

201419072A

厚生労働科学研究費補助金
障害者対策総合研究事業
(障害者対策総合研究開発事業 (精神障害分野))

うつ病の病態を反映する血中バイオマーカーの
開発・実用化研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者
神 庭 重 信

平成27(2015)年3月

目 次

I. 総括研究報告

- うつ病の病態を反映する血中バイオマーカーの開発・実用化研究 1
神庭 重信（九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授）

II. 分担研究報告

1. 新規ツールによる気分障害バイオマーカー検索システムの構築 14
神庭 重信（九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授）
2. 末梢リンパ球の網羅的解析による気分障害のバイオマーカー開発 21
尾崎 紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科精神医学 親と子どもの心療学分野・教授）
3. オミックスと多次元生物学的指標によるバイオマーカー探索 25
服部 功太郎（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第三部・室長）
4. 双極性障害のバイオマーカー候補同定 29
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）
5. 児童・思春期のうつ病と認知行動療法を反映する血中バイオマーカーの研究 31
清水 栄司（千葉大学大学院医学研究院認知行動生理学・子どものこころの発達研究センター・教授）
6. マイクロ RNA を用いた気分障害の血中バイオマーカーへの応用 36
橋本 亮太（大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合）
（小児発達学研究科附属子どものこころの分子統御機構研究センター・准教授）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 43

IV. 研究成果の刊行物・別刷 47

厚生労働科学研究（障害者対策総合研究事業(障害者対策総合研究開発事業(精神障害分野))）

うつ病の病態を反映する血中バイオマーカーの開発・実用化研究

総括研究報告書

研究代表者 神庭 重信

(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授)

研究要旨 九大（神庭重信、加藤隆弘）では、気分障害橋渡し研究の国内拠点を築くべく、国内初の気分障害外来を九州大学病院内に立ち上げ、精度の高い気分障害の診断・重症度評価を多軸的に行い、血液サンプルはじめ各種バイオマーカーを測定してきた。一部の患者からは同意の下で皮膚サンプルを提供してもらい、誘導神経細胞（induced neuronal cells; iN 神経）を作製し、本神経の特性もバイオマーカー候補として測定してきた。第2年度は、ヒト血液由来の直接誘導ミクログリア（induced microglial cells; iMG 細胞）の作製に成功したため、近年話題になっている脳内免疫系の異常に関しても、末梢血由来細胞から解析できるシステムを開発した。並行して、阪大から提供していただいた気分障害患者の血清サンプルを用いて、ノンターゲットによる網羅的メタボローム解析を実施し、健常者、大うつ病患者及び双極性障害を判別しうる候補分子を幾つか見出した。最終年度は、メタボローム解析により、最終的に、わずか数種類の血中の代謝物で抑うつ状態の重症度を予測できるシステム開発に成功した。

名大の尾崎紀夫は、統合失調症患者、双極性障害、大うつ病性障害、健常者よりリンパ芽球様細胞株を樹立し、プロテオーム解析およびトランスクリプトーム解析を実施してバイオマーカー候補の探索を進めてきた。統合失調症 176 例、双極性障害 127 例、大うつ病性障害 41 例、健常者 97 例より LCL を樹立し、プロテオーム解析、トランスクリプトーム解析によるバイオマーカー候補の探索を実施してきた。統合失調症のプロテオーム解析の結果、統合失調症マーカー候補 22 種類を同定し、4 ないし 6 因子から成る統合失調症判別モデルを構築した。外部データ検証でモデルの予測性能が確認された。また、統合失調症と双極性障害を対象とした解析では 39 種類の分子を同定し、双極性障害候補分子 14 種類のうち HLA-A の発現変化が再確認された。トランスクリプトーム解析では、統合失調症、双極性障害の各疾患および両疾患で発現変化を示す 42 遺伝子を抽出し、統合失調症関連遺伝子として 13 遺伝子、双極性障害関連遺伝子として 5 遺伝子の発現増加が再確認された。

国立精神神経医療研究センターの服部功太郎は、うつ病、双極性障害、統合失調症、健常対照を含むヒトの脳脊髄液を用い、プロテオーム解析を実施してきた。第2年度までに、うつ病

の一部で脳脊髄液中 Fibrinogen が顕著に増加していることを見出していたが、最終年度の研究により、独立した別のサンプルセットでも再現が得られた。Fibrinogen 上昇症例では対照群と比べ脳の MRI で白質異常が認められた。プロテオーム解析では他にも有望なマーカー候補が合計 140 得られ特許を出願した。

理化学研究所の加藤忠史は、双極性障害患者由来血漿を用いて、動物モデルで見いだされたバイオマーカー候補物質の所見が見いだされるかを特に炎症性サイトカインに着目して探索した。

阪大の橋本亮太は、うつ病、双極性障害、健常者、統合失調症、広汎性発達障害の血液サンプルを数多く収集することに成功した。さらに、血漿中の miRNA の測定法を検討してきた。来年度以降、血漿中の miRNA の測定法を開発し、実際の気分障害患者サンプルでの測定を行ってきた。免疫系のバイオマーカーである Soluble TNF α receptor II についての解析も並行して実施してきた。

千葉大の清水栄司は、児童・思春期の薬物未治療うつ病患児 (n=23)、薬物治療中のうつ病患児 (n=14)、健常児 (n=25) を対象に血清 mature-BDNF、proBDNF、MMP-9、オキシトシン濃度を測定し、薬物治療中うつ病患児は他の 2 群に比して血清 mature-BDNF、MMP-9 濃度が有意に高値 ($p < 0.05$) であった。②神経性無食欲症群 (AN, n=19)、神経性大食症 (BN, n=28)、健常 (HC, n=23) 群において、AN 群は HC 群に比較して proBDNF および MMP-9 が有意に低下していた ($p < 0.05$; $p < 0.001$) ③成人うつ病患者 (n=17) において、16 セッションから成る個人認知行動療法前後における BDNF 濃度の有意な変化を認めず、症状評価尺度との関連もなかった。

