

201419072B

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24年～26年度 総合研究報告書

研究代表者
神庭重信

平成27(2015)年3月

目 次

I. 総合研究報告	
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. 研究成果の刊行に関する一覧表	51
III. 研究成果の刊行物・別刷	57

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

総合研究報告書

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

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経由し、精神科受診は遅れがちであり、予後に影響を与えている。そこで、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してきた。

九州大学の神庭らは、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、共同研究者らとともに、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。さらに、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、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。

班員の尾崎ら (名古屋大学) 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た。その結果、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。

橋本ら（大阪大学）は、うつ病、双極性障害、統合失調症、健常者の40例ずつのサンプルセットを用いて、免疫系のバイオマーカーを検討し、EGF、BDNF、MPO、Soluble TNF α receptor II について異常を見出した。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、これを確認した。

功刀・服部ら（精神神経医療研究センターNCNP）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候補分子の解析をするとともにプロテオーム解析等によりバイオマーカーの探索を行った。候補分子としてIL-6が、うつ病と統合失調症の脳脊髄液で亢進していることを見出すとともに、プロテオーム解析によりFibrinogenがうつ病の一群を反映していることが判明した。

理化学研究所の加藤らは、双極性障害患者で報告されている既存の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すると共に、患者血漿を用いて、キャピラリー電気泳動-質量分析あるいは高速液体クロマトグラフィー-質量分析により、新たなバイオマーカー候補を探索した。さらに、一人だけが双極性障害に罹患した一卵性双生児より樹立した培養リンパ芽球を用いて、プロテオミクスによりバイオマーカー候補を探索し、phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1)を見いだした。

千葉大学の清水らは、児童・思春期の薬物未治療うつ病患者児(n=23)、薬物治療中のうつ病患者児(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た。その結果、薬物治療中うつ病患者児は他の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。さらに、児童・思春期の治療抵抗性うつ病患者児(n=10)は、治療反応性の良いうつ病患者児(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ることを見いだした。

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将来的な課題である。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。

研究分担者（五十音順）：

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）

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）

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）

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経由し、精神科受診は遅れがちであり、予後に影響を与えている。そこで本研究では、健診でも有用なバイオマーカーの開発を目指した。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。

これまでバイオマーカー開発は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した。

また、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。

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た。

B. 研究方法と結果

本研究は、各班員の所属する施設に設置された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）。

1) 九大における研究

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。

その結果、現在まで関連医療機関を含め約 200 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。

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され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。

2) 名大における研究

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において、発現量に差異が認められた 20 スポットか

ら、22種類のタンパク質を同定し、Western blotting 法による発現変化の再検証により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統合失調症患者群と健常者群を判別する統計モデルを構築し、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。新たに統合失調症患者と健常者各30例の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検証したところ、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。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)を再確認した。

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(SAM、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)の発現増加を再確認した。

3) 阪大における研究

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。この中から、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。

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、免疫系のバイオマーカーの検討を中心に行った。

このサンプルを用いて、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 (TNF- α)、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た。その結果、EGF、BDNF、TNF- α 、MPO について、気分障害にて、健常者や統合失調症との違いを認めた。

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、同じ大規模サンプルで有意な増加を確認した。

4) 精神神経医療研究センターでの研

究

被験者は当センター病院内のポスターやホームページ、フリーペーパーの広告などで募集し、書面での同意を得た。患者は DSM-IV に準拠した診断がなされ、健常対照者は精神疾患簡易構造化面接法 (MINI) にて精神疾患を除外した。CSF は局所麻酔のうえ腰椎穿刺にて無外傷性針にて採取した。

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 中 IL-6 の解析：統合失調症 32 例、うつ病 30 例、健常対照 35 例の CSF と血液中の IL-6 濃度を ELISA により測定した。

うつ病 30 例、健常対照 30 例の CSF を用いて網羅的タンパク質解析 (SomaLogic 社、Somascan premium) を活用した解析を行った。本解析では 1129 種の改変型のアプタマー (特定の分子と結合する核酸分子) とマイクロアレイを用い各々のタンパク質の定量を行うものである。

以上の結果、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、特に非服薬患者群 (n=156) において差が大きかった。

CSF の候補分子解析では、IL-6 が患者群は健常群と比較して CSF 中 IL-6 濃度が有意に高かった (統合失調症：P=0.0027, うつ

病: $P=0.012$)。注目すべきことにCSF中IL-6濃度は血清中IL-6濃度より有意に高く、両者間に有意な相関はみられなかった。

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71個選択した。中でもFibrinogenは、うつ病の一部症例(約20%)で異常高値を示し、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。Fibrinogen異常高値症例では白質の障害がMRIで認められた。

5) 千葉大学における研究

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。

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。

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、週1回50分で合計16セッションの個人認知行動療法の前後で、被験者の血中BDNF濃度を測定した。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)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。

