

立精神保健福祉センター主催・平成26年度自殺対策支援者研修会，2014. 7. 16，北九州市総合保健福祉センター「アシスト21」，北九州市

・加藤隆弘，堀川英喜，渡部幹，神庭重信：ヒトの社会的意思決定におけるミノサイクリンの影響—統合失調症患者における意思決定特性（予備的知見）—。第10回統合失調症研究会，2014. 9. 6，東京コンベンションホール，東京

・加藤隆弘：「現代抑うつ症候群（新型うつ）」における諸問題—臨床実践と国際共同研究の結果を踏まえて—。指定討論，公募シンポジウム「「新型うつ」への心理学的アプローチ」（企画 松浦隆信），日本心理学会第78回大会，2014. 9. 12，同志社大学，京都

・Kato TA, Watabe M, Teo AR, Ohgidani M, Sagata A, Kubo H, Hayakawa K, Tateno M, Shimokawa N, Kanba S: Translational research focusing on risk of social isolation: Biological and psychological aspects among university students. Symposium “Mental Health Implications of Social Isolation (Organized by Alan R. Teo and Takahiro A. Kato)”, WPA World Congress 2014, 2014. 9. 17, Centro de Convenciones Norte, Madrid, Spain

・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（弁護士編）。平成26年度自死問題対策委員会法律相談登録研修会，2014. 9. 22，北九州市弁護士会館，北九州市

・加藤隆弘：精神疾患患者のミクログリア活性化特性と精神病理現象との相関を解明するためのトランスレーショナル研究。シンポジウム8「グリアアセンブリの生理と病態」，第36回日本生物学的精神医学会 第57回日本神経化学学会大会 合同年会，2014. 9. 29，奈良県新公会堂，奈良

・加藤隆弘：脳内免疫細胞ミクログリアに着目した精神疾患のトランスレーショナル研究。第三回若手研究者育成プログラム（若手研究者育成プログラム奨励賞），第36回日本生物学的精神医学会 第57回日本神経化学学会大会 合同年会，2014. 9. 30，奈良県新公会堂，奈良

・扇谷昌宏，佐方功明，加藤隆弘：ヒト体細胞由来直接誘導ミクログリア・ニューロンを用いた精神疾患研究。第18回九大精神科教室研究会，2014. 10. 18，九州大学病院ウエストウイング，福岡

・Kato TA: Possible biological and psychosocial risk factors of hikikomori among university students. Symposium of Korea-Japan Psychiatrists Academy (KJPA), Congress of Korean NeuroPsychiatric Association (KNPA) 2014. 10. 24, Ramada Plaza Jeju Hotel, Jeju, South Korea

・加藤隆弘，扇谷昌宏，神庭重信：ストレスとミクログリア—齧歯類モデルの知見とヒト血液由来直接誘導ミクログリア様細胞作製技術の応用。シンポジウム3「ストレスと心身相関」，日本ストレス学会学術総会・第30回記念大会，2014. 11. 7，日本大学文理学部百年記念館，東京

・加藤隆弘：精神病性障害（主に統合失調症）におけるメンタルヘルスファーストエイド。島根県におけるゲートキーパースキルアップ研修指導者養成研修会，2014. 11. 16，出雲保健所，出雲市，島根

・Kato TA: Translational psychiatric research focusing on microglia - Does microglial modulation prevent psychosis? Symposium (Organized by Itokawa M), The 9th International Conference on Early Psychosis, 2014, 11, 17-19, Keio Plaza Hotel, Tokyo

・Kato TA, Ohgidani M, Kanba S: Psychosocial stress and microglia-translational research focusing on human microglia. 国際シンポジウム「ストレスによる神経炎症と神経疾患」，第24回日本臨床精神神経薬理学会・第44回日本神経精神薬理学会 合同年会，2014. 11. 22，名古屋国際会議場，名古屋

・加藤隆弘：医療場面におけるうつ病の早期介入と自殺予防～メンタルヘルス・ファーストエイドの理解と活用～。北九州市立精神保健福祉センター主催・平成26年度自殺対策支援者研修会，2014. 11. 26，北九州市総合保健福祉センター「アシスト21」，北九州市

・加藤隆弘，Teo AR，館農勝，神庭重信：国際調査票開発に基づく現代うつ病と社会的ひきこもりの実態調査。ファイザーヘルスリサーチ振興財団主催 第20回ヘルスリサーチフォーラム，2014. 11. 29，千代田放送会館，東京