以上のように、各施設は、連携しながら、当初の計画に沿って、3 年度研究を進めてきた。本研究により、幾つかの気分障害のバイオマーカー候補、中でも血液から測定可能な物質を同定することに成功した意義は大きい。将来的には、さらなる大規模な研究により、今回同定した結果の信頼性・妥当性を検証し、加えて産学連携をすすめることで、画期的な気分障害バイオマーカー評価システムが整備されることで、国民の精神健康に寄与することが大いに期待される。

研究分担者：

神庭 重信（九州大学大学院医学研究院精神
病態医学分野・教授）

尾崎 紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科
精神医学 親と子どもの心療学
分野・教授）

服部 功太郎（国立精神・神経医療研究セン
ター神経研究所疾病研究第三
部・室長）

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）

清水 栄司（千葉大学大学院医学研究院認知
行動生理学・子どものこころの発
達研究センター・教授）

橋本 亮太（大阪大学大学院大阪大学・金沢
大学・浜松医科大学・千葉大学・
福井大学連合小児発達学研究所
附属子どものこころの分子統御
機構研究センター・准教授）

A. 研究目的

近年のうつ病の急増は、地域社会・産業界・教育現場を問わず、深刻な社会問題と化している。しかし、客観的な補助診断法が確立していないため、精神科臨床、精神科以外の診療あるいは健診でも有用なバイオマーカーの開発が急務となっている。患者の脳内動態を間接的に探る手法として機能的MRIなどを用いることができるが、精神疾患以外のバイオマーカーの成功例の多くは末梢サンプルである。より簡便に施行できる血液検査等を開発

することにより、精神保健の向上に役立てることができる。しかしながら、実用化段階のうつ病のバイオマーカーがないため、適切な診断に基づく治療が遅れ、自殺、長期休務・休学に至る、あるいは難治化している症例が少なくない。バイオマーカーの開発が厚生労働行政上急務である。

すでに我々は、気分障害患者の末梢血由来のDNA、RNA、リンパ芽球様細胞株及び髄液サンプルを多数集積しており（500検体以上）、予備的なオミックス解析（トランスクリプトーム・プロテオーム・メタボローム）により、気分障害のバイオマーカー候補物質を幾つか見出している。これらが、不眠、食欲低下等の症状による二次的変化ではなく、患者の脳内動態を反映していることを解明することにより、実用化・普及につなげることが可能となる。

一方、遺伝子改変技術の進歩に伴い、ヒト体細胞（皮膚線維芽細胞など）由来の体細胞から直接的に短期間で神経（iN神経）およびミクログリア（iMG）を作成する技術が開発された。本技術は、これまで不可能であった患者由来の神経を短期間で直接的に解析可能とし、脳内動態を探る新たなツールとして、すでにアルツハイマー病患者由来のiN神経で、その有用性が示唆されている。この技術は、末梢マーカーの中で、患者の脳内動態を反映しているマーカーを同定する上で有用である。

初年度～第2年度は、気分障害の診断とその重症度評価のためのバイオマーカーを確認するために、末梢由来のサンプルをオミックス

解析することに加え、一部の被験者においては皮膚組織からiN神経を、単球からiMGを作成し、iN神経の機能解析（電気生理学的検索など）・オミックス解析を行う。本研究の独創的な点は、末梢のマーカー候補とiNおよびiMGから得られる神経細胞マーカーとを相互につきあわせることで、これまでの網羅的なマーカー検索で同定してきたマーカー候補の有用性を確認できることである。

最終度は、バイオマーカーとモデル動物での知見を融合し、臨床データ（構造化診断・重症度評価・自殺リスク評価など）、脳画像データ（MRIなど）、脳生理学的データ（脳波・脳磁図など）との相関を解析し、最終的には、患者と健常者、あるいは患者間を高感度かつ高精度に区別する特異的なバイオマーカーを同定し、気分障害の診断と治療に有用で、広く日常診療に応用可能な血液サンプルを用いたキットを開発する。

B. 研究方法

以下のすべての施設における研究は、それぞれの倫理委員会の承認を得て行われた。

【神庭重信、加藤隆弘】

24年度には、気分障害のトランスレーショナル研究における国内拠点創出のため、国内初となる気分障害外来を九州大学病院に立ち上げた。本外来では、双極性障害、大うつ病、その他の気分障害をもつ患者及び健常者を対象にして、臨床データの精度向上のため、Structured Clinical Interview for DSM-IV

Axis I Disorders (SCID-I)を含む精神医学的診断面接、各種心理検査を行い、各種生体試料（DNA/RNA/リンパ芽球樹立のための血液、線維芽細胞樹立のための皮膚生検による皮膚組織）の採取、MRIなどの脳画像検査等を実施し、多軸的な見地から病態を評価し、気分障害のバイオマーカー検出に繋がることを目指している。

第2年度は、iN神経に加えて、我々独自でヒト血液由来の直接誘導ミクログリア細胞（induced microglial cells; iMG細胞）作製システムを開発した（特願済）、最終年度はiMG細胞を用いた研究にも着手してきた。近年気分障害の病態生理においてミクログリアを中心とした脳内免疫系異常が示唆されており、開発したiMG細胞を気分障害患者の血液から作製・解析することで、それぞれの患者の脳内免疫系異常に関しても、末梢血採取により解析できるようになった。

他方、我々は、九州大学先端融合医療レドックスナビ研究拠点と連携し、血液の網羅的メタボローム解析システムを構築している。第2年度には阪大から提供していただいた気分障害患者の血清サンプルを用いて、ノンターゲットによる網羅的メタボローム解析を実施し、健常者、大うつ病患者及び双極性障害を判別しうる候補分子を幾つか見出した。

最終年度は、さらにサンプルを集めて実施したメタボローム解析により、最終的に、わずか数種類の血中の代謝物で抑うつ状態の重症度を予測できるシステム開発に成功した。

（倫理面への配慮）

本研究は九州大学病院生命倫理審査委員会

の承認内容に従い実施した。

【尾崎紀夫】

対象:

統合失調症患者 176 例、双極性障害患者 127 例、大うつ病性障害患者 41 例、健常者 97 例を対象として末梢血液由来 LCL を樹立した。

方法:

