例) 44 例も設定した。

B-7. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究

①慢性閉塞性肺疾患疫学研究

長崎県松浦市・平戸市における COPD 患者 34 名 (60 歳以上の高齢者) を対象に CES-D と GHQ28 を実施した。

②リチウムの神経幹細胞分化能に関する影響

長崎大学動物実験指針に従い、胎齡 15.5 日マウス胎仔脳から線条体原基を分離・分散後、成長因子 [EGF (20ng/ml)] を加えた MHM (Media Hormone Mix) 培養液中に 20×10^4 cells/ml となるように懸濁し、37°C・5%CO $_2$ にて neurosphere 法によって T75 フラスコを使い培養を行った。培養 6 日後に培養液を 50ml tube に回収して、1200rpm・5 分・RT で遠心分離後、上清をアスピレーションして、上記 MHM 培養液を 2ml 加え、ピペティングによって機械的に neurosphere を解離した。その溶液を 40 μ m セルストレーナーに通した後、溶液をセルストレーナーに通した後、Lab-tek chamber slide に細胞を播種しました。ポリエルリジンとラミニンでコートした Lab-tek chamber slide に細胞濃度 22.8×10^4 cells で播種

しました。それぞれのチャンバーに 1%FBS および炭酸リチウム (0 μ M/100 μ M/ 500 μ M/ 1000 μ M) を添加し、4 日間培養しました (EGF や bFGF は除去)。培養 4 日目に 4%PFA を添加し、反応をストップさせ、比較的未分化なニューロンマーカーである Tuj1 およびアストロサイトのマーカーである GFAP にて 2 重染色を行った。染色 2 日目に GFAP に対して Alexa 568 を、Tuj1 に対して Alexa 488 を用いて染色を行いました。なお、核染色には hoechst 33258 を用いた。

B-8. 抗うつ薬の初期反応性と診断変更・副作用の関連ドパミン・アゴニストの難治性うつ病に対する効果

B-8-1. 青年期うつ病における診断変更の予測因子：抗うつ薬の初期反応性と副作用の検討

1997 年 4 月～2001 年 12 月の当科初診患者のうち、13 歳以上 25 歳未満で、初診時に大うつ病と診断された 211 名を抽出した。そのうち、過去に抗うつ薬の使用経験がなく、当科にて 8 週間以上治療が継続され、その間に診断変更されなかった 51 名を調査対象とした。性別、家族歴、初診時年齢、初診時診断、最終診断、診断変更日に加えて、抗うつ薬治療開始 8 週後の治療反応性および 8 週以内の副作用を診療録から調査した。症状の評価には Clinical Global Impressions (CGI) を用い、抗うつ薬開始時と開始 8 週後の評点の差が 2 点以上あるものを「反応者」と定義した。2 群間の比較には t 検定・Fisher の直接法を用い、診断変更の割合は Kaplan-Meier 法と Log Rank 検定量を用いて比較した。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-8-2. 難治性うつ病に対するドパミンアゴニストの効果と効果予測因子に関する研究

北海道大学病院精神科神経科 (以下当科) に現在通院中あるいは入院中の難治性単極性うつ病患者 (DSM-IV-TR) を対象とした。少なくとも 2 種類の作用機序の異なる抗うつ薬を最大用量まで服用し、4-6 週間治療を継続した患者のうち、ハミルトンうつ病評価尺度 (HAM-D) 17 項目が 15 点以上、あるい

は中等症以上 (DSM-IV-TR) の症状を有する患者を研究に組み入れた (抗うつ薬への治療反応性に基づいた Stage 分類で Stage 2 以上: Thase & Rush 1995)。重篤な内科的疾患あるいは脳器質疾患を有する患者は除外した。ドパミン・アゴニストの予想される副作用と期待される効果を十分に説明し、適応外処方であることを伝えた上で、文書による同意を得た患者を研究に組み入れた。十分量の抗うつ薬に併用する方法でドパミン・アゴニスト (pramipexole を第 1 選択として、副作用等の問題があるときは cabergoline を第 2 選択とした。ただし 2007 年 4 月以降は pramipexole のみを選択した) を低用量から漸増し、8 週間治療した。8 週間の治療期間の間、2 週ごとに HAM-D17 項目と Montgomery-Asberg うつ病評価尺度 (MADRS) を評価した。8 週間の治療前後に FDG-PET を検査し、SPM 解析を行うこととした。8 週間の治療前後で血漿 HVA 濃度と機能の全体的評定 (GAF) 尺度を測定、評価した。8 週間の前に中止となった症例は解析の際に Last observation carried forward (LOCF) 法によって取り扱った。