・Kato TA, Hayakawa K, Ikeda-Kaneko C, Kanba S: Why do Japanese need the program of Mental Health First Aid? - Sociocultural backgrounds of Japanese social behaviors. Mental Health First Aid Course for Japanese psychiatrists, 2014. 12. 5, Mental Health First Aid Australia, Melbourne, Australia

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む。）

1. 特許取得

・加藤隆弘，扇谷昌宏，神庭重信：Method of producing microglial cells. PCT 国際特許出願日 2015.1.9. (QP130152-PC)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

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

研究分担者 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)

研究要旨

気分障害(大うつ病性障害や双極性障害)や統合失調症に代表される精神疾患は、発症後の未治療期間が予後不良の予測因子であり、発症早期の治療的介入が重要視されている。しかし、客観的診断法は確立しておらず、未治療期間の延長により経過不良となる症例が多く、バイオマーカーの開発が待望されている。本研究では、末梢血液由来リンパ芽球様細胞株(LCL)の網羅的解析により、病態の特性を反映しうるバイオマーカー候補を見出し、客観的検査法を開発することを試みている。これまでに統合失調症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。候補分子・遺伝子を利用した検査法の実現し、精神医療・精神保健の向上に貢献することが望まれる。

研究目的

気分障害(大うつ病性障害や双極性障害)や統合失調症に代表される精神疾患は、発症後の未治療期間[duration of untreated illness (DUI)]が予後不良の予測因子であるとの知見は定説となっており、本人の生活の質(QOL)や生産性を損なうだけではなく、自殺に繋がる可能性があり、発症早期に治療的介入を行うことの重要性が強調されている。

一方、精神疾患の診断は、医師の間診や患者の訴えを基にした症候学によって行われており、生理・生化学的な検査による診断法は確立していない。診断に有用な検査法がないため治療が遅れ、その結果、自殺等の問題に至る、あるいは難治化している症例が少ないのが現状である。したがって、精神疾患の診断に有用な客観的検査法の実現が待望されている。

本研究では、疾患の特性(trait)を直接的に反映しうる患者由来リンパ芽球様細胞株(LCL)の網羅的解析(トランスクリプトーム・プロテオーム)により、簡便に施行できる血液評価系を開発することで、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

開発し、精神医療・精神保健の向上に貢献することを目指している。

研究方法

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ーション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。

研究結果

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、全自動イムノアッセイ装置 (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

一方、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、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、ZBTB8OS、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。

考察

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。現状として、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

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。

結論

網羅的解析により客観的なバイオマーカーの可能性が見出され、今後の検証により生化学的な診断方法が確立すれば、大うつ病性障害および双極性障害を含む精神疾患の診断が容易となり、他の精神疾患との鑑別により誤診の可能性を低減できると考えられる。また、これらの疾患のスクリーニングに応用することで、疾患の早期発見・早期治療を可能にし、病勢の進行を阻止できる可能性が期待される。

*健康危険情報

なし

研究発表

論文発表

1. Takahashi T, Nakamura M, Nakamura Y, Aleksic B, Kido M, Sasabayashi D, Takayanagi Y, Furuichi A, Nishikawa Y, Noguchi K, Ozaki N, Suzuki M: The Disrupted-in-Schizophrenia-1 Ser704Cys polymorphism and brain neurodevelopmental markers in schizophrenia and healthy subjects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 56 11-7, 2015

2. Hida H, Mouri A, Mori K, Matsumoto Y, Seki T, Taniguchi M, Yamada K, Iwamoto K, Ozaki N, Nabeshima T, Noda Y: Blonanserin Ameliorates Phencyclidine-Induced Visual-Recognition Memory Deficits: the Complex Mechanism of Blonanserin Action Involving D3-5-HT_{2A} and D1-NMDA Receptors in the mPFC. *Neuropsychopharmacology* 40 (3):601-13, 2015

3. Xing J, Wang C, Kimura H, Takasaki Y, Kunimoto S, Yoshimi A, Nakamura Y, Koide T, Banno M, Kushima I, Uno Y, Okada T, Aleksic B, Ikeda M, Iwata N, Ozaki N: Resequencing and Association Analysis of PTPRA, a Possible Susceptibility Gene for Schizophrenia and Autism Spectrum Disorders. *PLoS One* 9 (11):e112531, 2014

4. Wang C, Koide T, Kimura H, Kunimoto S, Yoshimi A, Nakamura Y, Kushima I, Banno M, Kawano N, Takasaki Y, Xing J, Noda Y, Mouri A, Aleksic B, Ikeda M, Okada T, Iidaka T, Inada T, Iwata N, Ozaki N: Novel rare variants in F-box protein 45 (FBXO45) in schizophrenia. *Schizophr Res* 157 (1-3):149-56, 2014