1. リンパ芽球様細胞株の調製

研究同意を得られた対象者より採取した末梢血液からリンパ球を分離・精製後に Epstein-Barr virus により不死化して LCL を調製した。

2. プロテオーム解析

LCL よりタンパク質を抽出・精製後、タンパク質の網羅的発現比較解析を行った。発現量、発現量変化率、泳動像の目視確認にてタンパク質同定対象スポットを絞り込み、質量分析とデータベース照合により候補タンパク質を同定した。同定されたタンパク質については、Western blotting 法により発現変化の再現性確認をして、バイオマーカー候補を絞り込んだ。疾患群と健常者群を高精度で判別可能な統計モデル（ロジスティックモデルなど）の構築を試みた。

3. トランスクリプトーム解析

LCL より total RNA を抽出・精製し、2100 バイオアナライザにより RIN (RNA Integrity Number : 濃度や機器、分析対象物に左右されない客観的な評価手法)、リボソーム RNA 比率、濃度を測定して total RNA の品質を定量的に評価した。遺伝子の網羅的発現解析には GeneChip® Human Exon 1.0 ST Array (以下、

Exon Array) により遺伝子レベルに加えエクソンレベルの発現量を比較した。発現量の比較解析には Partek® Genomics Suite にて実施した。疾患特異的な発現変化やスプライシングバリエントが認められた遺伝子については、real-time PCR 法により発現変化の再現性確認をして、バイオマーカー候補の絞り込みを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学大学院医学系研究科及び医学部附属病院生命倫理審査委員会の承認内容に従い実施した。

【服部功太郎】

血漿トリプトファンの解析

うつ病66例、健常82例より得られた血漿を用い、質量分析計にてトリプトファン値の測定を行った。また、2013年8月までに報告された24の先行研究（合計：うつ病744例、健常793例）でメタ・アナリシスによりトリプトファン値の比較を行った。

CSFの解析

第2年度に実施したプロテオーム解析の結果を用い、更に詳細な解析を行った。また、Fibrinogenについては独立したサンプル（うつ病36例、健常対照30例）を用いELISAにより測定を行った。また、うつ病26例、健常対照27例の血液についても測定を行った。さらに、CSF中Fibrinogenが上昇していたうつ病9例、上昇がみられなかったうつ病20例および健常対照24例について拡散テンソルイメージング(DTI)を用いた脳白質繊維の解析を行った。

(倫理面への配慮)

●対象者と説明同意

参加希望者には十分な説明を行い文書で同意を得た。医療保護入院患者や未成年患者、同意能力に問題がある患者に検査を行う場合は、本人だけでなく保護者にも説明し書面で同意を得た。同意はいつでも文書によって撤回できるようにした。

●個人情報保護

試料・臨床情報については当センター、バイオリソース管理室において、専用のデータベースにて連結可能匿名化を行い、以後、試料や臨床情報（病名・年齢・性別・投薬歴など）を記号のみで扱った。対応表や個人が特定できるような情報は暗号化装置（ハードウェアVPN）で守られた専用サーバ管理室内の鍵付ロッカーに保存し、各端末には保有しなかった。

●腰椎穿刺時の苦痛低減と安全性の確保

穿刺前に眼底検査等の神経内科的診察にてリスク要因（脳圧亢進、髄膜兆候など）を除外した。脊髄を損傷することがないようにL3/4ないしL4/5にて熟練した医師が局所麻酔下に腰椎穿刺を行った。穿刺針には22Gの無外傷性針を用い頭痛のリスクを軽減した。

●副作用への対応と補償

外来の参加者には医師の連絡先を知らせ、24時間対応できる体制とした。副作用発生時には必要に応じ当センターにて医療補償（治療）を行った。

【加藤忠史】

開発した反復性うつ状態様行動量低下を呈する変異 Polg トランスジェニックマウスを用いて、うつ状態にあるマウス、寛解期にあ

るマウス、および野生型マウス、各々3匹合計9匹を用いて、sacrifice後に腹部大動脈より採血を行い、ELISAにて、TNF- α 、BDNF、soluble IL-6 receptor、IL-6の測定を行った。

【橋本亮太】

気分障害のバイオマーカーを開発するためには、まず健常者との比較、次に、統合失調症や広汎性発達障害などの他の精神障害との鑑別、最後にうつ病と双極性障害との鑑別を行う必要がある。そこで、大阪大学医学部附属病院にて、うつ病と双極性障害の血液サンプルに加え、その対象として健常者、統合失調症、広汎性発達障害の血液サンプルを収集した。血液サンプルは、DNA、RNA、血漿、不死化リンパ芽球として、保存・蓄積した。中でも、うつ病、双極性障害、健常者、統合失調症に関して、年齢、性別が一致した40例のサンプルセットを作成した。男性14例、女性26例のうつ病（54.9 \pm 13.3歳）、双極性障害（55.7 \pm 13.1歳）、健常者（54.7 \pm 5.7歳）、統合失調症（54.7 \pm 12.9歳）である。

抑うつ症状があった自殺者において、いくつかのmiRNAの発現異常が認められその下流のタンパク発現の制御異常が報告されているため、(miR-148b, miR-20b, miR-20a, miR34a) これらを候補として、血漿中のmiRNAを定量する。

最後に、また、うつ病のマーカーとして独立した二つのコホートで血漿中濃度の違いが報告されている Alpha 1 antitrypsin、Myeloperoxidase、Soluble TNF α receptor II、Epidermal growth factor を候補として追加

する。

(倫理面への配慮)

本研究は、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究である。試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行った。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理(匿名化)などを徹底させた。また、遺伝子解析研究においては、大阪大学倫理審査委員会において承認を受けている。

本研究の説明を行う過程や試料等提供の過程で、強制的な態度や同意の強要をしないことはいままでもない。試料提供の依頼を拒否したからといって、診療行為等に不合理または不公平なことが行われることは全くない。また、同意はいつでも文書によって撤回することができ、その場合、試料等は廃棄される。治療中の患者様に関しては、試料提供を依頼することが主治医によって不適切であると判断された場合は、試料提供の依頼は行わない。

【清水栄司】

年齢と性別をマッチさせた児童・思春期の薬物未治療うつ病患児、薬物治療中のうつ病患児、健常児を対象にリクルートを行い、血清 mature-BDNF、pro-BDNF、MMP-9、オキシトシン濃度を測定した。児童・思春期のうつ病は、ICD-10 の診断基準をもとに評価され、バー