その結果、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。

さらに、児童・思春期の治療抵抗性うつ病患児($n=10$)は、治療反応性の良いうつ病

患児 (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であった。

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 が有意に低下していた。

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。

6) 理研における研究

マウスにおける既存バイオマーカーの測定については、TNF- α は測定限界以下であった。BDNF については、うつ状態で高い傾向が見られた。その他は測定可能ではあったが、個体間でのばらつきが認められ、個体差を超える顕著な変化は見られなかった。

CE-MS あるいは LC-MS を用いたメタボローム解析では、動物モデルと共通な変化を示すような、双極性障害特異的に変化している分子を見出すことはできなかった。

一卵性双生児不一致例におけるプロテオミクス解析では、2 次元ディファレンシャルゲル電気泳動で見出された 200 の蛋白スポットより蛋白質を同定した結果、細胞死関連、および解糖系関連蛋白の変化が大き

いことがわかった。

これらの蛋白質が双極性障害のバイオマーカーとなりうるかどうかを検討するため、ウェスタンブロット解析により、症例対照研究を行った。その結果、解糖系に関わる蛋白質である、phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1) が双極性障害患者で有意に増加していた ($p < 0.05$)。PGAM1 は、双極性障害のバイオマーカー候補になりうると考えられた。

D. 考察

九大では最終年度の成果として、わずかな種類数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。

名大では、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。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 3 群間におけるプロテオームの解析から、各種バイオマーカー候補が同定された。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。

阪大では、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。

NCNP での研究の主な結果として、①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こと、②統合失調症とうつ病の病態には中枢性の IL-6 が関与しており、中枢神経系の軽度の炎症が関与する可能性があること、③CSF 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こと、が判明した。本研究により血液マーカーの有望な候補が得られたのみならず、より脳に近い CSF で得られたことから、うつ病の分子病態に関与している分子も含まれていると考えられ、

病態解明や創薬につながる可能性もある。血中トリプトファン、CSF 中の IL-6、fibrinogen などはいずれも慢性炎症と関連する分子であることから、うつ病における慢性炎症仮説に沿った結果であることも興味深い。

本研究により、うつ病マーカーの候補分子を CSF より得ることができた。一方、本研究課題の最終目標である血液マーカー開発には、候補分子の絞り込みと血液を用いた測定が今後必要である。無論、血液マーカーの診療上の有用性は疑うべくもないが、本成果を、そのまま CSF 検査として実用化できる可能性もある。実際アルツハイマー病のタウ蛋白質の測定のように健康保険による検査が承認されている CSF マーカーもある。

千葉大では、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。

理研の研究からは、マウスのうつ状態では、患者で報告されているバイオマーカーを確認することはできなかった。患者におけるバイオマーカー変化のメカニズム解明のためには、薬剤などの confounding factor の影響に関する検討も含め、さらなる動物モデル研究が必要と考えられた。ま

た、今後は尾静脈からの採血を行い、同一個体の異なる状態で比較する必要がある。

また、メタボローム解析では、動物モデルと患者で共通な分子を見出すことはできなかったが、複数のマーカーの組み合わせが有効である可能性については、さらなる解析が必要と思われる。

一卵性双生児不一致例から同定された PGAM1 は、3-phosphoglycerate を 2-phosphoglycerate に変換する解糖系の酵素である。双極性障害患者の死後脳研究では、一致した見解には至っていないものの、PGAM1 を含む解糖系の蛋白質の変化を指摘する報告もあり (Novikova et al, Neurobiol Dis 2006, English et al, Biol Psychiatry 2011)、もし脳を反映する変化であれば意義があるため、さらなる確認が必要と思われる。

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、各施設と共同して、精度の高い臨床データの取得、血液サンプルを集積した。また、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。

免疫系に關与するバイオマーカーの一つである 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。

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 IL-6 の亢進を見出すとともに、Fibrinogen を含め有望なマーカー候補を多数得た。

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。

既存バイオマーカーの動物モデルにおける検討、患者血漿と動物モデルの血漿を用いたバイオマーカー探索、一卵性双生児双極性障害不一致例より樹立した培養リンパ芽球を用いたバイオマーカー探索を行った。本研究で得られたバイオマーカー候補については、より多くのサンプルにおける確認が必要である。

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。

こうした班研究の成果により、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

なし

G. 研究発表

主たる研究成果は一覧表とリプリントを参照

1. 論文発表

Motomura K, Kanba S: Lost in translation: Confusion about depression and antidepressant therapy in Japan. *Psychiatry Clin Neurosci.* 67(1): 1-2, 2013

Takata A, Iwayama Y, Fukuo Y, Ikeda M, Okochi T, Maekawa M, Toyota T, Yamada K, Hattori E, Ohnishi T, Toyoshima M, Ujike H, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Nanko S, Nakamura K, Mori N, Kanba S, Iwata N, Kato T, Yoshikawa TA: Population-Specific Uncommon Variant in GRIN3A Associated with Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* S0006-3223(12)00951-1, 2012