5. Saito T, Kondo K, Iwayama Y, Shimasaki A, Aleksic B, Yamada K, Toyota T, Hattori E, Esaki K, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ozaki N, Ikeda M, Iwata N: Replication and cross-phenotype study based upon schizophrenia GWASs data in the Japanese population: Support for association of MHC region with psychosis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 165 (5):421-7, 2014

6. Nishizawa D, Fukuda K, Kasai S, Hasegawa J, Aoki Y, Nishi A, Saita N, Koukita Y, Nagashima M, Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Higuchi S, Ujike H, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Kondo N, Won MJ, Naruse N, Uehara-Aoyama K, Itokawa M, Koga M, Arinami T, Kaneko Y, Hayashida M, Ikeda K: Genome-wide association study identifies a potent locus associated with human opioid sensitivity. *Mol Psychiatry* 19 (1):55-62, 2014

7. Miyashita M, Arai M, Yuzawa H, Niizato K, Oshima K, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Toyota T, Ujike H, Arinami T, Kasai K, Takeda M, Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Miyata T, Itokawa M: Replication of enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 68 (1):83-4, 2014

8. Katayama H, Kohmura K, Tanaka S, Imaeda M, Kawano N, Noda Y, Nishioka K, Ando M, Aleksic B, Iidaka T, Ozaki N: Social insecurity in relation to orbitofrontal activity in patients with eating disorders: a near-infrared spectroscopy study. *BMC Psychiatry* 14 (1):173, 2014

9. Kajio Y, Kondo K, Saito T, Iwayama Y, Aleksic B, Yamada K, Toyota T, Hattori E, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Kato T,

Yoshikawa T, Ozaki N, Ikeda M, Iwata N: Genetic association study between the detected risk variants based upon type II diabetes GWAS and psychotic disorders in the Japanese population. *J Hum Genet* 59 (1):54-6, 2014

10. Hida H, Mouri A, Ando Y, Mori K, Mamiya T, Iwamoto K, Ozaki N, Yamada K, Nabeshima T, Noda Y: Combination of neonatal PolyI:C and adolescent phencyclidine treatments is required to induce behavioral abnormalities with overexpression of GLAST in adult mice. *Behav Brain Res* 258 34-42, 2014

11. De Rubeis S, He X, Goldberg AP, Poultney CS, Samocha K, Ercument Cicek A, Kou Y, Liu L, Fromer M, Walker S, Singh T, Klei L, Kosmicki J, Fu SC, Aleksic B, Biscaldi M, Bolton PF, Brownfeld JM, Cai J, Campbell NG, Carracedo A, Chahrour MH, Chiochetti AG, Coon H, Crawford EL, Crooks L, Curran SR, Dawson G, Duketis E, Fernandez BA, Gallagher L, Geller E, Guter SJ, Sean Hill R, Ionita-Laza I, Jimenez Gonzalez P, Kilpinen H, Klauck SM, Kolevzon A, Lee I, Lei J, Lehtimaki T, Lin CF, Ma'ayan A, Marshall CR, McInnes AL, Neale B, Owen MJ, Ozaki N, Parellada M, Parr JR, Purcell S, Puura K, Rajagopalan D, Rehnstrom K, Reichenberg A, Sabo A, Sachse M, Sanders SJ, Schafer C, Schulte-Ruther M, Skuse D, Stevens C, Szatmari P, Tammimies K, Valladares O, Voran A, Wang LS, Weiss LA, Jeremy Willsey A, Yu TW, Yuen RK, Study DDD, Homozygosity Mapping Collaborative for A, Consortium UK, Autism Sequencing C, Cook EH, Freitag CM, Gill M, Hultman CM, Lehner T, Palotie A, Schellenberg GD, Sklar P, State MW, Sutcliffe JS, Walsh CA, Scherer SW, Zwick ME, Barrett JC, Cutler DJ, Roeder K, Devlin B, Daly MJ, Buxbaum JD: Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature* 515 (7526):209-15, 2014

学会発表

1. 野田 幸裕 長, 谷口将之, 肥田 裕丈, 毛利 彰宏, 國本正子, 山田清文, 尾崎 紀夫, 田中光一, 鍋島 俊隆: 認知機能におけるグリア型トランスポーター(GLAST)の役割, in 第 87 回日本薬理学会年会. 仙台, 2014