ンソン児童用抑うつ評価尺度(DSRS-C)、Children's Depression Rating Scale-Revised(CDRS-R)の評価尺度を用いて重症度を評価した。また病歴評価のために治療抵抗性うつ病の有無の影響を検討した。②摂食障害については、神経性無食欲症(Anorexia nervosa; AN)患者、神経性大食症(bulimia nervosa; BN)患者、および年齢をマッチさせた健常女性を対象にリクルートを行い、血清BDNF、proBDNF、MMP-9を、ELISA kitを用いて測定した。症状評価尺度として、Eating Disorder Examination Questionnaire(EDEQ)(Fairburn et al., 1994)、Eating Disorder Inventory-2(EDI-2)(Garner et al., 1991)、Maudsley Obsessive-Compulsive Inventory(MOCI)(Hodgson et al., 1977)、Hospital Anxiety and Depression Scale(HADS)(Zigmond et al., 1983)を実施した。③成人うつ病患者をアメリカ精神医学会第4版(DSM-IV-TR)に基づいて、精神疾患簡易構造化面接法(Mini-International Neuropsychiatric Interview:MINI)を利用した構造化面接で診断した後、同意を得られた被験者に2週間の待機期間を経た後、1回50分、週1回の頻度で、厚生労働省から推奨されているパンフレットに基づく計16回の認知行動療法を提供する。試験期間中は、基本的に薬物の種類・用法・用量の変更を認めない。治療前後に、血液検査およびうつ症状評価尺度などの心理検査などを行う。認知行動療法の質については、認知療法尺度—改定版を用いて評価し、定期的なスーパービジョン・システムにより行うことで担保する。う

つ症状の評価は、BDI-II: Beck Depression Inventory、PHQ-9: Patient Health Questionnaire を用いた。

(倫理面への配慮) 全ての研究は千葉大学倫理委員会で承認され、被検者(児童思春期患者では保護者も含む)には書面でのインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

(1) 九大グループは、現在まで関連医療機関を含め約 150 名の気分障害患者からの生体試料を採取している。気分障害外来においては、気分障害患者の多軸的な臨床評価および生体試料の採取を行っている。

現在、数名の健常者および精神疾患患者由来の皮膚細胞から iN 神経細胞を樹立し、その神経の特性を電気生理学実験・免疫染色等を駆使して検索している。iMG ミクログリア細胞に関しては、双極性障害患者において特性を評価している段階にある。

阪大(研究分担者:橋本亮太准教授)から提供していただいた気分障害患者のサンプルを用いた網羅的メタボローム解析により、幾つかの有用な判別分子を見出しており、わずか 3, 4 種類の分子で疾患を判別できるアルゴリズム作製に成功している。

(2) 名大グループでは、これまでに統合失調症患者、健常者各 29 例を対象としたプロテオーム解析で 22 種類の統合失調症マーカー候補を同定し[特願 2010-147017 (2010. 6. 29)、登録 2014-11-07]、Western blotting 法によ

り 8 種類のタンパク質 (MX1、GART、UROD、GLRX3、MAPRE1、TBCB、HSPA4L、IGHM) について有意な発現変化を再確認した。多変量ロジスティック回帰分析により 4 ないし 6 種類のタンパク質で統合失調症を予測する統計モデルを作成し、その診断精度 (1-誤判別率) は夫々 77% (AUC 0.86)、82% (AUC 0.88) であった。独立サンプル群を対象に 8 分子の発現変化の再確認を実施し、3 分子 (MX1、GART、HSPA4L) について再現性が確認された。統計モデルの予測性能について、4 変数モデル、6 変数モデルの診断精度は夫々 67% (AUC 0.72)、62% (AUC 0.66) であり、判別モデルの疾患予測性能が確認された。なかでも 2 分子 (MX1、GART) が有力な因子であることが確認された [PCT/JP2013/76918 (2013. 10. 03)]、各国移行 (日米欧中) 手続き中]。また、統合失調症マーカー候補 22 種類について、全自動免疫アッセイ装置 (アーキテクト: アボットジャパン株式会社) を用いた血漿中濃度測定法の検討に入り、15 種が臨床検体の評価に利用できる段階となった。その内 11 種類について血漿サンプル (統合失調症 30 名、健常者 30 名) の測定を終えた

統合失調症患者、双極性障害患者、健常者各 20 例を対象としたプロテオーム解析の結果においては、発現量に差異の認められた全 81 スポットから 44 スポットを選別し、質量分析により 39 種類のタンパク質を同定した。そのうち、双極性障害のマーカー候補 14 種類について Western blotting 法による発現変化の再検証を行い、HLA-A の有意な発現変化 (双極性障害で増加) が再確認された。

トランスクリプトーム解析については、統合失調症患者、双極性障害患者、健常者各20例のLCL由来total RNAの品質確認を行い、Exon Arrayにより遺伝子発現プロファイルを取得後、統計値 (significance analysis of microarrays, logistic regression analysis) より候補遺伝子群を選別した。統合失調症、双極性障害、健常者の各群間比較における発現量増加遺伝子と減少遺伝子の上下位10遺伝子と両疾患で発現変化を示す遺伝子 (計42遺伝子) を候補としてreal-time PCR法による発現変化の再確認を行った。その結果、統合失調症関連遺伝子として13遺伝子 (MARCH1、RASSF6、ZBTB80S、HIST1H2BB、CXCL10、ANKRD36B、MTPAP、HP1BP3、PPM1K、PAPOLA、ATP13A3、IFNAR1、MARCH7) の発現増加、双極性障害関連遺伝子として5遺伝子 (MRPS21、C5orf51、GTF2H3、TXNDC12、PAPOLA) の発現増加が再確認された。

(3) 国立精神神経医療研究センターでは、血漿トリプトファンの解析
自験例では患者群でトリプトファン値が有意に低下していた。さらに24の先行研究のメタアナリシスの結果でも、健常群と比較して患者群で有意な低下を示し ($P=0.00006$)、特に非服薬患者群 ($n=156$) において差が大きかった (Hedges' $s g: -0.84$, $P=0.00015$)。

