

行して、この症例の身体疾患を含む様々な特殊性の有無を、米国脳 bank との連携で進める予定である。

E. 結論

本年度の検討では、高齢者うつ群の前頭葉白質において白血球の血管内皮接着・あるいは血管壁・周囲浸潤を伴う血管が、対照よりもやや多い傾向が見られたものの、明確な差を見出すことはできなかった。剖検例数の増加は継続して努めるとしても、短期間で多数例を集積することは不可能であり、今後も現有の標本セットを用いて、異なるマーカーを用いて有意差を見出すための検討を継続してゆく必要がある

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Pick's disease with Pick bodies: an autopsy case showing degeneration of the pontine nucleus, dentate nucleus, Clarke's column, and lower motor neuron. Oda T, Tsuchiya K, Arai T, Togo T, Uchikado H, de Silva R, Lees A, Akiyama H, Haga C, Ikeda K, Kato M, Kato Y, Hara T, Onaya M, Hori K, Teramoto H, Tominaga. *Neuropathology* 27: 81-89, 2007

気分障害患者における遺伝子発現調節異常と
高齢初発うつ病の脳画像学的解析と薬物治療反応性に関する研究

分担研究者 渡辺 義文

山口大学大学院医学系研究科高次脳機能病態学分野 教授

研究要旨：気分障害における脳神経系の形態学的異常から、うつ病の神経可塑性への障害が疑われている。本研究では、1)気分障害患者における細胞の形態維持や可塑性に関与する様々な遺伝子群の mRNA 発現量を健常群と比較した。また、2)それら発現量と薬物治療抵抗性ととの関連を検討した。一方、高齢初発うつ病の発症脆弱性に脳循環の障害が疑われていることから、3) 高齢初発うつ病患者における血流改善薬の効果を検討する端緒として、気分障害患者における血小板活性化因子発現量を測定した。

A. 研究目的

うつ病における脳画像解析と死後脳解析により、前頭前野グリア細胞数の減少、海馬萎縮などが認められている。また、基礎研究結果により、慢性ストレス負荷動物では、海馬 CA3 錐体細胞の萎縮、海馬歯状回の神経新生抑制などが認められている。このような脳神経系の形態学的異常から、うつ病の神経可塑性への障害が疑われる。本研究課題では、気分障害の病態解明を第一の目標とし、神経可塑性や神経細胞の形態保持に対して必須の役割を果たす数種類の遺伝子群（栄養因子群、細胞接着因子群など）に着目した。大うつ病性障害患者、双極性障害患者末梢血白血球におけるこれら遺伝子群の発現量を解析することで、気分障害における細胞接着因子発現量を検討した。

一方、若年初発うつ病と高齢初発うつ病とでは発症脆弱性を形成する因子が一部異なると想定されている。前者では主に発症脆弱性関連遺伝子や神経発達障害の関与が、後者では持続的な心理社会的ストレスや潜在性脳硬塞などの脳器質的变化の関与が想定されている。そこで、発症脆弱性の基盤

が異なると考えられる高齢初発うつ病患者に対する抗血小板薬の臨床効果を検討する予定である。その端緒として今回、健常者および気分障害患者末梢血における血小板活性化因子発現量を検討した。

B. 研究方法

研究 1：遺伝子発現量測定

健常者 28 名、大うつ病性障害患者（抑うつ状態）19 名、双極性障害患者（抑うつ状態）9 名に対して検討を行った。診断は DSM-IV に基づいて行い、抑うつ状態の評価としてハミルトンうつ病評価尺度を用いた。採取した血液 10ml から cDNA を合成し、定量的リアルタイム PCR 法に供した。本研究では、栄養因子群として BDNF、NT-3、GDNF、ARTN、NRTN、PSPN mRNA を、細胞接着因子として NCAM、L1、integrin α D、ICAM、cadherin mRNA 発現量を測定した。
研究 2：難治例での検討

イミプラミン換算で 150mg/日以上抗うつ薬を 8 週間以上投与したが改善せず ECT 施行により軽快した症例を難治例と定義した。精神症状が重度であるため早急に ECT

を導入した症例、及び副作用のため薬剤による治療が困難であったためECTを導入した症例は除いた。薬物治療反応群25名、薬物治療非反応群9名で検討した。

研究3：血小板活性化因子測定

健常者5名、大うつ病性障害患者（抑うつ状態）4名に対して検討を行った。血液より血漿を調整後、血小板活性化のマーカー一因子、P-selectin、 β -TG、PF4量をELISA法により検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の目的、方法を文書と口頭で十分に説明し、同意の得られた者のみを研究対象者とした。研究過程で外部に個人が特定されないよう配慮することを説明し、同意の署名を得た。

C. 研究成果

研究1：気分障害患者末梢白血球におけるNCAM mRNA発現量を測定したところ、うつ病相の双極性障害患者群は健常群に比べ有意に低下していた。一方、寛解期では有意な差は認められなかった。LI mRNA発現量に関して、うつ病相の双極性障害患者群は健常群に比べ有意に増加していた。一方、寛解期では有意な差は認められなかった。integrin、cadherin、ICAM mRNA発現量においては、気分障害患者群と健常群に有意差は認められなかった。大うつ病性障害患者では細胞接着遺伝子群の発現量に何ら差を認めなかった。

栄養因子群に関して、うつ病相の大うつ病性障害患者におけるNT-3、GDNF、ARTN、NRTN mRNA発現量は健常者に比べ有意に減少していた。一方、寛解期では有意な差は認められなかった。双極性障害患者群では栄養因子群の発現量に何ら差を認めなかった。

研究2：薬物治療非反応群におけるLI mRNA発現量は薬物治療反応群に比べて有意に低下していた。

研究3：うつ病患者におけるP-selectin、 β -TG、PF4量はいずれも健常者に比べ低い傾向であった。

D. 考察

我々は最近、気分障害患者においてグルココルチコイド受容体(GR α)遺伝子の有意な発現量低下を報告した(Matsubara et al., 2006)。この気分障害患者におけるGR α mRNA発現量低下は、抑うつ状態、寛解状態に関わらず認められ、さらに第一度血縁者においても有意な低下が認められた。従って、気分障害におけるGR α mRNA発現量の低下はtrait-dependentな変化であることが示唆された。興味深いことに、GDNF、NT-3、NCAM遺伝子はGRにより発現制御を受けることが報告されていることから、大うつ病性障害患者群におけるこれらmRNA発現量低下は、GRの機能異常によるものであることが示唆された。