本研究は北海道大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。

B-9. 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因と治療法に関する研究

1) 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因
a) PMDD の中枢セロトニン機能

私どもが確立したパロキセチンを負荷薬とする神経内分泌的負荷試験 (Kojima et al, 2003) を卵胞期、黄体前期、黄体後期の 3 回同一被験者に行った。被験者は PMDD 群 7 名、PMDD を伴わない PMS 群 8 名、正常対照群 9 名の 3 群から構成された。負荷試験の結果をこの 3 群間、3 時期間で比較検討した。なお、この研究は産業医科大学との共同研究として行ったものである。

b) 睡眠・覚醒リズム

うつ病患者の治療早期及び改善後に睡眠障害の評価を行い、治療早期の睡眠変数がうつ病の治療反応性の指標となりうるかを検討する。

睡眠の評価としてはアクチグラムによる検査を行う。従来、睡眠の評価には検査室にて夜間のポリソムノグラム検査が行なわれ

てきたが、被験者の負担が大きく、更に被験者本来の睡眠を捉えることが困難という欠点を有していた。アクチグラムは腕時計に類似したごく軽量の装置で、連続的に約1~2週間手首に装着し、夜間の睡眠状態や日中の活動性を測定するものである。アクチグラムは装着したまま殆ど通常通りの日常生活が可能のため、使用者本来の睡眠状態を妨げることなく、睡眠の評価が可能である。

c) ECT 前後における中枢セロトニン機能の測定

難治性うつ病患者に ECT を行い、その治療前後でパロキセチンを負荷薬とする神経内分泌的負荷試験によりセロトニン機能を測定し、治療反応性とセロトニン機能との関連性を検討する。

d) セロトニン症候群

症例検討

e) dysthymia 親和型

症例検討

2) 難治性うつ病の治療法に関する検討

f) 心疾患を有する高齢者における慎重なりチウム増強療法

症例検討

g) 少量のアリピプラゾールによる増強療法 症例検討

h) rTMS

従来行われていた rTMS はあまり効果が期待できなかったが、最近の研究により、うつ病に対しては右の背外側前頭前野への低頻度刺激に続いて左の背外側前頭前野を高頻度で刺激すると、非常に有効であることが報告された。これを正確に行うために、あらかじめ頭部 MRI を撮像し、当該患者の brain map を作成することにより、左右の背外側前頭前野の部位へ正確に磁気刺激を入れていく navigation system (ナビシステム)を開発された。この装置を用いて効率的な rTMS を行う。

刺激計画としては、エントリーした難治性うつ病患者を無作為に sham stimulation 群と active stimulation 群の 2 群に割り付ける。sham stimulation 群は 2 週間の sham stimulation の後に active stimulation へ切り替える。したがって、sham stimulation と active stimulation の比較は刺激開始 2 週間の期間で行う。なお、1 週間あたり何日

の刺激を行うかはあらかじめ医師・患者間で話し合っておき、最初の 2 週間は患者と評価者は刺激が active か sham かを知らないという double-blind study の設定とする。2 週間後はいずれも active stimulation となるために、open study とし以後 2 週間毎に効果・副作用の評価を行い、継続の必要性を医師・患者間で話し合っておく。いったん中止した後の再開も話し合いで決める。原則として、投与中の向精神薬の種類と量は研究開始前少なくとも 2 週間は固定し、研究終了後まで変化させないこととする。

rTMS の施行前から継続的に精神症状や副作用の評価を行い、コルチゾールやプロラクチンなどのホルモンや Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) などの神経栄養因子などを採血により測定する。また、心理テストや脳の機能画像を SPECT や fMRI により撮像する。

(倫理面への配慮)

PMDD、睡眠・覚醒リズム、ECT、rTMS に関する研究は、あらかじめ倫理委員会の承認を得た上で、患者本人から書面による同意を得て行ったものである。症例検討に関しては、患者本人への説明を行った上で同意された治療に関して、後方視的に検討し匿名性を保ちながら報告したものである。