CSF の解析

CSF 中の1129分子のタンパク質解析を行ったところ、うつ病で顕著に亢進ないし低下している分子、うつ病の一部症例で異常値 (健常対照者の5~95パーセンタイルを正常とし

て) を示す分子、重症度 (HAMD) と相関する分子など、うつ病と統合失調症を分類する分子など、うつ病を含む主要精神疾患のバイオマーカーとして利用できる可能性のある候補分子を140個選択した。前年度の解析でFibrinogenは、うつ病の一部症例 (約20%) で異常高値を示していたが、独立したサンプル (うつ病36、対照30) でも、うつ病の22%で異常高値が確認された。また、DTIの結果Fibrinogen異常高値症例ではFibrinogen正常値症例や健常対照例に比べ側頭葉を中心に白質の障害が認められた。

(4) 理研では、反復性うつ状態様行動量低下を呈する変異Polgトランスジェニックマウスを用いて、うつ状態にあるマウス、寛解期にあるマウス、および野生型マウス、各々3匹合計9匹を用いて、sacrifice後に腹部大動脈より採血を行い、ELISAにて、TNF- α 、BDNF、soluble IL-6 receptor、IL-6の測定を行った。TNF- α は測定限界以下であった。BDNFについては、うつ状態でやや高い傾向が見られた。

その他は測定可能ではあったが、個体間のばらつきを超えるような、状態に伴う顕著な変化は見られなかった。今後は同一マウスの異なる状態で比較する必要がある、そのためには、尾静脈からの採血を行う必要があると考えられた。

(5) 阪大グループでは、本研究の基盤となる被験者のリクルートとサンプル収集を行った。その結果、現在保有しているサンプル数

は、うつ病 95 例、双極性障害 47 名、健常者 665 名、統合失調症 565 例、広汎性発達障害 77 例となった。

Micro RNA については、miR148b、miR20a、miR34a について、うつ病と健常者で発現量を比較検討したが、違いが認められなかった。そこで、第 2 年度に得られた、免疫系のバイオマーカーの検討を中心に行った。

第 2 年度は、うつ病のマーカーとして独立した二つのコホートで血漿中濃度の違いが報告されている Epidermal growth factor (EGF)、Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、Soluble TNF α receptor II、Myeloperoxidase (MPO)、Alpha 1 antitrypsin の血漿中の濃度を HC40 例、MDD40 例、BPI40 例、SCZ40 例のサンプルセットで測定し、マーカーとしての有用性を検証し、EGF、BDNF、Soluble TNF α receptor II、MPO について、気分障害にて、健常者や統合失調症との違いが認められた。

Soluble TNF α receptor II (sTNF α RII) の、統合失調症の血漿中での増加については、Noto らの報告が 1 報あるのみで十分検証されていない。最終年度は大阪大学で内服加療中の 40 例に加え、内服無しの患者 40 例、クロザピン加療中の 22 例、千葉・徳島大学の 40 例ずつを加えた計 182 例のサンプルを用いて sTNF α RII の有意な増加を確認した。また以前我々がクロザピン加療中の 22 例において血漿中での増加を報告している Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) についても (Neurosci Lett 2013)、同じ大規模サンプルで有意な増加を確認した。

また、本サンプルは、九州大学とのメタボ

ロミクス解析においても、測定を行い、幾つかの気分障害の候補代謝物を見出すことに成功した。

(6) 千葉大グループでは、児童思春期の気分障害患者に頂点付けた介入を含む研究を推進してきた。

児童・思春期の薬物未治療うつ病患者(n=23)、薬物治療中のうつ病患者(n=14)、健常児(n=25)を対象に血清 mature-BDNF、proBDNF、MMP-9、オキシトシン濃度を測定し、薬物治療中うつ病患者は他の 2 群に比して血清 mature-BDNF、MMP-9 濃度が有意に高値(p<0.05)であった。さらに、児童・思春期の治療抵抗性うつ病患者(n=10)は、治療反応性の良いうつ病患者(n=27)、健常児(n=25)と比較して血清 MMP-9、オキシトシン濃度が有意に高値(p<0.05)であった。他方で、神経性無食欲症群(AN, n=19)、神経性大食症(BN, n=28)、健常(HC, n=23)群において、AN 群は HC 群に比較して proBDNF (図 1) および MMP-9 (図 2) が有意に低下していた(p<0.05; p<0.001)。成人うつ病患者 17 名(うち、女性 8 名、平均年齢 37.2±10 歳、平均発症年齢 28.3±11 歳)において、16 セッションから成る個人認知行動療法 (Cognitive Behavior Therapy: CBT)前後において、BDI-II および PHQ-9 は、有意な改善を認めたが、BDNF 濃度については、有意な変化を認めなかった。また、うつ症状評価尺度との相関もみられなかった。

D. 考察

研究班は、多数のサンプルの収集に成功し、

気分障害のバイオバンクの構築に貢献したと思われる。また、班毎の進捗には、違いが見られているが、すでに下記のような貴重な結果が得られている施設もある。来年度は、九大気分障害外来を軸にして、症例数を増やし、臨床データの取得、生体試料の採取を行い、グループ間のデータをつきあわせながら、最も適切な気分障害のバイオマーカー検索を進めてゆく。

名大・尾崎らの研究からは、統合失調症、健常者のプロテオーム解析において、有力な統計モデルの構築、末梢バイオマーカーとしての有用性検証に着手している。サンプルサイズが少なく、規模の拡大と外部データ検証の再検を重ね、判別モデルの信頼性・再現性の確認を行う必要があると考えられる。また、他の疾患におけるマーカーの挙動を確認し、疾患特異性を検証することも重要である。一方、統合失調症、双極性障害、健常者のプロテオームの解析から、バイオマーカー候補タンパク質が同定された。双極性障害のマーカー候補の再現性確認の結果、HLA-Aのみ発現増加が確認された。今後、多変量解析、疾患特異性や再現性の検証が必要とされる。トランスクリプトーム解析においては、統合失調症関連遺伝子、双極性関連遺伝子の発現変化が再確認され、今後疾患の判別に関する有用性を検証する必要がある。

本研究より得られたマーカーを組み合わせることにより、確度が高く客観的な指標に基づく診断の実現に近づく可能性がある。一方、同定された候補分子・候補遺伝子について、病因・病態への関連性を検証し、分子生物学