また、うつ病患者における血小板活性化レベルが健常群に比べ低いという今回の結果は、過去の報告と逆であった。これは、今回用いた患者がSSRIを服用していること、寛解状態に近い状態のためだと考えられる。今後、未服薬の患者や薬物治療抵抗性うつ病患者に対象を広げて検討する必要があると思われる。

E. 結論

研究1より、大うつ病性障害患者末梢白血球におけるNCAM mRNA発現量は健常群に比べ有意に低いことが示された。しかしながら、本研究では抑うつ状態の気分障害患者におけるNCAM mRNA発現量を解析したものであり、今後、寛解状態や第

一度血縁者における NCAM 発現量変化を解析することで、NCAM 発現量低下が state-marker あるいは trait-marker であるかを検討する必要がある。

研究 2 により、薬物治療非反応群における LI mRNA 発現量の有意な低下は、難治例におけるバイオロジカルマーカーとなる可能性が示唆された。

研究 3 より、薬物治療反応性うつ病患者における血小板活性化レベルが健常群に比べ低かった。今後、抗血小板薬服薬・未服薬の薬物治療抵抗性うつ病患者における血小板活性化レベルや脳画像解析を行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Watanuki T, Funato H, Uchida S, Matsubara T, Kobayashi A, Wakabayashi Y, Otsuki K, Nishida A, Watanabe Y.: Increased expression of splicing factor SRp20 mRNA in bipolar disorder patients. *Journal of Affective Disorders*, in press

Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Matsubara T, Fujimoto M, Funato H, and Watanabe Y.: Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *Journal*

of psychiatric research, in press

Matsubara T, Funato H, Kobayashi A, Nobumoto M, Watanabe Y.: Reduced glucocorticoid receptor alpha expression in mood disorder patients and first-degree relatives. *Biological Psychiatry* 59, 689-695, 2006

Funato H, Kobayashi A, Watanabe Y.: Differential effects of antidepressants on dexamethasone-induced nuclear translocation and expression of glucocorticoid receptor. *Brain Research* 1117, 125-134, 2006

2. 学会発表

Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Matsubara T, Funato H, and Watanabe Y.: Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. Society for Neuroscience 2007

Wakabayashi Y, Uchida S, Funato H, Matsubara T, Kobayashi A, Nishida A, Watanabe Y.: Expression analysis of cell adhesion molecules in mood disorder patients. Society for Neuroscience 2007

感情障害における膜受容体から細胞骨格へのシグナル伝達機能に関する
脳科学的研究

分担研究者 白尾 智明

群馬大学大学院医学系研究科高次細胞機能学分野 教授

研究要旨：本研究は神経の発生・移動・分化に関連するうつ病の脳器質性発症脆弱性の病態生理の解明と修復の可能性を動物や細胞レベルでの脳科学的基礎研究で探求する。成熟脳における新生神経細胞や移動神経細胞の同定法を開発し、うつ病における神経新生の全体像を明らかにする。嗅球摘出モデルマウスにおける神経細胞移動と行動異常およびシナプス機能蛋白の mRNA の変動を解析する。

A. 研究目的

本研究は神経の発生・移動・分化に関連するうつ病の脳器質性発症脆弱性の病態生理の解明と修復の可能性を動物や細胞レベルでの脳科学的基礎研究で探求し、その成果を死後脳の免疫組織学的解析により検証することを目的とする。さらに、本研究成果をうつ病の診断、治療に応用することを目指す。

うつ病では神経細胞の移動に異常があることが推測されているが、ヒトでは移動細胞を直接同定する方法がまだないので、細胞移動異常は直接は確認されていない。移動細胞を同定する方法としては、実験動物では BRdU 投与などの方法が開発されているが、これらの侵襲的方法をヒトに応用することはできない。また、Ki67 抗体を用いた同定法は分裂細胞を同定することはできるが、移動細胞を同定することはできない。このように、死後脳で移動神経細胞を同定する良い方法は、現在までのところ開発されていなかった。そこで、我々は二種類のドレブリン抗体を用いることにより成熟脳で移動神経細胞を同定する方法の開発を試みた。

B. 研究方法

8 週齢以上の雄 SD 系ラットを 4%パラフォルム

アルデヒドで灌流固定し、脳を包埋凍結して、10 μ m の薄切切片を作成し、ドレブリン A（成人型）特異的ポリクロナール抗体 DAS2 とドレブリン A と E（胎児型）の両方を認識するモノクロナール抗体 M2F6 を組み合わせて二重蛍光染色を行う。次に、DAS2 の画像を M2F6 の画像からさし引き、ドレブリン E が存在しドレブリン A が存在しない構造を描出する。

（倫理面への配慮）

動物実験は群馬大学動物実験規定に則り、必要最小数の動物を用い、痛みも麻酔により最小限にとどめて行った。実験計画は群馬大学昭和町キャンパス動物実験委員会により承認を得ている。

C. 研究成果

これまでの研究で移動中の神経細胞はドレブリン E のみを発現していることが判っている。この性質を利用して、DAS2 の画像を M2F6 の画像からさし引くことにより、成熟脳において移動神経細胞を同定することに成功した。次に、この方法を用いて嗅球摘出手術を施行したラット脳では、摘出側で移動神経細胞数が増加していることを観察した。さらに、成熟ラット脳内

の移動神経細胞を網羅的に解析し、現在までに梨状葉に移動中の神経細胞が存在することを発見した。

D. 考察

今回用いた二種類のドレブリン抗体 (M2F6 と DAS2) はラットドレブリンとヒトドレブリンの共通エピトープを認識するので、今回開発した移動神経細胞同定法はラットばかりでなく死後脳に応用できる可能性が極めて高く、うつ病における神経細胞移動の実態を明らかにすることができると期待できる。