B-10. 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研究

昭和大学病院精神科に入院または通院中であり、年齢が 18 歳以上で、簡易構造化面接法により大うつ病と診断され、直前に最低 2 週間以上、抗うつ薬の服用歴がない患者のうち文書による同意を得た者 20 名を対象とする。研究の趣旨を理解することが困難な精神状態にあるもの、身体疾患が重篤で、調査に耐えられないものは除く。患者は昭和大学病院精神科病棟および外来にて、採血、心理検査、脳画像解析検査、rTMS を行う。

対象に登録された大うつ病患者に対して以下の前方視的研究を行う。

(1) 治療前評価：治療開始前に以下の心理社会的要因の評価、血清中の生物学的マーカー、脳画像解析検査を実施する。

(2) 標準的薬物療法：精神科薬物療法

研究会作成のうつ病治療アルゴリズムによる標準的薬物療法を8週間実施する。

(3)治療の評価：抑うつ症状をハミルトンうつ病評価尺度(HRS-D)、全体的な機能を全般性機能評価(GAF)を用いて2週間に一度評価する。

(4)治療反応性の評価：HRS-DおよびGAFの治療前後の変化により治療反応性を評価し、治療反応群と抵抗群に分類する。

(5)難治例へのrTMSによる治療：治療開始より8週間後の治療反応性の評価において、抵抗群と分類された患者のみに対し、薬物療法と並行し、左背外側前頭前野(DLPFC)への高頻度高強度のrTMSと右側DLPFCへの低頻度rTMSとを組み合わせた両側rTMSを計10日間行う。

(6)治療の評価：rTMSが終了した時点で再度、抑うつ症状をHRSD、全体的な機能をGAFを用いて評価する。

(7)解析：治療前評価で実施した心理的要因と生物学的要因と治療反応性との相関について統計解析を行い、治療反応性や難治化予測に関連する因子を特定する。

(8)対照群の設定：患者群と年齢・性別を合わせた対照群を設定し、治療前評価で行った同様の調査を行い、患者群との比較検討を行う。

[心理社会的要因の評価]

うつ病重症度をHRSDで、心理社会的機能をGAFで評価するのに加えて、幼少時期のトラウマ体験の有無をEarly Trauma Inventory(ETI)で、社会認知機能をThe matic Apperception Test(TAT)で、性格特性をNEO Five Factors Inventory(NEO-FFI)を用いて多面的に評価する。

[抹梢血の生物学的マーカー測定]

難治性うつ病では一致した結果が報告されている、血清コルチゾール濃度をRIA法により測定する。また、血清中の脳由来神経栄養因子(BDNF)、グリア由来神経栄養因子(GDNF)濃度をELISA法により測定する。

[脳画像解析検査]

1.5T MRI装置を用いて全脳MRI画像を撮像し、潜在性脳梗塞の有無の評価を行う。また、光トポグラフィ装置Hitach ETG4000を用いて、前頭前野酸化Hb変化に脳血液量の評価を行う。

(倫理面への配慮)

インフォームド・コンセントのための手続きと方法。

研究参加条件の適格者に対して、研究の目的や方法、研究参加に伴う利益・不利益について、参加は患者の自由意志によるものであること、患者は研究をいつでも拒否できること、またそのことにより治療上不利益をうけないこと、プライバシーの保護等について、説明書の内容に従って説明する。本人の自由意志に基づいて研究への参加に同意の署名を得る。

匿名化の方法。

匿名化については個人情報管理責任者が、血液検査結果、心理検査、画像検査から個人を識別できる情報(氏名、住所、生年月日、電話番号など)を削除し、独自の符号を付す作業を行う。連結可能匿名化では個人と符号の対応表を個人情報管理責任者が保管する。

試料と臨床情報、解析結果の保存、管理法。

研究によって得られた情報は精神神経科の外部から切り離されたコンピューターのハードディスク内に保存される。

研究終了時には、原則として全ての試料と情報は速やかに破棄されることと、その廃棄法。

採血の結果や患者から得た情報は、一時的に記録用紙に記載されるが、データを暗号化して保存した後、速やかに用紙を破棄される。

C. 研究成果

C-1. うつ病難治化の心理社会的要因の解析研究

25例の対象の内、非反応群は6例、脱落群は8例、反応群は11例であった。幼少期のトラウマ体験については、非反応群は、脱落群、反応群よりも低い得点を示していた(非反応群:1.25、脱落群:4.78、反応群:3.09)。本結果より、幼少期のトラウマ体験に関しては、脱落群の体験数が多いことが示された。