的意義を解明ことも重要と考えられる。

NCNP・服部らの研究からは、うつ病患者では血漿中トリプトファン値が低下していると結論され、バイオマーカーとして有用であることが示唆された。

また、血漿 Fibrinogen 値については、心血管障害等のうつ状態と相関するという報告や、ストレスにより上昇するという報告が複数みられるが、CSF 中の測定は見当たらない。今回の結果は、Fibrinogen 高値が、うつ病の一部症例において中枢神経系にも生じていること示唆していた。動物実験では Fibrinogen の脳内への注入が軸索の損傷を引き起こすという報告もあり、本研究の Fibrinogen 高値例の DTI の結果からも白質繊維の障害が認められた。このように CSF の Fibrinogen 測定が、うつ病の亜型を反映している可能性と共に、CSF 中の Fibrinogen 自体が脳の機能異常に関与する可能性もあると考えられた。CSF のプロテオーム解析では他にも有望なマーカー候補が多数得られ、今後順次解析していくことが課題である。

理研・加藤らの研究では、反復性うつ状態様行動量低下を呈する変異 Polg トランスジェニックマウスを用いて、バイオマーカー検索を行い、これまで、うつ状態のマーカーとして報告されたマーカー候補分子について、動物実験で検討を行ったが、臨床で得られた所見を確認することはできなかった。双極性障害の血漿バイオマーカー変動のメカニズム

について、現状では動物モデルを用いたメカニズム解明は困難と考えられた。

阪大・橋本らの研究では、多数のサンプルの収集に成功し、気分障害のバイオバンクの構築に貢献したと思われる。さらに、これらのサンプルを用いて、Epidermal growth factor (EGF)、Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、Soluble TNF α receptor II、Myeloperoxidase (MPO)、Alpha 1 antitrypsin を測定した。これらは、先行研究では、うつ病に関して、BDNF 以外についてはすべて違いが出ていたが、再現されたのは一部であった。そして、統合失調症の大規模サンプルにおいて、Soluble TNF α receptor II の再現性を確認することができた。九大との共同研究により、メタボローム解析により、幾つか気分障害判別のための候補代謝物を同定することに成功した。

清水らの研究では、児童思春期のうつ病エピソード患者をさらに幅広く研究の協力を募り、症例の蓄積を進てきた。

血清の mature-BDNF、MMP-9、オキシトシンは、児童・思春期うつ病の薬物治療および治療反応性との関連が示唆された。血清 proBDNF、MMP-9 は、神経性無食欲症において、有意に低下しており、病態生理との関連が示唆された。今回の結果から、うつ病の個人認知行動療法の効果と血清 BDNF の変化が関係しないことが示唆された。

E. 結論

これまで困難であった気分障害のバイオマーカー開発に向けて、我々は、トランスレーショナル研究拠点を気分障害外来として九州大学病院に設立し、今回の医療研究期間と連携体制を樹立することで、精度の高い臨床データの取得、血液サンプルの取得、および、脳内病態を反映させることが期待される iN 神経と iMG ミクログリア細胞の解析を3年間におよび実施してきた。結果として、CSF ばかりではなく、血液による各種解析により、気分障害の判別における候補物質を見出すことに成功した。さらに、九州大学を中心にして実施したメタボローム解析においては、最終的に、抑うつの重症度を予測可能なアルゴリズム開発に成功した。

将来的には、さらなる大規模な研究により、今回同定した結果の信頼性・妥当性を検証し、加えて産学連携をすすめることで、画期的な気分障害バイオマーカー評価システムが整備される必要がある。本研究をモデルとした気分障害研究のさらなる推進により、新たな気分障害のバイオマーカー開発・実用化が可能となり、気分障害の早期発見・早期介入が可能となり、最終的には、こうした成果により国民の医療・精神医療の発展が大きく期待される。

F. 健康危険情報

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

・加藤隆弘, 扇谷昌宏, 神庭重信: Method of producing microglial cells. 国際 PTC 特許

出願日 2015. 1. 9.

・尾崎紀夫，永井拓，吉見陽，山田真之亮「統合失調症マーカー及びその利用、名古屋大学」
特願 2010-147017 (2010. 6. 29)、登録
2014-11-07

・尾崎紀夫，永井拓，平川晃弘，國本正子，
吉見陽，松本友里恵，山田真之亮「統合失調症マーカーセット及びその利用、名古屋大学」
PCT/JP2013/76918 (2013. 10. 03) 、各国移行
(日米欧中) 手続き中

・服部功太郎、功刀浩、後藤雄一、高坂新一、
「精神疾患判定マーカー」、特願 2014-102090

・服部功太郎、功刀浩、後藤雄一、高坂新一、
「miRNA を用いた精神疾患マーカー」、特願
2015-8710

厚生労働科学研究(障害者対策総合研究事業(障害者対策総合研究開発事業(精神障害分野)))

うつ病の病態を反映する血中バイオマーカーの開発・実用化研究

分担研究報告書

新規ツールによる気分障害バイオマーカー検索システムの構築

研究代表者 神庭 重信

(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・教授)

研究協力者 加藤 隆弘

(九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野・九州大学先端融合医療レドックスナビ研

究拠点・特任准教授)

研究要旨 近年、大うつ病をはじめとする気分障害の増加とその病態の多様化は、医療現場のみならず、地域社会、職域、教育現場に深刻な影響を及ぼしている。精神疾患を持つ者が最初から精神科を受診することは稀で、多くは精神科以外の医療機関や産業医を經由し、精神科受診は遅れがちであり、予後に影響を与えている。しかるに、本研究では、健診でも有用な血液バイオマーカーの開発を目指す。

初年度、我々は、気分障害橋渡し研究の国内拠点を築くべく、国内初の気分障害外来を九州大学病院内に立ち上げ、精度の高い気分障害の診断・重症度評価を多軸的に行い、血液サンプルはじめ各種バイオマーカーを測定してきた。第2年度は、ヒト血液由来の直接誘導ミクログリア (induced microglial cells; iMG 細胞) の作製に成功し、近年話題になっている脳内免疫系の異常に関しても、末梢血由来細胞から解析できるシステムを開発した。並行して、阪大から提供していただいた気分障害患者の血清サンプルを用いて、ノンターゲットによる網羅的メタボローム解析を実施し、健常者、大うつ病患者及び双極性障害を判別しうる候補分子を幾つか見出した。最終年度は、多施設でのサンプル・データを増やし、メタボローム解析によるデータと各種臨床データとの相関解析を行い、血液で測定可能な気分障害バイオマーカー開発を目指してきた。最終的に、数種類の代謝物により抑うつ状態の重症度を予測できるシステム開発に成功した。