E. 結論

成熟脳における移動神経細胞は二種類のドレブリン抗体を用いることにより同定できる。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Majoul, I., Shirao, T., Sekino, Y., Duden, R. "Many faces of Drebrin: from building dendritic spines and stabilizing gap junctions to shaping neurite-like cell processes" *Histochem. Cell Biol.* 127:355-361 (2007)
2. Kojima, N., Shirao, T. "Synaptic dysfunction and disruption of the postsynaptic drebrin-actin complex: the study of neurological disorders accompanied by cognitive deficits." *Neurosci. Res.* 58:1-5 (2007)
3. Kato, K., Sekino, Y., Takahashi, H., Yasuda, H., Shirao, T., "Increase of AMPA receptors-mediated miniature EPSC amplitude after chronic NMDA receptor blockade in cultured hippocampal neurons" *Neurosci. Lett.* 418:4-8 (2007)
4. Kobayashi, C., Aoki, C., Kojima, N., Yamazaki, H., and Shirao, T., "Drebrin A

content correlates with spine head size in the adult mouse cerebral cortex" *J. Comp. Neurol.* 503:618-626 (2007)

5. Sekino Y, Kojima N, Shirao T. "Role of actin cytoskeleton in dendritic spine morphogenesis" *Neurochem. Int.* 51: 92-104 (2007)
6. Sekino Y, Shirao T. "Role for signal propagation through the hippocampal CA2 field in memory formation" in *Lecture Notes in Artificial Intelligence*. Springer in press (2007/4/9) (book)
7. Aoki C, Mahadomrongkul V, Fujisawa S, Habersat R, Shirao T. "Chemical and morphological alterations of spines within the hippocampus and entorhinal cortex precedes the onset of Alzheimer's disease pathology in double knock-in mice" *J. Comp. Neurol.* 505:352-362 (2007)
8. Song M, Kojima N, Hanamura K, Sekino Y, Inoue KH, Mikuni M, Shirao T, "Expression of drebrin E in migrating neuroblasts in adult rat brain: coincidence between drebrin E disappearance from cell body and cessation of migration" *Neuroscience*. in press
9. 高橋 秀人、白尾 智明「スパイン形成とシナプス後部アクチンの特殊化—ドレブリンの関与」*生体の科学* 58: 103-107 (2007)
10. 高橋秀人、白尾智明「スパイン形成過程におけるタンパク質間相互作用」*生体の科学* 58(5):472-473, 2007
11. 花村健次、白尾智明「神経細胞樹状突起スパインのアクチン細胞骨格」*日本薬理学雑誌* 130, 352~357 (2007)
12. 白尾智明「統合領域としての生理学の存在意義」*日本生理学雑誌* 69, 341-342 (2007)
13. 児島伸彦、関野祐子、白尾智明「樹状突起スパインの形成と機能制御に関わるアクチン細胞骨格タンパク」*蛋白質・核酸・酵*

素 (印刷中)

14. 田中聡一、白尾智明「シグナルトランスダクション——レセプターと細胞内情報伝達カスケード」石渡、桂、桐野、美宅 編「生物物理学ハンドブック」朝倉書店 印刷中
2. 学会発表
 1. 7th IBRO World Congress of Neuroscience, Melbourne AUSTRALIA JULY 12-17 2007, Shirao, T. "Bidirectional regulation of NMDA receptor and actin cytoskeleton in dendritic spine" in the symposium of "MECHANISMS OF STRUCTURAL PLASTICITY AT EXCITATORY SYNAPSES"
 2. 21th ISN Biennial Meeting, August 23, 2007, Cancun, Mexico. Shirao, T., Takahashi, H., Mizui, T., Sekino, Y. "Genetic and activity-dependent control of spinous actin cytoskeleton in spine formation." in the Symposium on "Cytoskeletal dynamics and signal transduction in neurons" (invited).
 3. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007. Kato K, Sekino Y, Takahashi H, Yasuda H, and Shirao T "Chronic NMDA receptor blockade induces homeostatic synaptic scaling of AMPA receptors in cultured hippocampal neurons" San Diego, CA, Nov. 3-7
 4. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007. Takahashi H, Yamazaki H, and Shirao T "AMPA-type glutamate receptors regulate drebrin turnover during development" San Diego, CA, Nov. 3-7
 5. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007. Mizui T, Katayama M, and Shirao T "Roles of drebrin in the neurite outgrowth" San Diego, CA, Nov. 3-7
 6. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007 Aok C, Fujisawa S, Mahadomrongkul V, Habersat R, Sabaliauskis N, Hernandez H, Levy R, Kojima N and Shirao T. "Alzheimer's model animals show reduction of drebrin A within spines and this may lead to impairment of synaptic activity-dependent trafficking of NMDAR subunits into spines." San Diego, CA, Nov. 3-7
7. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007 Okamoto T, Shirao T, Nagao S "Time for consolidation of motor memory during motor learning estimated long-term adaptation of horizontal optokinetic response eye movement in mice" San Diego, CA, Nov. 3-7
8. 白尾智明「神経細胞樹状突起スパインのアクチン細胞骨格」第80回日本薬理学会年会、名古屋、2007年3月14日～16日 (シンポジウム「神経系アクチン細胞骨格の基礎と臨床」)(シンポジウム)
9. 高橋秀人、山崎博幸、白尾智明「発生過程における樹状突起スパイン形態形成のAMPA型およびNMDA型グルタミン酸受容体による逐次的制御」第80回日本薬理学会年会 (年会優秀発表賞ミニシンポジウム)、名古屋、2007年3月14日～16日
10. 加藤健一、白尾智明、高橋秀人、関野祐子「Increase of AMPA-mediated mEPSC amplitude induced by chronic treatment with AP5 in cultured hippocampal neurons」第80回日本薬理学会年会、名古屋、2007年3月14日～16日
11. 山崎博幸、加藤健一、関野祐子、児島伸彦、白尾智明「Spikar plays a role in dendritic spine formation but not in synapse formation.」第84回日本生理学会大会、大阪、2007年3月20日～22日
12. 花村健次、宋明橋、児島伸彦、関野祐子、白尾智明「成体脳の新生神経細胞の移動停止時にドレブリンEは細胞体から消失する。」第22回神経組織の成長・再生・移植研究会 学術集会、岡山、2007年5月26日
13. 水井利幸、片山理人、白尾智明