2. 谷口 将之 鶴麻, 肥田 裕, 長谷川 章, 森 健, 山田 清文, 鍋島 俊隆, 尾崎 紀夫, 毛利 彰宏, 野田 幸裕: 幼若期マウスへの社会敗北ストレス負荷による社会性行動障害と神経新生低下におけるグルコルチコイドの関与, in 第 87 回日本薬理学会. 仙台, 2014

3. 尾崎紀夫: 教育セミナー: 精神医学診断体系 DSM-5 の現状を把握し、基礎と臨床の連携により診断体系の再構築へ, in 日本臨床精神神経薬理学会・神経精神薬理学会合同年会. 名古屋, 2014

4. 尾崎紀夫: シンポジウム: 稀な遺伝子変異の同定から精神疾患の克服へ, in 日本臨床精神神経薬理学会・神経精神薬理学会合同年会. 名古屋, 2014

5. Yoshimi A, Kunimoto S, Yamada S, Aleksic B, Hirakawa A, Nagai T, Ozaki N: PROTEOMIC ANALYSIS OF THE LYMPHOBLASTOID CELL LINE DERIVED FROM JAPANESE SCHIZOPHRENIC PATIENTS, in CINP. Vancouver, 2014

知的財産権の出願・登録状況

1. 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
2. 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

図表

なし

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

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

研究分担者 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)

研究要旨

うつ病の血液バイオマーカーの開発するため、我々は血中アミノ酸の解析を行い、メタアナリシスと合わせ、うつ病ではトリプトファンが減少していることを結論づけた。また、脳により近い脳脊髄液を患者・健常対照者より収集しプロテオーム解析によりバイオマーカーの探索を行った。前年度までに、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が判明していたが、本年度の研究により、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。

A. 研究目的

本研究課題の最終目標は、うつ病の血液バイオマーカーの開発・実用化である。我々はまず、血液中のアミノ酸（神経伝達物質ないしその前駆体を含むため）の解析を行った。特にトリプトファンは、うつ病の病態に関与すると指摘されるセロトニン、キヌレニンの前駆体であり、過去にも患者血漿中で低下が報告されている。また、脳により近い脳脊髄液(CSF)を用いたマーカー探索も行った。CSFは脳組織と連続しているため脳由来の物質を多く含んでいる。また、他の臓器との接触が少なく影響を受けにくい。このため、脳疾患の分子病態を、より良く反映していると考えられる。我々は、これまでに600検体以上の精

神疾患のCSFを研究目的で収集してきた。これらのCSFを用い、特に網羅的な解析を行うことで、うつ病のバイオマーカー探索を行った。

B. 研究方法

① 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。

② CSFの解析

前年度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）

臨床研究の倫理指針に準拠した研究計画書を作成し、倫理委員会の承認を得て行われた。被験者に対しては文書を用いて説明し、文書同意を得た。CSF採取に際しては、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。L3/4ないしL4/5にて熟練した医師が局所麻酔下のうえ無外傷性針を用いて腰椎穿刺を行った。有害作用については24時間対応できる電話窓口と体制を整えた。試料・臨床情報については専用のデータベースにて連結可能匿名化を行い、以後、試料や臨床情報を匿名化番号のみで扱った。対応表や個人情報情報は暗号化装置（ハードウェアVPN）で守られた専用サーバか鍵付ロッカーに保存し、各端末には保有しなかった。

C. 研究結果

① 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 , $P=0.00015$)。

② 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。

D. 考察

本研究により、まず、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。本

研究では、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きたい。

E. 結論

本年度の研究により、うつ病における血中トリプトファンの減少を結論づけ、CSFではFibrinogenを含め有望なマーカー候補を多数得た。今後、ELISA等による測定の再現確認と独立した別の症例を用いた検証を行うとともに、血液検体で測定することで、血液マーカーの開発につなげたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ogawa S, Fujii T, Koga N, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Noda T, Higuchi T, Motohashi N, Kunugi H. Plasma L-tryptophan concentration in major

depressive disorder: new data and meta-analysis. *J Clin Psychiatry*, 75:e906-15, 2014

- 2) Sasayama D, Hori H, Nakamura S, Yamamoto N, Hattori K, Teraishi T, Ota M, Kunugi H. Increased Protein and mRNA Expression of Resistin After Dexamethasone Administration. *Horm Metab Res*, Epub, 2014
- 3) Fujii T, Hori H, Ota M, Hattori K, Teraishi T, Sasayama D, Yamamoto N, Higuchi T, Kunugi H. Effect of the common functional FKBP5 variant (rs1360780) on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and peripheral blood gene expression. *Psychoneuroendocrinology*, 42:89-97, 2014