A. 研究目的

近年、大うつ病をはじめとする気分障害の増加とその病態の多様化は、医療現場のみならず、地域社会、職域、教育現場に深刻な影響を及ぼしている。精神疾患を持つ者が最初から精神科

を受診することは稀で、多くは精神科以外の医療機関や産業医を經由し、精神科受診は遅れがちであり、予後に影響を与えている。しかるに、本研究では、健診でも有用なバイオマーカーの開発を目指す。患者の脳内動態を間接的に探る

手法として機能的 MRI などを用いることができるが、精神疾患以外のバイオマーカーの成功例の多くは末梢サンプルである。より簡便に行うことができる血液検査等を開発することにより、精神保健の向上に役立てることができる。

これまでバイオマーカー開発は末梢サンプルを対象として網羅的に行われてきたが、気分障害の病態を反映することが確実なものは同定されていない。近年、人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell; iPS) を介した神経の樹立が、精神疾患バイオマーカー開発の新たなツールと注目されている。さらに最近、iPS 細胞を介さずに、体細胞 (主に皮膚線維芽細胞由来) から直接的に神経 (induced neuronal cells; iN 神経) を作成する技術が開発された。本技術は、これまで不可能であった患者由来の神経を短期間で直接的に解析可能とし、脳内動態を探る新たなツールとして、すでにアルツハイマー病患者由来の iN 神経で、その有用性が示唆されている。本研究では、こうした技術を取り入れ、より中枢機能や病態に近い系からバイオマーカー候補を絞り込み、そのバイオマーカーに特化した測定方法を開発することにより、今まで成功しなかったバイオマーカー同定を目指す。

B. 研究方法

本研究は、九州大学病院倫理審査委員会による承認下で実施している (対象の被験者全員に同意説明を行い、文書にて同意を得ている)。

24 年度には、気分障害のトランスレーショナル研究における国内拠点創出のため、国内初となる気分障害外来を九州大学病院に立ち上げた。本外来では、双極性障害、大うつ病、

その他の気分障害をもつ患者及び健常者を対象にして、臨床データの精度向上のため、Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders (SCID-I)を含む精神医学的診断面接、各種心理検査を行い、各種生体試料 (DNA/RNA/リンパ芽球樹立のための血液、線維芽細胞樹立のための皮膚生検による皮膚組織) の採取、MRI などの脳画像検査等を実施し、多軸的な見地から病態を評価し、気分障害のバイオマーカー検出に繋がることを目指している。

第 2 年度は、iN 神経に加えて、我々独自でヒト血液由来の直接誘導ミクログリア細胞 (induced microglial cells; iMG 細胞) 作製システムを開発した (特願済)。近年気分障害の病態生理においてミクログリアを中心とした脳内免疫系異常が示唆されており、開発した iMG 細胞を気分障害患者の血液から作製・解析することで、それぞれの患者の脳内免疫系異常に関しても、末梢血採取により解析できるようになった。

他方、我々は、九州大学病院内において血液のメタボローム解析システムを構築してきた。最終年度は、特にこのメタボローム解析に力点を置いて、メタボローム解析によるデータと各種臨床データとの相関解析を行い、血液で測定可能な気分障害バイオマーカー開発を目指してきた。

C. 研究結果

現在まで関連医療機関を含め約 200 名のお気分障害患者からの生体試料を採取している。気分障害外来においては、気分障害患者の多軸的な臨床評価および生体試料の採取を行う

ている。

iMG ミクログリア細胞に関しては、双極性障害患者において特性を評価している段階にあり、病相により活性特性の違いを見出すことに成功した。

阪大（研究分担者：橋本亮太准教授）・精神神経研究センター（研究分担者：功刀浩部長）をはじめとする連携医療機関から提供していただいた気分障害患者の血液サンプルを用いたメタボローム解析により、わずか数種類の代謝物で抑うつ状態の重症度を予測できるアルゴリズム作製に成功した。

D. 考察

最終年度の成果として、最終的に、わずか数種類の血中の代謝物で抑うつ状態の重症度を予測できるシステム開発に成功した。本研究によるこうした画期的な成果を、二次サンプル等によって、信頼性・妥当性を十分に評価し、産学連携により実用化していくことが今後の課題である。

E. 結論

これまで困難であった気分障害のバイオマーカー開発に向けて、我々は、トランスレーショナル研究拠点を気分障害外来として九州大学病院に設立し、精度の高い臨床データの取得、血液サンプルの取得、および、脳内病態を反映させることが期待される iN 神経と iMG ミクログリア細胞の解析を可能にした。血液のメタボローム解析において、疾患分類のための候補分子の同定に加えて、最終年度は、抑うつ症状の重症度を反映するバイオマーカー検出に成功した。こうした我々の研究成果により、近い将来、気分障害の早期発見・

早期介入が可能となり、最終的には、こうした成果により国民の医療・精神医療の発展が大きく期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Ohgidani M, Kato TA*, Setoyama D, Sagata N, Hashimoto R, Shigenobu K, Yoshida T, Hayakawa K, Shimokawa N, Miura D, Utsumi H, Kanba S: Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: Dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. *Scientific Reports*, 4, 4957, 2014
- Suzuki Y*, Kato TA, Sato R, Fujisawa D, Aoyama-Uehara K, Hashimoto N, Yonemoto N, Fukasawa M, Otsuka K: Effectiveness of brief suicide management training program for medical residents in Japan: A cluster randomized controlled trial. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*, 23(2), 167-76, 2014
- Farooq K, Lydall GJ, Malik A, Ndeti DM; ISOSCCIP Group (including Kato TA & Kanba S), Bhugra D: Why medical students choose psychiatry - a 20 country cross-sectional survey. *BMC Medical Education*, 14, 12, 2014
- Mizoguchi Y*, Kato TA, Seki Y, Ohgidani M, Sagata N, Horikawa H, Yamauchi Y, Sato-Kasai M, Hayakawa K, Inoue R, Kanba S,