- 「Enhancement of axon and dendrite outgrowth by drebrin expression at early developmental stages in hippocampal neurons」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日
14. 小林千穂、Chiye Aoki、白尾智明 「Relation between dendritic spine size and its drebrin A level in adult mouse brain」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日
15. 花村健次、宋明橋、児島伸彦、関野祐子、白尾智明 「Cessation of neuronal migration in adult rodent olfactory bulb is paralleled with the disappearance of drebrin E from the cell body」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日
16. 山崎博幸、加藤健一、笹川快夫、関野祐子、白尾智明 「Spikar-dependent spine formation does not necessary need the translocation of Spikar into nucleus..」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日
17. 加藤健一、白尾智明、高橋秀人、関野祐子 「Effects of chronic blockade of NMDA receptors during synaptogenesis on glutamate receptor-mediated currents in cultured hippocampal neurons」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日
18. 白尾智明 「Glutamate receptor activity regulates drebrin-dependent accumulation of spine resident proteins」第30回日本神経科学大会、横浜、2007年9月10日～12日 (シンポジウム「神経活動とスパイン形態：アクチンダイナミズムとその制御因子」)(シンポジウム)
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
特に無し
2. 実用新案登録
特に無し
3. その他
特に無し

大脳皮質における GABA 神経亜型、錐体細胞の機能的結合に関する神経生理学的研究

分担研究者 川口 泰雄

自然科学研究機構・生理学研究所 教授

研究要旨：前頭皮質回路を大脳システムの中での機能的モジュールとして捉え、うつ病などを引き起こす皮質局所回路を錐体・GABA ニューロンのサブタイプレベルから理解することを目指して、今年度は、錐体細胞棘突起への興奮性と GABA 入力の関係と、アセチルコリンの新皮質と海馬のニューロンタイプごとの作用を調べた。その結果、(1) GABA 細胞の複数のサブタイプが視床からスパインへの興奮性入力の一部を選択的に抑えること、(2) アセチルコリンの一過性投与で、FS バスケット細胞ではなく CCK バスケット細胞がムスカリン性過分極し、ソマトスタチン細胞ではなく VIP 細胞がニコチン性脱分極すること、(3) アセチルコリン投与で新皮質 5 層錐体細胞と海馬 CA1 領域錐体細胞が過分極することがわかった。

1. 研究目的

大脳皮質、特に前頭皮質は、それが投射する大脳基底核の線条体とともに精神活動や運動・行動にとって非常に重要な場所であり、これらの異常は躁鬱病や統合失調症などの精神疾患を引き起こす。近年、皮質や基底核における異常脳部位の同定が進むと同時に、各疾患における遺伝子異常も捉えらえるようになった。特に、大脳皮質の GABA 細胞は多様なニューロン群からできているが、鬱病や統合失調症において、その中のサブタイプが選択的に変化している可能性が出てきている。しかし、精神疾患における分子レベルでの病的変化と、正常と異なる活動をする脳部位に関する知見を結びつけて病態解明していくのは容易ではない。その理由の一つは、前頭皮質や、それに密接に関連する前脳領域での構成細胞の種類やシナプス結合ルールが殆どわかっていなかったことによる。最近になり電気・形態・分子的性質や軸索投射パターンを組み合わせることで、ようやく前頭皮質の機能的ニューロンタイプが明らかにされつつある。本研究ではこれまでに同定してきた錐体細胞・GABA 作動性細胞サブタイプの知見をもとに、前頭皮質局所回路を大脳システムの中での機能的モジュールとして捉え、うつ病などを引き起こす皮質局所回路をニューロ

ンタイプのレベルから理解することを目指している。今年度は、前頭皮質棘突起への興奮性入力サブタイプと GABA 入力との関係と、アセチルコリンの新皮質と海馬のニューロンタイプごとの作用を調べた。

2. 研究方法

(I) 棘突起へのシナプス入力の解析

GABA 細胞の軸索終末がどのくらい棘突起にシナプスを作っているか明らかにするために、脳切片標本を用いて GABA 細胞からホールセル記録・細胞内染色を行い、電顕観察用に包埋した。発火様式・軸索分枝パターンからサブタイプを同定した。染色細胞から超薄連続切片を作成して、シナプス部位の後構造を同定した。

興奮性入力のサブタイプを同定するために、二種類のシナプス小胞グルタミン酸トランスポーター (VGLUT1, VGLUT2) をマーカーにした包埋前免疫組織化学を行い、電顕観察を行った。VGLUT1 は主に錐体細胞軸索終末に、VGLUT2 は視床軸索終末に発現している。GABA シナプス終末を同定するために、超薄切片作成後、包埋後免疫組織化学を行い、その発現を金粒子で同定した。

(II) 大脳皮質ニューロンへのアセチルコリン作用の解析

ラットの脳皮質及び海馬から脳切片を作成し、人工脳脊髄液で灌流しながら直視下に皮質細胞からホールセル記録を行った。GABA 細胞の場合にはバイオサイチンを細胞内に入れ、固定後、細胞内染色と蛍光免疫組織化学で特異的マーカーの発現を調べ、サブタイプを同定した。アセチルコリンはガラス管から圧をかけて投与し、拮抗薬は灌流液に入れた。

(倫理面への配慮)

本研究ではラットを実験動物として用いたが、生理学研究所・動物実験委員会に研究計画書を提出し審査を受け、研究所長から承認されている。

3. 研究成果

(I) 前頭皮質棘突起への興奮性入力と抑制性入力の二重支配

生理的・化学的・形態的に同定した非錐体細胞軸索のシナプス標的構造を超薄切片像から 3 次元的に再構築して調べたところ、複数の GABA 細胞サブタイプの軸索がスパインにシナプスを作り、その同じスパインに興奮性終末がみられた。視床と皮質からの終末をそれぞれの特異的な抗体で同定し、そのシナプス後構造を超薄切片像から再構築すると、視床入力を受けるスパインの一部に同時に GABA 作働性入力があることがわかった。非錐体細胞の複数のサブタイプが、視床からのスパインへの興奮性入力の一部を選択的に抑えることを明らかにできた。

(II) アセチルコリンの前頭皮質 GABA 作働性ニューロンに対する作用

ムスカリン性過分極は 5 層錐体細胞と、GABA 細胞では CCK 陽性の大型バスケット細胞でみられた。しかし、過分極に関わる受容体は錐体細胞では m1 型であったのに対して、CCK バスケット細胞では m2 型であり、その誘発機構は異なると考えられた。ニコチン性脱分極は、VIP 細胞やニューログリア様細胞で起こすことができた。FS 細胞、ソマトスタチン細胞では、他のグループによる報告とは異なり、一過性応答は殆ど観察できなかった。これらと私たちの以前の持続的投与結果と合わせると、アセチルコリンの抑制性ニューロ