2. 学会発表

(1) 国際学会

- 1) Hattori K, Ota M, Yoshida S, Goto Y, Kunugi H. Increased cerebrospinal fluid fibrinogen delineates a subgroup of major depressive disorder, MPI-NCNP合同シンポジウム、2014.115-7, 箱根
- 2) Hattori K, Goto Y, Yoshida S, Sasayama D, Komurasaki T, Chaki S, Fujii Y, Yoshimizu T, Kunugi H.: Cerebrospinal fluid biomarkers for schizophrenia revealed by a cICAT proteomic analyses. 4th Schizophrenia International Research

Society Conference, 2014.4.5-9, Florence

(2) 一般学会

服部功太郎、篠山大明、太田深秀、吉田寿美子、横田悠季、松村亮、宮川友子、野田隆正、
功刀浩：脳脊髄液fibrinogen上昇は大うつ病性障害の亜型を反映している、第36回日本生物学的精神医学会、奈良、9.29-10.1、2014

2. 知的財産権の出願登録状況

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

双極性障害のバイオマーカー候補同定

研究分担者 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：

双極性障害は、遺伝的基盤を元に発症し、躁状態、うつ状態を繰り返す疾患である。初発のうつ状態では、うつ病と診断する他ないが、双極性障害では抗うつ薬により悪化する可能性があることから、双極性障害を診断するバイオマーカーの開発を行う必要がある。本年度は、双極性障害患者で報告されているバイオマーカーの変動メカニズムを明らかにするため、うつ状態を反復する動物モデルにおいて、バイオマーカー候補物質を検討した。

A. 研究目的

双極性障害は、一卵性双生児の一致率が約80%と高く、遺伝要因がその発症に大きく関与することが明らかにされている。

本研究の目的は、うつ状態の病態を反映する血中バイオマーカーを探索することである。これまで、うつ病や双極性障害で、サイトカイン、BDNFなどの末梢血液中の変化が報告されているが、その原因は未だ明かではなく、治療との関係も明確ではない。本研究では、動物モデルを用いて、その意義を明らかにすることである。

B. 研究方法

我々が作成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。

C. 研究結果

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

る必要があり、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。

D. 考察

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。

E. 結論

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。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著論文
なし

総説論文

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

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

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

分担研究者 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)

研究協力者 佐々木 剛

(千葉大学医学部附属病院こどものこころ診療部)

研究協力者 松澤 大輔

(認知行動生理学)

研究協力者 中里 道子

(子どものこころの発達研究センター)

研究要旨：

①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。今回の結果から、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。

A. 研究目的

脳由来神経栄養因子 (brain-derived neurotrophic factor : BDNF) は、うつ病の病因に重要な役割を果たしていることを示唆するデータがこれまでに多数示されてきている。うつ病のバイオマーカーとして児童・思春期のうつ病患者では、血清中の BDNF とその前駆体である proBDNF、そして BDNF 生成に関

わる酵素(matrix metalloproteinase-9: MMP-9)、オキシトシン濃度について健常児童との比較、また背景の病歴や重症度、治療反応性との関係を中心に検討した。摂食障害患者では BDNF、proBDNF、MMP-9、成人うつ病患者で個人認知行動療法の治療前後の BDNF の変化を検討した。

B. 研究方法

①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者、薬物治療中のうつ病患者、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、バール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 (表 1)。

	未治療 うつ病 (NAI) n=23	薬物治 療中う つ病 (MED) n=14	健常者 (HNC) n=25	MED vs NAI vs HNC (p)
年齢(才)	12.74 ± 2.12	14.21 ± 1.48	12.88 ± 3.24	ns ^b
罹病期間 (月)	6.74 ± 5.79	21.07 ± 13.14	-	-
proBDNF (ng/mL)	1054.60 ± 1685.26	989.67 ± 1439.3 2	990.80 ± 1650.41	ns ^c
mature BDNF (ng/mL)	19.98 ± 5.26	24.26 ± 4.93	20.95 ± 4.97	0.047 * ^c
MMP-9 (ng/mL)	298.03 ± 138.71	456.34 ± 189.45	346.88 ± 170.88	0.022 * ^c