- Monji A: BDNF induces sustained intracellular Ca²⁺ elevation through the upregulation of surface TRPC3 channels in rodent microglia. *Journal of Biological Chemistry*, 289(26), 18549-18555, 2014
- Yamamura K, Kato S, Kato TA, Mizoguchi Y, Monji A, Kanba S, Furue M, Takeuchi S*: Anti-allergic mechanisms of Japanese herbal medicine, yokukansan on mast cells. *Journal of Dermatology*, 41(9): 808-814, 2014
 - Mizoguchi Y*, Kato TA, Horikawa H, Monji A: Microglial intracellular Ca²⁺ signaling as a target of antipsychotic actions for the treatment of schizophrenia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8: 370, 2014
 - Soejima M, Sagata N, Komatsu N, Sasada T, Kawaguchi A, Itoh K, Koda Y: Genetic factors associated with serum haptoglobin level in a Japanese population. *Clin Chim Acta*, 433: 54-57, 2014
 - Kato TA: Introducing Hikikomori from multidimensional perspectives. Interview by Hirota T, *World Child & Adolescent Psychiatry (WPA, Child and Adolescent Psychiatry Section's Official Journal)*, 7, 12-16, 2014
 - Teo AR*, Feters MD, Stufflebam S, Tateno M, Balhara YBS, Choi TY, Kanba S, Mathews CA, Kato TA *: Identification of the Hikikomori syndrome of social withdrawal: Psychosocial features and treatment preferences in four countries. *International Journal of Social Psychiatry*, 61(1), 64-72, 2015
 - Watabe M* †, Kato TA * †, Teo AR, Horikawa H, Tateno M, Hayakawa K, Shimokawa N, Kanba S (†: These authors contributed equally to this work): Relationship between trusting behaviors and psychometrics associated with social network and depression among young generation: a pilot study. *PLoS ONE* (in press)
 - 加藤隆弘, 関善弘, 堀川英喜, 扇谷昌宏, 佐方功明, 佐藤美那, 山内佑允, 早川宏平, 下川憲宏, 神庭重信: 慢性炎症と統合失調症—脳内免疫細胞ミクログリアの観点から—。 *分子精神医学*, 54(1), 15-22, 2014
 - 早川宏平, 加藤隆弘, 神庭重信: 精神免疫学から見た身体疾患と精神疾患の生物学的共通基盤。 *精神科治療学*, 29(2), 171-178, 2014
 - 神庭重信, 加藤隆弘: 統合失調症のミクログリア仮説。 *日本神経精神薬理学雑誌*, 34, 11-13, 2014
 - 加藤隆弘: 脳—免疫相関が精神病理と精神発達に及ぼす影響。 *日本生物学的精神医学会誌*, 25(1), 38-42, 2014
 - 堀川英喜: 免疫系: 脳と精神疾患の架け橋。 *日本生物学的精神医学会誌*, 25(2);109-112, 2014
 - 加藤隆弘, 園田紀之: 気分障害と糖尿病との炎症を介した共通基盤。 *精神科*, 25(2), 135-140, 2014
 - 加藤隆弘: 脳と文化—ミクログリア仮説から

鑑みたエディプスコンプレックスの発生論(試論) . こころと文化, 13(2), 116-127, 2014

2.学会発表

・加藤隆弘: ミクログリアに着目した精神疾患の多軸的トランスレーショナル研究—ヒト誘導ミクログリアとゲーム理論の応用. 第1回サイコグリア研究会, 2014. 6. 1, 広島大学 広仁会館, 広島

・加藤隆弘: “先生転移”と“見るなの禁止”. シンポジウム「日本の精神分析」, 日本語臨床フォーラム・第4回 コンベンション, 2014. 6. 22, 帝京大学板橋キャンパス, 東京

・Kato TA, Ohgidani M, Watabe M, Kanba S: Two translational research methods focusing on human microglia (induced microglia-like (iMG) cells / minocycline). DFG-JSPS SYMPOSIUM “SHARED PATHWAYS IN CNS DISORDERS”, 2014. 6. 30, Alois Alzheimer’s Microscopy Laboratory, Department of Psychiatry and Psychology, Ludwig-Maximilians-University (LMU), Munich, Germany

・Ohgidani M, Kato TA, Kanba S: Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: Dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. DFG-JSPS SYMPOSIUM “SHARED PATHWAYS IN CNS DISORDERS”, 2014. 6. 30, Alois Alzheimer’s Microscopy Laboratory, Department of Psychiatry and Psychology,

Ludwig-Maximilians-University (LMU), Munich, Germany

・Sagata N, Kato TA, Kanba S: Directly induced-neuronal (iN) cells from human fibroblasts. DFG-JSPS SYMPOSIUM “SHARED PATHWAYS IN CNS DISORDERS”, 2014. 6. 30, Alois Alzheimer’s Microscopy Laboratory, Department of Psychiatry and Psychology,

Ludwig-Maximilians-University (LMU), Munich, Germany

・Hayakawa K, Kato TA, Kohjiro M, Kanba S: Minocycline, a microglial inhibitor, diminishes terminal patients’ delirium? DFG-JSPS SYMPOSIUM “SHARED PATHWAYS IN CNS DISORDERS”, 2014. 6. 30, Alois Alzheimer’s Microscopy Laboratory, Department of Psychiatry and Psychology,

Ludwig-Maximilians-University (LMU), Munich, Germany

・Shimokawa N, Kato TA, Kanba S: A single minocycline administration suppresses methamphetamine-induced behavioral sensitization in mice. DFG-JSPS SYMPOSIUM “SHARED PATHWAYS IN CNS DISORDERS”, 2014. 6. 30, Alois Alzheimer’s Microscopy Laboratory, Department of Psychiatry and Psychology,

Ludwig-Maximilians-University (LMU), Munich, Germany

・加藤隆弘: 安心して相談支援にのぞむために～相談支援における「メンタルヘルス・ファーストエイド」の理解と活用～. 北九州市