性格特性については、各群に特徴的なプロフィールが認められた(図1)。非反応群では、5次元で平均範囲に入るのは調和性(A)のみであり、神経症傾向(N)が高く、外向性(E)、開放性(O)、誠実性(C)が低く、

人格的な偏りが目立っていた。Nの高さとCの低さは、治療予後の悪さを示す特徴であった。脱落群は、神経症傾向(N)が高く、外向性(E)がかなり低く、残る3次元は平均範囲というプロフィールを示した。これは、適応が悪く、活動水準が低いことを示すものであった。反応群は、5次元すべてにおいて平均範囲に入っており、性格特性の偏りは認められなかった。なお、対人関係様式に関しては現在解析中である。

C-2. うつ病難治化の生物学的要因に関する研究

C-2-1. 未治療うつ病者の末梢血白血球由来のBDNF, GDNF mRNA発現の検討

BDNF発現量は、健康対照者群と比較して、有意に未治療うつ病患者群で減少していた。GDNF発現量は、健康対照者と未治療うつ病患者間で、有意な差はなかった。

治療前・後での発現量の比較を行った3症例は、いずれもHamiltonうつ病評価尺度で50%以上の改善率が、第一選択抗うつ薬で得られた治療反応群であった。治療前のBDNF発現量と比較すると、治療後のBDNF発現量は亢進していた。治療前のGDNF発現量と治療後のGDNF発現量の間には、顕著な変化はみられなかった。

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

ヒト血液1ml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、BDNF, 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。今回は健康者を対象とした解析であったため、メチル化を対象としたプライマーによるPCR産物はほとんど検出されなかった。ネガティブ・コントロールとしてSssI処理を行った全メチル化DNAを対象に同様の解析を行ったところ、逆に非メチル化を対象としたプライマーによるPCR産物は解析されなかった。

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] 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(図1)。さらに符号化フェーズにおける脅威語条件では、中性語条件と比較して左中側頭回と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。また、海馬の活動と正答率の関連を検討したところ、想起フェーズにおいて有意な正の相関($p<0.001$)が認められた(図2)。さらにPsychoPhysiological Interaction解析を用いて、海馬と皮質の結合性を評価した。その結果、脅威語条件では中性条件と比較して海馬と左下前頭回の結合が低下していた(図3)。

[検討-2] 単語を用いた連合記憶課題において、うつ病患者群は対照群と比較して、正答率に差は認められなかったが、海馬傍回の活動が低下していた(図4)。

C-4. MRIによる海馬容積の測定と評価

1) マニュアルトレース法による海馬・扁桃体容積測定の信頼性の検討

昨年の報告で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 であることを報告した。本年度はその後の221-330画像中の ICC を計測・計算した。結果、海馬容積測定では $ICC=0.99$ 、扁桃体容積測定では $ICC=0.82$ であった。1-330画像中の全30画像を用いた計算では海馬、扁桃体容積測定それぞれで 0.98 、 0.91 であった(図3および図4)。各100画像中に挿入された2度測定用10画像とは別に、1-660画像中にランダム順で挿入された2度測定用画像を用いた ICC の計算結果は、1-382画像中に10画像ペアが埋め込まれており、その測定力算出した評価者内信頼性を示す ICC 値は海馬、扁桃体容積測定それぞれで 0.95 、 0.72 であった。

また、測定順による時間的な偏りを検討するため、測定順による海馬容積、扁桃体容積値をプロットした図5を以下に示す。測定順による偏りは下記散布図からは認められなかった。

2) うつ病の治療抵抗性(難治化)と海馬容積の関連についての解析のための予備的検討

これまでにうつ病患者 7 名と、年齢・性別・利き手をマッチさせた健常対照者 7 名の脳画像が得られた。うつ病群と健常者群の平均(標準偏差)年齢はそれぞれ 38.4 (11.7) 歳、38.6 (12.2) 歳で、群間に有意な差は認められなかった ($t=0.02$, $p=0.98$)。それぞれの群で女性が各 2 名(29%)、両群とも全員右利きだった。うつ病群 7 名では、うつ病が初発した年齢の平均(標準偏差)は 31.3 (3.5) 歳、発症後の経過年数は 7.1 (9.7) 年、エピソードの回数は 2.1 (1.3) 回であり、4 名に 2 回以上のエピソードを認めた。その 4 名の前回のエピソードからの経過月数は 43.3 (42.8) カ月であった。調査時に全員が Milnacipran または paroxetine の服用を開始していた。