ンに対する作用はニコチン受容体による脱分極・ムスカリン受容体による過分極・ムスカリン受容体による緩徐な持続的脱分極がサブタイプごとに異なる組み合わせで発現していることが明らかになった。

(III) アセチルコリン作用からみた新皮質層構造と海馬領域の層同性

アセチルコリンの錐体細胞への作用を、新皮質の層ごとに、海馬内の領域ごとに比較した。新皮質では領野によらず、一過性のアセチルコリン投与に対して 5 層のものは著明に過分極するのに対して、2・3 層のものでは電位変化はみられなかった。アセチルコリンを海馬錐体細胞の細胞体付近に一過性に与えたところ、CA3 領域では過分極が見られなかったが、CA1 領域では、M1 型ムスカリン受容体、細胞内カルシウム上昇を介した SK チャネルによる過分極が起きた。

4. 考察

脳皮質局所回路の入出力がどのように GABA 細胞によって制御されているかは重要である。錐体細胞の出力が、軸索初節部にシナプスを作る GABA 細胞によって抑制されることは知られていた。今回の研究によって、錐体細胞への視床からの興奮性入力の一部がいくつかの GABA サブタイプで選択的に抑制されること、アセチルコリンが錐体細胞サブタイプの出力を特異的に抑えることがわかった。皮質内部回路の入出力部に、GABA やアセチルコリンによる選択的制御がかかっていると思われる。

5 層錐体細胞や、他の GABA 細胞に抑制をかけると考えられるサブタイプ(VIP 細胞)などが、一過性にアセチルコリンで抑制を受けることは、アセチルコリンによって短期的に皮質外出力を止めた上で、局所回路の活動性が上がるモードが作られる可能性がある。

新皮質では 2・3 層から 5 層錐体細胞への結合が主要な興奮性経路の一つなのに対して、海馬では CA3 から CA1 錐体細胞へのシナプスが主要な興奮経路である。皮質外への投射については、それぞれ 5 層と CA1 錐体細胞が担っている。従って、

アセチルコリンは、層構造下位の興奮性細胞の発火を一過性に抑制し、皮質外への出力を遮断する可能性がある。アセチルコリン作用・皮質内経路・皮質外投射様式を合わせて考えると、新皮質2・3層錐体細胞はCA3錐体細胞に、5層のはCA1のものに対応すると考えられた。

上記のような皮質局所回路の入出力部における選択的制御の異常は精神疾患症状に関連している可能性がある。

5. 結論

大脳皮質の局所回路にはGABAやアセチルコリンによる、起始・投射部位依存的に入出力を抑制するサブシステムがあることがわかった。これは新皮質や海馬に共通のメカニズムであると考えられる。皮質GABA細胞やアセチルコリン、またはその受容体の変異によって、皮質局所回路の入出力スイッチングが上手く働かなくなると考えられる。

6. 研究発表

1. 論文発表

1. Kubota Y, Hatada S, Kondo S, Karube F, Kawaguchi Y (2007) Neocortical inhibitory terminals innervate dendritic spines targeted by thalamocortical afferents. *J Neurosci* 27:1139-1150.
2. Gullledge AT, Park SB, Kawaguchi Y, Stuart G (2007) Heterogeneity of phasic cholinergic signalling in neocortical neurons. *J Neurophysiol* 97: 2215-2229.
3. Gullledge AT, Kawaguchi Y (2007) Phasic cholinergic signaling in the hippocampus: functional homology with the neocortex? *Hippocampus* 17: 327-332.

2. 学会発表

1. Kawaguchi Y: Distinct excitatory and inhibitory subnetworks of the cortical microcircuit. 第30回日本神経学会科学大会, 平成19年9月10-12日, 横浜

2. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Aoyagi T, Mochizuki A, Kawaguchi Y: Dendritic dimensions of cortical nonpyramidal cells. 第30回日本神経学会科学大会, 平成19年9月10-12日, 横浜
3. Otsuka T, Morishima M. Kawaguchi Y: Firing pattern dependent specificity of cortical feed-forward subnetworks. 第30回日本神経学会科学大会, 平成19年9月10-12日, 横浜
4. Sekigawa A, Kubota Y, Hatada S, Kawaguchi Y: An excitatory and inhibitory synapse ratio on cortical nonpyramidal cell subtypes of the rat. 第30回日本神経学会科学大会, 平成19年9月10-12日, 横浜
5. Shino M, Yanagawa Y, Kawaguchi Y, Ozawa S, Saito Y: Membrane properties of prepositus inhibitory neurons in VGAT-Venus transgenic rats. 第30回日本神経学会科学大会, 平成19年9月10-12日, 横浜
6. Gullledge A, Kawaguchi Y: Phasic cholinergic signaling in the hippocampus: functional homology with the neocortex? Society For Neuroscience 37th Annual Meeting, San Diego, 11.3-7, 2007
7. Kubota Y, Karube F, Sekigawa A, Nomura M, Aoyagi T, Mochizuki A, Kawaguchi Y: Dendritic dimensions of cortical nonpyramidal cells. Society For Neuroscience 37th Annual Meeting, San Diego, 11.3-7, 2007
8. Shino M, Yanagawa Y, Kawaguchi Y, Ozawa S, Saito Y: Electrophysiological membrane properties of inhibitory neurons in the prepositus hypoglossi nucleus in transgenic Venus-expressing rats. Society For Neuroscience 37th Annual Meeting, San Diego, 11.3-7, 2007

躁うつ病の動物病態モデルの作成と新規気分安定薬のスクリーニング法の確立

分担研究者 加藤 忠史

理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム チームリーダー

研究要旨： 本研究の目的は、躁うつ病の動物モデルを作成すると共に、その病態を解析し、新規気分安定薬のスクリーニング法を確立することである。本年度は、我々の作成したミトコンドリア遺伝子変異が蓄積するトランスジェニックマウスと双極性障害患者の遺伝子発現パターンの類似性について検討を進めることにより、モデルマウスとしての妥当性を検証すると共に、モデルマウスの脳より単離したミトコンドリアにおける *in vitro* 評価系を用いて、候補薬剤の影響について検討した。