表 1 児童思春期うつ病の未治療患児、薬物治療中患児、健常児の血中バイオマーカー

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。

- ① 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)。

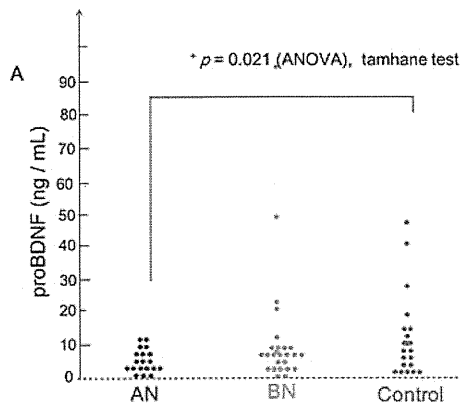


図 1 神経性無食欲症群 (AN)、過食症群 (BN)、健常群 (Control) の血中 proBDNF

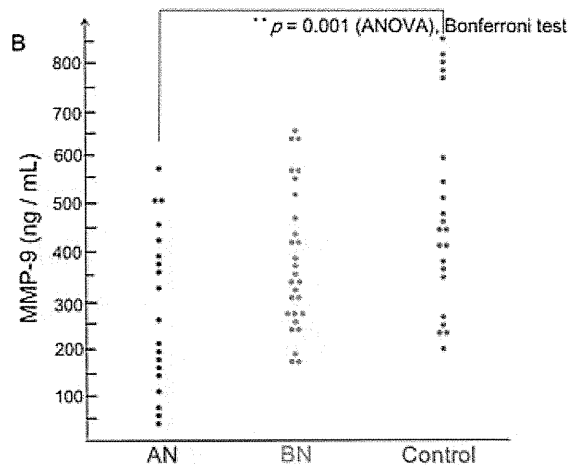


図 2 神経性無食欲症群 (AN)、過食症群 (BN)、健常群 (Control) の血中 MMP-9

- ③ 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。

臨床指標の変化とBDNF

	CBT前	CBT後	p*
BDI-II	28.0±9.1	17.9±11.7	0.002
PHQ-9	14.7±5.8	9.4±5.6	0.004
BDNF (pg/ml)	20.6±4.5	19.8±4.5	0.346

*対応のあるt検定 数値はスコア(測定値)±標準偏差

表 2 成人うつ病の認知行動療法 (CBT) 前後のうつ症状尺度 BDI-II、PHQ-9 および血中 BDNF の変化

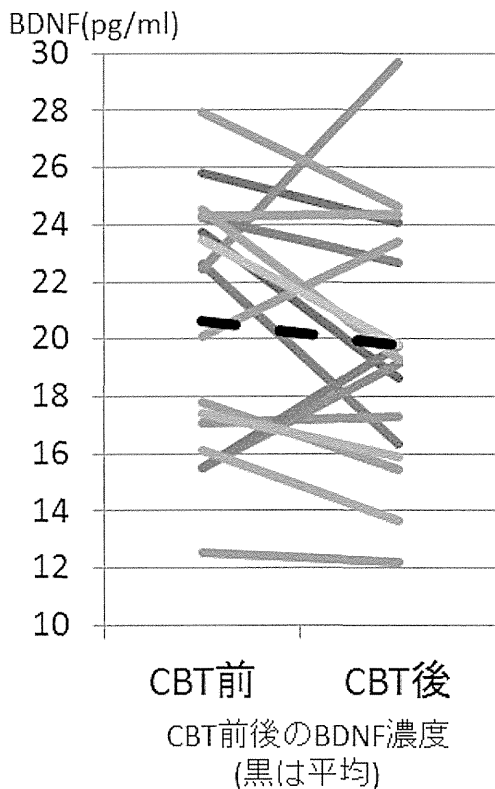


図3 CBT前後の各個人の血中BDNFの変化

D. 考察

①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。②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。③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

成人のうつ病のみならず、児童思春期のうつ病や摂食障害において、血中 BDNF 及び関連のバイオマーカーの変化が見られた。抗う

つ薬治療と異なり、個人認知行動療法では血中 BDNF は変化しないことが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sasaki T, Hashimoto K, Tachibana M, Kurata T, Okawada K, Ishikawa M, Kimura H, Komatsu H, Ishikawa M, Hasegawa T, Shiina A, Hashimoto T, Kanahara N, Shiraishi T, Iyo M: Tipepidine in adolescent patients with depression: A 4-week, open-label, preliminary study. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 2014 May 5; 10:719-722.