うつ病群と健常者群それぞれの平均左海馬容積は 3781 (445) mm^3 、3957 (408) mm^3 、平均右海馬容積は 3640 (382) mm^3 、3810 (502) mm^3 、全灰白質容積 699 (87) cm^3 、684 (98) cm^3 、全白質容積 523 (67) cm^3 、502 (62) cm^3 、全脳脊髄液容積 448 (89) cm^3 、434 (149) cm^3 であり、これを基にして計算した全脳容積は 1222 (143) cm^3 、1186 (152) cm^3 、頭蓋内容積は 1671 (123) cm^3 、1620 (165) cm^3 であった。これら容積を群間で t -test を用いて比較した際の統計値はそれぞれ、左海馬容積 ($t=0.77$, $p=0.46$)、右海馬容積 ($t=0.71$, $p=0.49$)、全灰白質容積 ($t=0.32$, $p=0.76$)、全白質容積 ($t=0.61$, $p=0.56$)、全脳容積 ($t=0.46$, $p=0.65$)、頭蓋内容積 ($t=0.65$, $p=0.53$) であった。

左海馬容積の頭蓋内容積に対する比率はうつ病群で 2.26×10^{-3} (0.17×10^{-3})、健常群で 2.45×10^{-3} (0.25×10^{-3})、右海馬容積比率はうつ病群で 2.18×10^{-3} (0.15×10^{-3})、健常群で 2.35×10^{-3} (0.23×10^{-3}) であり、それぞれ t -test で群間比較した際の統計値は $t=1.73$, $p=0.11$ と $t=1.71$, $p=0.11$ であった(図 6、図 7)。

VBM 手法を用いて群間で部分脳容積を比較した結果を図 8 に示す。MNI 脳座標 [40 -26 -13] 部位で $t=5.80$, p uncorrected <0.001 であった。

関心領域である海馬以外では、[-9 18 56]

で $t=8.63$, $p<0.001$ 、[35 9-38] で $t=6.05$, $p<0.001$ 、[6 -21 10] で $t=5.66$, $p<0.001$ であった(図 9)。

C-5. 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) ヒト血中シグマ-1 受容体蛋白の測定

27kDa あたりに 1 本のバンドが得られ、報告されているシグマ-1 受容体の分子量にほぼ一致していることから、血中のシグマ-1 受容体蛋白量を反映していると考えられた。全血、血球成分ではバンドが得られたのに対し、血漿、血清ではバンドは確認できなかった。ヒト脳サンプル(全脳、海馬)の密度と比較すると、血中の方が高かった。従って、シグマ-1 受容体蛋白はヒト血中に豊富に存在し、血球由来であると考えられた。

(2) 気分障害患者群と健常者群の比較

気分障害患者群(Mood disorders)と健常者群(Control)では血中シグマ-1 受容体蛋白濃度に有意な差は見られなかった(Fig1)。気分障害患者群をうつ病(MDD)および躁うつ病(BP)患者群に分けて検討したが、健常者群と比較して有意な差はみられなかった(data not shown)。

(3) 性別による比較

次に男女にわけて検討したところ、男性気分障害患者群は男性健常者群と比較して血中のシグマ-1 受容体蛋白量は有意に低下していた(Fig 2)。MDD と BP いずれも男性患者群は男性健常者群と比較して有意に低下していた(data not shown)。一方、女性気分障害患者群は女性健常者群と比較して差は認められなかった(Fig 3)。MDD と BP いずれも女性患者群は女性健常者群と比較して有意差は見られなかった(data not shown)。

(4) シグマ-1 受容体の遺伝子多型の検討

今までシグマ-1 受容体の発現低下に関与することが知られている 2 種類の遺伝子多型(GC-241-240TT, T-485A)について検討した。いずれの多型も気分障害患者群と健常者群で頻度に差はなかった(Fig. 4)。比較的頻度の高い 241-240TT 多型のみに着目して、発現低下に関与する TT-241-240 allele を有する男性患者群(7 人)と有し

ない男性患者群（10人）で、血中シグマ-1受容体濃度を比較したが、有意な差は認めなかった（data not shown）。

C-6. 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 BDNF, cytokines 動態からの検討