A. 研究目的

躁うつ病（双極性障害）は、躁状態、うつ状態の再発を繰り返すことにより社会生活障害を来す疾患である。既存の気分安定薬の作用が十分でないため、再発を繰り返す患者が多いことから、新たな気分安定薬の創薬が望まれている。リチウムやバルプロ酸などの気分安定薬が様々な分子メカニズムを介して神経細胞に影響することが明らかとなってきたが、双極性障害の動物モデルが存在しないこと、およびスクリーニング系が存在しないことから、創薬研究が進んでいなかった。

我々は、双極性障害で脳内エネルギー代謝障害を来すこと、ミトコンドリア病の一つである慢性進行性外眼筋麻痺（CPEO）で気分障害を合併すること、双極性障害患者の死後脳で mtDNA 欠失が見られたことなどに着目し、変異ミトコンドリア合成酵素ポリメラーゼ γ (POLG) を神経細胞特異的に発現するモデルマウスを作成し、双極性障害類似の表現型を呈することを見出した。

本年度は、このマウスにおける遺伝子発現パターンを双極性障害患者と比較することにより、更にモデルとしての妥当性を検証すると共に、モデルマウス由来の単離ミトコンドリアを用いて、候補薬剤の影響について検討

した。

B. 研究方法

POLG 変異マウスの海馬および前頭葉より RNA を抽出し、DNA マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。以前双極性障害患者死後脳において施行し報告した、DNA マイクロアレイのデータと照合し、共通の変化を示す遺伝子をリストアップした。

（倫理面への配慮）

本研究に関しては、理化学研究所和光動物実験審査委員会の承認を得た。

C. 研究成果

その結果、Ppif（シクロフィリン D）、および SFPQ の両遺伝子の変化が共通であった。モデルマウスにおいて見られたカルシウムシグナル変化の原因と目されるシクロフィリン D の変化が双極性障害患者死後脳でも見られたことから、本モデルマウスの妥当性が確認された。

また、本モデルマウスのカルシウムシグナル異常に対するシクロスポリン A およびフィリン D 特異的阻害薬の影響を調べ、*in vitro* では同様の影響を示すことがわかった。現在、マウスにこれらの薬剤を投与し、その

影響を検討中である。

なし。

D. 考察

遺伝子発現の面からも、本モデルマウスの妥当性が示された。また、本モデルマウスのカルシウムシグナルを模倣する変化を引き起こす薬剤を見出した。この薬剤がモデルマウスの行動異常を改善させるのかを今後検討する必要がある。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

E. 結論

躁うつ病モデルマウスを用いて、その病態を検討し、創薬研究に向けて、in vitro での評価系を確立した。

3. その他

特になし

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato T. Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder. *Cell Calcium*. 2008 Jan 3; [Epub]
2. Kato T. The role of mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Drug News Perspect*. 2006 Dec;19(10):597-602.
3. Kato T, Kubota M, Kasahara T. Animal models of bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2007;31(6):832-42.
4. Kazuno AA, Munakata K, Kato N, Kato T. Mitochondrial DNA-dependent effects of valproate on mitochondrial calcium levels in transmitochondrial cybrids. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008 Feb;11(1):71-8.
5. Kato T. Mitochondrial dysfunction as the molecular basis of bipolar disorder: therapeutic implications. *CNS Drugs*. 2007;21(1):1-11.

2. 学会発表

III. 業 績 一 覽

業績一覧

★タイトルが斜体の文献は巻末に別刷を付してあります。

【書籍】

シグナルトランスダクション - レセプターと細胞内情報伝達カスケード

田中聡一, 白尾智明

生物物理学ハンドブック, In Press

樹状突起スパインの形成と機能制御に関わるアクチン細胞骨格タンパク

児島伸彦, 関野祐子, 白尾智明

蛋白質・核酸・酵素, In Press

【雑誌】

Increased expression of splicing factor SRp20 mRNA in bipolar disorder patients.

Watanuki T, Funato H, Uchida S, Matsubara T, Kobayashi A, Wakabayashi Y, Otsuki K, Nishida A, Watanabe Y

Journal of Affective Disorders, In Press

Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression.

Otsuki K, Uchida S, Watanuki T, Wakabayashi Y, Matsubara T, Fujimoto M, Funato H, Watanabe Y

Journal of psychiatric research, In Press

Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder.

Kato T

Cell Calcium, In Press

Expression of drebrin E in migrating neuroblasts in adult rat brain: coincidence between drebrin E disappearance from cell body and cessation of migration.

Song M, Kojima N, Hanamura K, Sekino Y, Inoue H K, Mikuni M, Shirao T

Neuroscience, In Press

Role of mitochondrial DNA in calcium signaling abnormality in bipolar disorder

Kato T

Cell Calcium, In Press

Changes in density of calcium-binding-protein-immunoreactive GABAergic neurons in prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder.

Sakai T, Oshima A, Nozaki Y, Ida I, Haga C, Akiyama H, Nakazato Y, Mikuni M

Neuropathology, In Press

Mitochondrial DNA-dependent effects of valproate on mitochondrial calcium levels in trans-mitochondrial cybrids.

Kazuno A, Munakata K, Kato N, Kato T

Int J Neuropsychopharmacol 11: 71-8, 2008

Novel Augmentation Therapy with Cilostazol for the Geriatric Major Depressive Disorder Patient with Deep White Matter Hyperintensities on T2-Weighted Brain MRI: A Case Report.

Takahashi K, Oshima A, Inoue K, Takeyoshi H, Fukuda M, Mikuni M

Pharmacopsychiatry 41: 37-9, 2008

Many faces of drebrin: from building dendritic spines and stabilizing gap junctions to shaping neurite-like cell processes.

Majoul I, Shirao T, Sekino Y, Duden R

Histochem Cell Biol 127: 355-61, 2007

【神経系アクチン細胞骨格】 神経細胞樹状突起スパインのアクチン細胞骨格

花村健次, 白尾智明

日本薬理学雑誌 130: 352-357, 2007

HPA axis dysfunction in unmedicated major depressive disorder and its normalization by pharmacotherapy correlates with alteration of neural activity in prefrontal cortex and limbic/paralimbic regions.