Kobori O, Nakazato M, Yoshinaga N, Shiraishi T, Takaoka K, Nakagawa A, Iyo M, Shimizu E. Transporting Cognitive Behavioral Therapy (CBT) and the Improving Access to Psychological Therapies (IAPT) project to Japan: preliminary observations and service evaluation in Chiba. *Journal of Mental Health Training, Education and Practice*, 2014; 9(3):155-166

2. 学会発表

Nakazato M, Matsumoto J, Numata N, Setsu R, Hirano Y, Sutoh C, Matsuzawa D, Iyo M, Hashimoto K, Shimizu E. Serum Levels of Precursor BDNF, Mature BDNF, Glutamate and Executive Functions in People Suffering from Eating Disorders. *International Conference on Eating Disorders (ICED)*, NY, USA, 2014/3/27

Nakazato M, Matsumoto J, Numata N, Setsu R, Hirano Y, Sutoh C, Matsuzawa D, Iyo M, Yokote K, Hashimoto K, Shimizu E. Neurocognitive functioning and serum levels of precursor BDNF in people suffering from eating disorders. *Eating*

Disorders Research Society(EDRS),20th Annual Meeting, San Diego, US.2014/10/9.

Matsumoto J, Nakazato M, Hirano Y, Murano S, Yokote K, Shimizu E. Neuropsychological function in eating disorders: focus on response inhibition and decision-making ability. 44th European Association for Behavioural and Cognitive Therapies Congress, The Hague, 2014/9/10-9/13

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

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

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

研究分担者 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)

研究要旨

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。精神疾患の診断は医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法は未だ確立しておらず、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。

microRNA(miRNA)は、21-23塩基という比較的小さなNon-coding RNAであり、時空間特異的に生体内で発現し、標的RNAの翻訳抑制を行うとされている。精緻な脳神経回路の制御にかかわっていると考えられ、気分障害をはじめとする様々な精神疾患の死後脳におけるmiRNAの発現異常が報告されており、その病態における役割が想定されている。最近、がんの領域において、血中のmiRNAがバイオマーカーの候補として盛んに研究されるようになり、精神科領域での応用が期待されている。

miR148b、miR20a、miR34aについて、うつ病と健常者で発現量を比較したが、違いが得られなかった。そこで、昨年度得られた免疫系のバイオマーカーであるSoluble TNF α receptor IIについて、統合失調症における再現性を検討した結果、確認された。気分障害については、サンプル数のさらに増やして今後検討を行っていくが、本研究成果は気分障害の新たな血液バイオマーカーの開発に役立つものと考えられる。

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。精神疾患の診断は、医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法はいまだ確立したとはいえない。現在、DSM-IVやICD-10による操作的診断法が汎用されるようになってきているが、従来の外因、内因、心因の原因を想定した診断法が実際の臨床場面では有用な場合が少なくない。そこで精神科臨床、精神科以外の診療あるいは健診でも有用な客観的・科学的なバイオマーカーの開発の開発が、待ち望まれている。

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。これまで末梢サンプルを対象として多数の研究が行われてきたが、気分障害の病態を反映することが確実なものとは同定されていない。

一方、末梢サンプルを対象とした研究を行う場合

に、見出されたバイオマーカー候補が、他のサンプルにおいても同様の感度や特異度を有するかという再現性の研究が非常に重要である。さらに、より多数のサンプルにおいても確認されることが、臨床応用には必須であると言える。

microRNA(miRNA)は、近年見出されて注目を浴びている21-23塩基という比較的小さなNon-coding RNA(生体内で発現するRNAのうち、タンパクをコードしないRNAの総称)であり、時空間特異的に生体内で発現し、標的RNAの翻訳抑制を行うとされている。その翻訳抑制は、RNAi(RNA interference: 約21塩基のRNAが配列特異的に標的RNAの分解を引き起こす分子機構)と非常によく似た機構であり、発生、アポトーシス、アミノ酸代謝などを調節することで知られている。miRNAは、多種多様の標的RNAの翻訳抑制を行う可能性があるため、精緻な脳神経回路の制御にかかわっている可能性が高いと考えられる。実際に神経系では、発生における神経分化や記憶・学習に関与していることが報告されているが、ヒトの脳機能において果たす役割についてはよく知られていない。しかし、最近では、気分障害をはじめとする様々な精神疾患の死後脳や末

梢血中におけるmiRNAの発現異常が報告されており、その病態における役割が想定されている。

血清中のmiRNA（マクロRNA）発現レベルがガンの病的な状態を直接反映することが、2008年に報告された。その後、抹消循環液中のmiRNAの存在が多数報告されている。これらは、安定で、簡便に測定でき、新たな非侵襲的なバイオマーカーとして様々な病気において注目を浴びている。精神疾患では、統合失調症においていくつかの血清中のmiRNAの発現異常が報告されている。