(1) 先行投与薬物は paroxetine 10 例、lithium 5 例、valproic acid 5 例、milnacipran 5 例、fluvoxamine 3 例、sertraline 3 例、amoxapine 1 例、amitriptyline 1 例、clomipramine 1 例であった。(2) 追加投与した非定型抗精神病薬は risperidone 22 例、olanzapine 7 例、perospirone 5 例、aripiprazole 4 例であった。(3) 反応群の割合は risperidone 追加群で 9/22 (41%)、olanzapine 追加群で 3/7 (43%)、perospirone 追加群で 2/5 (40%)、aripiprazole 追加群で 2/4 (50%) であり、全体で 16/38 (43%) であった。(4) 大うつ病障害群では非定型抗精神病薬塚により 12/28 (43%) が、双極 I 型障害群では 4/10 (40%) が反応群となった。(5) 精神病性の特徴を伴うものでは 13/28 (46%)、伴わないものでは 3/10 (30%) が反応群となった。(6) 血中 BDNF 濃度は、健常者群と比較して、SSRI/SNRI 反応群、難治群で有意に低値であった（健常者群； $2.11 \pm 0.79 \text{ ng/mL}$ 、SSRI/SNRI 反応群； $1.33 \pm 0.62 \text{ ng/mL}$ 、難治群； $1.21 \pm 0.74 \text{ ng/mL}$ ）。しかし、SSRI/SNRI 反応群と難治群との間には差はなかった。(7) 難治群では、非定型抗精神病薬追加投与への反応群では 4 週間後の血中 BDNF 濃度が増加したが、非反応群では変化がなかった。(8) 血中 IL-6, TNF α 濃度は健常者群と比較して、難治群、SSRI/SNRI 反応群では有意に高値であった。さらに、難治群では SSRI/SNRI 反応群よりも高値であった。(9) 難治群では非定型抗精神病薬への反応群では 4 週間後の IL-6 濃度が低下したが、非反応群では変化がなかった。(10) SAS 得点は非定型抗精神病薬投与前、投与 4 週間後でそれぞれ 0.9 ± 0.3 、 1.1 ± 0.5 であった。

C-7. 老年期うつ病の病態と治療に関する研究

CES-D: 16 点以上は 4 人 (11.8%) GHQ28: 6 点以上は 12 人 (35.3%) GHQ28 では、「身体的症状」因子による精神的健康度の低下

が顕著であった。

幼弱な神経細胞のマーカーである Tuj 1 陽性細胞数は、どの濃度でもコントロール群に比べ減少が認められ、 $1000 \mu\text{M}$ ではコントロール群に対して統計学的に有意に減少がみられた。一方グリアのマーカーである GFAP 陽性細胞に関しては、 $500 \mu\text{M}$ までは増加傾向を示したが、 $1000 \mu\text{M}$ では統計学的な有意差を持って減少が認められた。

C-8. 抗うつ薬の初期反応性と診断変更・副作用の関連ドパミン・アゴニストの難治性うつ病に対する効果

C-8-1. 青年期うつ病における診断変更の予測因子：抗うつ薬の初期反応性と副作用の検討

51 名中 7 名が診断変更され、5 名が双極性障害であった。抗うつ薬に対する初期反応性の比較では、反応群と非反応群で診断変更の割合に有意な差を認めなかった（表 1）。抗うつ薬治療開始 8 週以内に AS が出現した群（AS 群）と出現しなかった群を比較すると、AS 群で双極性障害への診断変更の割合が有意に高い結果となった（表 2、図 1）。以上から、青年期うつ病における抗うつ薬治療初期の AS は、その後の双極性障害への診断変更の指標であり、いいかえると潜在性双極性障害の予測因子となる可能性が示唆された。

C-8-2. 難治性うつ病に対するドパミンアゴニストの効果と効果予測因子に関する研究

平成 19 年 11 月現在で、10 例の単極性の難治性うつ病患者を本研究に組み入れた。使用したドパミン・アゴニストは 9 例で pramipexole、1 例で cabergoline であった。HAM-D における反応率（50% 以上の改善）は 50%、寛解率（7 点以下）は 50% であり、MADRS における反応率は 60%、寛解率（10 点以下）は 60% であった。GAF 尺度は平均 47.5 点から 59.7 点に改善した（そのうち、試験終了時に 71 点以上、すなわち社会的、職業的または学校の機能にわずかな障害以上のものはない症例は 2 例であった）。治療前後で HAM-D、MADRS、GAF は統計学的に有意に改善した（図 2、paired t-test）。