Aihara M, Ida I, Yuuki N, Oshima A, Kumano H, Takahashi K, Fukuda M, Oriuchi N, Endo K, Matsuda H, Mikuni M

Psychiatry Res 155: 245-56, 2007

Phasic cholinergic signaling in the hippocampus: functional homology with the neocortex?

Gulledge a T, Kawaguchi Y

Hippocampus 17: 327-32, 2007

Mitochondrial dysfunction as the molecular basis of bipolar disorder: therapeutic implications.

Kato T

CNS Drugs 21: 1-11, 2007

Neocortical inhibitory terminals innervate dendritic spines targeted by thalamocortical afferents.

Kubota Y, Hatada S, Kondo S, Karube F, Kawaguchi Y

J Neurosci 27: 1139-50, 2007

Seven cases of late-life depression treated with cilostazol-augmented therapy.

Baba H, Kubota Y, Suzuki T, Arai H

J Clin Psychopharmacol 27: 727-8, 2007

Pick's disease with Pick bodies: an unusual autopsy case showing degeneration of the pontine nucleus, dentate nucleus, Clarke's column, and lower motor neuron.

Oda T, Tsuchiya K, Arai T, Togo T, Uchikado H, De Silva R, Lees A, Akiyama H, Haga C, Ikeda K, Kato M, Kato Y, Hara T, Onaya M, Hori K, Teramoto H, Tominaga I

Neuropathology 27: 81-9, 2007

Animal models of bipolar disorder.

Kato T, Kubota M, Kasahara T

Neurosci Biobehav Rev 31: 832-42, 2007

Brain metabolic changes associated with predisposition to onset of major depressive disorder and adjustment disorder in cancer patients--a preliminary PET study.

Kumano H, Ida I, Oshima A, Takahashi K, Yuuki N, Amanuma M, Oriuchi N, Endo K, Matsuda H, Mikuni M

J Psychiatr Res 41: 591-9, 2007

Increase in AMPA receptor-mediated miniature EPSC amplitude after chronic NMDA receptor blockade in cultured hippocampal neurons.

Kato K, Sekino Y, Takahashi H, Yasuda H, Shirao T

Neurosci Lett 418: 4-8, 2007

Drebrin a content correlates with spine head size in the adult mouse cerebral cortex.

Kobayashi C, Aoki C, Kojima N, Yamazaki H, Shirao T

J Comp Neurol 503: 618-26, 2007

Chemical and morphological alterations of spines within the hippocampus and entorhinal cortex precede the onset of Alzheimer's disease pathology in double knock-in mice.

Aoki C, Mahadomrongkul V, Fujisawa S, Habersat R, Shirao T

J Comp Neurol 505: 352-62, 2007

Role of actin cytoskeleton in dendritic spine morphogenesis.

Sekino Y, Kojima N, Shirao T

Neurochem Int 51: 92-104, 2007

Synaptic dysfunction and disruption of postsynaptic drebrin-actin complex: a study of neurological disorders accompanied by cognitive deficits.

Kojima N, Shirao T

Neurosci Res 58: 1-5, 2007

Time courses of brain activation and their implications for function: a multichannel near-infrared spectroscopy study during finger tapping.

Sato T, Ito M, Suto T, Kameyama M, Suda M, Yamagishi Y, Ohshima A, Uehara T, Fukuda M, Mikuni M

Neurosci Res 58: 297-304, 2007

【タンパク質間相互作用】 神経系 スパイン形成過程におけるタンパク質間相互作用

高橋秀人, 白尾智明

生体の科学 58: 472-473, 2007

【シナプス後部構造の形成・機構と制御】 スパイン形成とシナプス後部アクチンの特殊化 ドレブリンの関与

高橋秀人, 白尾智明

生体の科学 58: 103-107, 2007

統合領域としての生理学存在意義

白尾智明

日本生理学雑誌 69: 341-342, 2007

Heterogeneity of phasic cholinergic signaling in neocortical neurons.

Gulledge a T, Park S B, Kawaguchi Y, Stuart G J

J Neurophysiol 97: 2215-29, 2007

V. 研究成果の別刷

Original Article

Changes in density of calcium-binding-protein-immunoreactive GABAergic neurons in prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder

Tsutomu Sakai,¹ Akihiko Oshima,¹ Yusuke Nozaki,¹ Itsuro Ida,² Chie Haga,³ Haruhiko Akiyama,³ Yoichi Nakazato⁴ and Masahiko Mikuni¹

Departments of ¹Psychiatry and Human Behavior and ⁴Human Pathology, Gunma University Graduate School of Medicine, ²Takasaki National Hospital, Gunma, and ³Tokyo Institute of Psychiatry, Tokyo, Japan

There is evidence that GABAergic neurotransmission is altered in mental disorders such as schizophrenia (SCZ) and bipolar disorder (BPD). The calcium-binding proteins (CBPs) calbindin (CB), calretinin (CR), and parvalbumin (PV) are used as markers of specific subpopulations of cortical GABAergic interneurons. We examined the post-mortem prefrontal cortical region (Brodmann's area 9) of patients with SCZ and BPD, and of age-matched control subjects, excluding suicide cases. The laminar density of neurons immunoreactive (IR) for three CBPs, namely CB, CR, and PV, was quantified. The densities of CB-IR neurons in layer 2 and PV-IR neurons in layer 4 in the SCZ subjects decreased compared with those in the control subjects. When CBP-IR neurons were classified according to their size, a reduction in the density of medium CB-IR neurons in layer 2 in SCZ subjects and an increase in the density of large CR-IR neurons in layer 2 in BPD subjects were observed. These results suggest that alterations in specific GABAergic neurons are present in mental disorders, and that such alterations may reflect the vulnerability toward the disorders.

Key words: bipolar disorder, calbindin, calretinin, parvalbumin, schizophrenia.