これらのことから、本研究においては、miRNAに着目して、気分障害のリスク遺伝子等を対象に末梢サンプルによるバイオマーカー開発を行うことを第一の目的とし、次に、血液サンプルのバンク化に向けて被験者の血液サンプル収集・蓄積を行うことを第二の目的とする。

B. 研究方法

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 ± 13.3 歳）、双極性障害（ 55.7 ± 13.1 歳）、健常者（ 54.7 ± 5.7 歳）、統合失調症（ 54.7 ± 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うまでもない。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。

C. 研究結果

まず、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例である。

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、昨年度得られた、免疫系のバイオマーカーの検討を中心に行った。

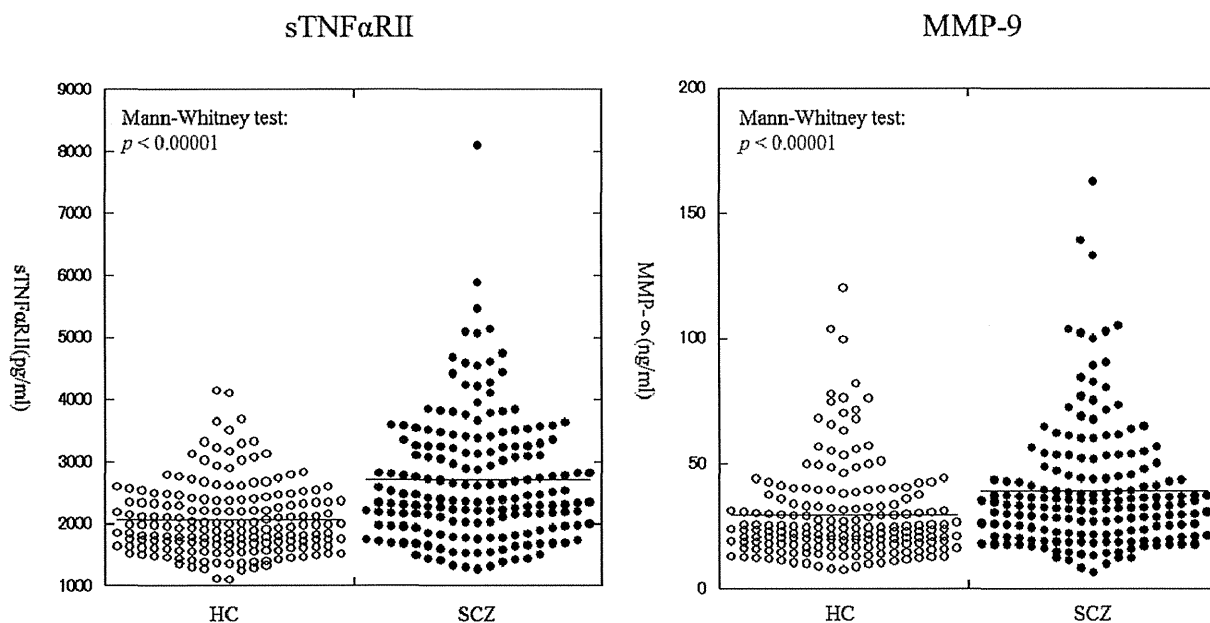
昨年度は、うつ病のマーカーとして独立した二つのコホートで血漿中濃度の違いが報告されている Epidermal growth factor (EGF)、Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、Soluble TNF α receptor II、Myeloperoxidase (MPO)、Alpha 1 antitrypsin の血漿中の濃度を HC40 例、MDD40 例、BPI40 例、SCZ40 例のサンプルセットで測定し、マーカーとしての有用性を検証し、EGF、BDNF、Soluble TNF α receptor II、MPO について、気分障害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

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。

E. 結論

我々は、気分障害のバイオバンク構築に向けたサンプル収集を行った。免疫系に關与するバイオマーカーの一



HC182 vs SCZ 182

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、九州大学に送付し、メタボロミクス解析に用いていただき、非常に興味深い結果が出ているとのことである。

D. 考察

我々は、多数のサンプルの収集に成功し、気分障害の

つである Soluble TNF α receptor II について再現性が得られ、今後の発展が期待される。気分障害のバイオマーカーは、医療行政上、大変有意義であり、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Miura K, Hashimoto R, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Iwase M, Takeda M. An integrated eye movement score as a neurophysiological marker of schizophrenia. Schizophrenia Research, 160(1-3):228-9, 2014. 12 doi: 10.1016/j.schres.2014.10.023.
- 2) Li M, Ohi K, Chen C, He Q, Lu JW, Chen C. Luo XJ, Dong Q, Hashimoto R, Su B. Failure of Failure