ドパミン・アゴニスト治療前後で FDG-PET を検査したが、治療開始前の FDG-PET で 10 例中 5 例に視察による糖代謝低下が認め

られた(図3)。そのうち4例はドパミン・アゴニストに対する反応者であり、ドパミン・アゴニストによる症状改善とともにFDG-PETの異常は是正された(報告会ではSPM解析の一部を報告する予定である)。なお、脳MRI所見は10例中2例で軽度の萎縮が認められた(2例とも反応者)。

血漿HVA濃度は7例で測定したが、ドパミン・アゴニストの治療前後で有意な変化は認められなかった。

C-9. 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因と治療法に関する研究

1) 難治性うつ病の病態生理にかかわる要因

a) PMDDの中枢セロトニン機能

PMDD群はPMS群や正常対照群と比較して、卵胞期に有意に高い中枢セロトニン機能を有し、黄体期に有意に低いセロトニン機能を有することが判明した。

b) 睡眠・覚醒リズム

現時点で5例にアクチグラムを施行した。その結果は以下の通りである。

睡眠時間(分) 518.1 (343.2~656.3)、入眠潜時(分) 10 (8.3~140.4)

中途覚醒時間(分) 44.6 (18.4~75.0)、中途覚醒時間の割合(%) 7.4 (2.8~21.9)

平均活動量(カウント/分) 75.1 (47.8~188.8)(いずれも中央値と範囲を示す)。

c) ECT前後における中枢セロトニン機能の測定

現時点で3例に施行し、3例ともECTにて改善が得られ、ECT終了後にセロトニン機能が高まっていることを示唆する結果を得た。

d) セロトニン症候群

パロキセチン20-30mg/日投与によりセロトニン症候群を生じ、その後、10mg/日の再投与によっても類似の症状を生じた。

e) dysthymia親和型

セルトラリンの投与が遷延性の抑うつ状態に部分的に奏効したが、寛解しなかった。性格的には規範を嫌い、仕事熱心とは言えず、漠然とした万能感を保持しつつ回避的行動をとるdysthymia親和型性格が認められた。

2) 難治性うつ病の治療法に関する検討

f) 心疾患を有する高齢者における慎重なりチウム増強療法

2症例ともに抗うつ薬抵抗性で、心筋梗塞

に対して心臓カテーテル手術が施行されていたが、諸検査で循環動態の経過を追いながら、リチウムを少量から追加し漸増したところ抑うつ状態の改善を認めた。

g) 少量のアリピプラゾールによる増強療法
3症例ともに抗うつ薬抵抗性であったが、3mg/日と少量のアリピプラゾール追加により寛解に至った。

h) rTMS

現時点で7例に施行した。いまだ症例数が少ないためにshamとactiveの比較は行っていない。

C-10. 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研究

6月より研究への登録を開始。現在登録数10例であり、10例中1例が患者の希望により途中で研究参加取り止めとなり、1例が診断の変更により中止となっている。4例が症状寛解、2例が非寛解例(やや有効)で終了し、2例が継続中である。4例の症状寛解例、2例の非寛解例で治療前後のNIRSを施行し、継続中の2例で治療前のNIRSを施行している(現在解析中)。rTMS施行例は今のところなく、0例である。

D. 考察

D-1. うつ病難治化の心理社会的要因の解析研究

本研究の結果から、難治性うつ病に性格特性が影響を及ぼしている可能性が示唆された。非反応群に示されたCの高さは、欲求不満耐性の弱さと自分自身の問題に向き合うことの難しさを示しており、心理療法の効果が期待できないことが指摘されている。この点もうつ病を難治化させる要因となることが示唆された。脱落群はNとEの差が極端に大きかった。Eの低さは、抗うつ剤の効果を期待させるものであるが、神経症傾向の高さがその効果を干渉している可能性が示唆された。

本研究では、幼児期のトラウマ体験と難治性うつ病の関連を検討したところ、非反応群のトラウマ体験は3群のなかで最も少ないことが示された。非反応群のサンプル数は4例と少なかったことから、今後サンプル数を増やして検討を行う予定である。