INTRODUCTION

GABAergic neurons provide both inhibitory and disinhibitory modulation of cortical and hippocampal circuits and contribute to the generation of oscillatory rhythms, discriminative information processing and the gating of sensory information within the corticolimbic system. In previous studies, it was suggested that these functions are altered in schizophrenic (SCZ) subjects.¹⁻³ GABAergic function also contributes to the control of impulsive and aggressive behaviors, and drugs such as carbamazepine, valproate, and lithium carbonate, which have been reported to change the levels of GABA and glutamic acid decarboxylase (GAD) activity,⁴⁻⁷ have been used as mood stabilizers in the treatment of bipolar disorder (BPD) to reduce impulsive and aggressive behaviors. These drugs have also been used as adjunct therapy to antipsychotics in the treatment of SCZ.⁸⁻¹⁰ In these reports, it was suggested that GABAergic neurotransmission is altered in mental disorders such as SCZ and BPD.

In the prefrontal cortex (PFC) of SCZ subjects, a reduced number of neurons expressing the mRNA for the 67-kDa isoform of GAD,^{11,12} and a high density of GABA_A receptor subunits^{13,14} have been reported, whereas in the anterior cingulate cortex (ACC) of SCZ subjects, an increased number of GABA_A receptors,¹⁵ and increases in the size of GAD₆₅-immunoreactive (IR) terminals¹⁶ are indicated. The high-intensity immunoreactivity of GABA_A receptor subunits^{13,14} in PFC and a reduction in the density of GAD₆₅-IR terminals in PFC and ACC¹⁶ have been also described in BPD subjects. These findings suggest that there is a specific deficit in GABAergic inhibitory neurons in these disorders.

Correspondence: Tsutomu Sakai, MD, Department of Psychiatry and Human Behavior, Gunma University Graduate School of Medicine, 3-39-22 Showa-machi, Maebashi, Gunma 371-8511, Japan. Email: sakaitsu@med.gunma-u.ac.jp

Received 13 August 2007; revised 19 September 2007; accepted 1 October 2007.

Cortical GABAergic cells can be categorized by the colocalization of neuropeptides, including somatostatin, cholecystokinin, neuropeptide Y, and vasoactive intestinal polypeptide.¹⁷⁻¹⁹ Somatostatin, neuropeptide Y, vasoactive intestinal polypeptide and cholecystokinin concentrations are reduced in SCZ subjects,²⁰ and neuropeptide Y mRNA expression is reduced in BPD subjects.^{21,22}

GABAergic neurons can also be classified by the presence of the calcium-binding proteins (CBPs) parvalbumin (PV), calbindin (CB), and calretinin (CR).^{23,24} CB, PV and CR are present in non-pyramidal GABAergic neurons, which participate in various primate cortical circuits that may differ depending on the species, cortical area and layer in which they are located. CR is found in double-bouquet neurons, bipolar cells and Cajal-Retzius cells, CB is found in neurogliaform neurons and double-bouquet cells, and PV is found in chandelier and wide arbor (basket) neurons, and each calcium-binding protein is expressed in separate populations of prefrontal cortical neurons.^{25,26}

Previous studies in which these CBPs were used as markers of GABAergic neurons in the prefrontal cortex did not show consistent results: a trend towards increases in the densities of CR-IR and PV-IR neurons;²⁷ reductions in the densities of CB-IR neurons^{28,29} and PV-IR neurons in the PFC of SCZ subjects;²⁸⁻³¹ and no changes in the density of CR-IR^{29,31} or PV-IR³² neurons. Similarly, a decrease in the density of CB-IR neurons²⁸ and no change in CBP-IR neuron density³³ were also found in the PFC of BPD subjects. However, in most of these studies, SCZ and BPD subjects including suicide subjects were examined; control subjects were not suicidal. Moreover, the number of reports on CBP-IR neurons in the postmortem brain of BPD subjects is still small.

Therefore, the following questions arise. (i) If these studies excluded suicide subjects, would there be any alterations in density and distribution of CBP-IR neurons in subjects with these disorders? (ii) Are there consistent changes in the postmortem tissue of subjects with BPD?

(iii) If the CBP-IR neurons are classified according to size, are there alterations in the cellular distribution in the PFC in subjects with these disorders?

To address these points, we quantified the densities of interneurons immunoreactive for PV, CB, and CR in the prefrontal cortical region of subjects with SCZ and BPD, and of age-matched control subjects, excluding suicide subjects.

METHODS AND MATERIALS

Participants

Human brain specimens from Brodmann's area 9 (BA9) were obtained from the Tokyo Institute of Psychiatry and Matsuzawa Hospital (Tokyo, Japan). The samples were obtained from 19 subjects (5 control, 7 SCZ, and 5 BPD subjects). Diagnoses were made according to DSM-IV criteria. Detailed case summaries were provided with demographic and clinical information (see Table 1 for group summary details). Subjects with a past history of neurological diseases and those whose death was caused by suicide were excluded. This study was approved by the Ethical Committee of Tokyo Metropolitan Matsuzawa Hospital, and the specimens were provided with the consent of the patients before death or of the family.

Immunocytochemistry

Hemispheres were fixed in 10% formalin and cut in frontal sections of roughly 1 cm thickness. The slices were embedded in paraffin. From these embedded blocks, serial sections of 4 μ m thickness were prepared.

Three tissue sections per subject were used in each of the three investigations. Deparaffinized sections were incubated with either polyclonal anti-CB (1 : 100 Sigma, St Louis, MO, US), polyclonal anti-CR (1 : 1000 Sigma), or polyclonal anti-PV (1 : 800 Abcam, Cambridge, UK) antibodies overnight at 4°C. Sections were processed using the

Table 1 Group summaries of demographic and clinical information on the brains donated by the Tokyo Institute of Psychiatry and Matsuzawa Hospital

Variable	Group		
	Control	BPD	SCZ
Demographics			
Age at death in years (mean \pm SD)	56.8 \pm 5.81	54.6 \pm 9.86	47.4 \pm 7.63
Gender (male : female)	2 : 3	1 : 4	3 : 4
Clinical factors			
Cause of death	3a, 2b	4a, 1d	2a, 1c, 3d, 1e
Duration of disorder in years (mean \pm SD)	—	21.0 \pm 18.3	29.0 \pm 7.02
Past alcohol/drug abuse or dependence (no : yes)	4 : 1	5 : 0	6 : 1

The cause of death is categorized under the following headings: a, heart and respiratory failure; b, liver failure; c, renal failure; d, cancer; and e, thyroid crisis. BPD, bipolar disorder, SCZ, schizophrenia.