Kato TA, Yamauchi Y, Horikawa H, Monji A, Mizoguchi Y, Seki Y, Hayakawa K, Utsumi H, Kanba S: Neurotransmitters, Psychotropic Drugs and Microglia: Clinical Implications for Psychiatry. *Current Medicinal Chemistry,* 20 (3), 331-344, 2013

Anderson G, Berk M, Dodd S, Bechter K, Altamura AC, Dell'osso B, Kanba S, Monji A, Fatemi SH, Buckley P, Debnath M, Das UN, Meyer U, Müller N, Kanchanatawan B, Maes M: Immuno-inflammatory, oxidative and nitrosative stress and neuroprogressive pathways in the etiology, course and treatment of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012 Oct 18. doi:pil: S0278-5846(12)00263-1.

Oda Y, Onitsuka T, Tsuchimoto R, Hirano S, Oribe N, Ueno T, Hirano Y, Nakamura I, Miura T, Kanba S. Gamma band neural synchronization deficits for auditory steady state responses in bipolar disorder patients. *PLoS One.* 7(7): e39955, 2012

Kato TA, Tateno M, Shinfuku N, Fujisawa D, Teo AR, Sartorius N, Akiyama T, Ishida T, Choi TY, Balhara YPS, Matsumoto R, Umene-Nakano W, Fujimura Y, Wand A, Chang

JPC, Chang RYF, Shadloo B, Ahmed HU, Lerthattasilp T, Kanba S: Does the 'hikikomori' syndrome of social withdrawal exist outside Japan? A preliminary international investigation. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 47(7): 1061-1075, 2012

Kato TA, Watabe M, Tsuboi S, Ishikawa K, Hashiya K, Monji A, Utsumi H, Kanba S: Minocycline Modulates Human Social Decision-Making: Possible Impact of Microglia on Personality-Oriented Social Behaviors. *PLoS ONE*, 7(7): e40461, 2012

Watabe M, Kato TA, Monji A, Horikawa H, Kanba S: Does minocycline, an antibiotic with inhibitory effects on microglial activation, sharpen a sense of trust in social interaction? *Psychopharmacology*, 220(3): 551-557, 2012

Tateno M, Park TW, Kato TA, Umene-Nakano W, Saito T: Hikikomori as a possible clinical term in psychiatry: a questionnaire survey. *BMC Psychiatry* 12:169, 2012

Hayakawa K, Kato TA, Kojiro M, Monji A, Kanba S: Minocycline, a microglial inhibitor, diminishes terminal patients' delirium? *American Journal of Geriatric Psychiatry*, 22(3), 314-315, 2014

Watabe M, Kato TA, Tsuboi S, Ishikawa K, Hashiya K, Monji A, Utsumi H, Kanba S: Minocycline, a microglial inhibitor, reduces 'honey trap' risk in human economic exchange. *Scientific Reports* 3, 1685, 2013

Kato TA, Balhara YPS, Chawla JM, Tateno M, Kanba S: Undergraduate medical students' attitudes toward psychiatry: an international cross-sectional survey between India and Japan. *International Review of Psychiatry*, 25 (4), 378-384, 2013

Seki Y, Kato TA, Monji A, Mizoguchi Y, Horikawa H, Sato-Kasai M, Yoshiga D, Kanba S: Aripiprazole and minocycline, but not haloperidol, suppress oligodendrocyte damage from interferon- γ -stimulated microglia in co-culture model. *Schizophrenia Research*, 151(1-3), 20-28, 2013

Fujisawa D, Suzuki Y, Kato TA, Hashimoto N, Sato R, Aoyama-Uehara K, Fukasawa M, Tomita M, Watanabe K, Kashima H, Otsuka K: Suicide intervention skills among medical residents. *Academic Psychiatry*, 37(6):402-407, 2013

- Umene-Nakano W, Kato TA, Kikuchi S, Tateno M, Fujisawa D, Hoshuyama T, Nakamura J: Nationwide Survey of Work Environment, Work-Life Balance and Burnout among Psychiatrists in Japan. *8(2): e55189, 2013*
- Kato TA, Kanba S: Are microglia minding us? Digging up the unconscious mind-brain relationship from a neuropsychanalytic approach. *Frontiers in Human Neuroscience, 7, 13, 2013*
- Kato TA, Hayakawa K, Monji A, Kanba S: Missing and Possible Link between Neuroendocrine Factors, Neuropsychiatric Disorders and Microglia. *Frontiers in Integrative Neuroscience, 7: 53, 2013*
- Kato TA, Watabe M, Kanba S: Neuron-glia interaction as a possible glue to translate the mind-brain gap: A novel multi-dimensional approach toward psychology and psychiatry. *Frontiers in Psychiatry (Frontiers in Neuropsychiatric Imaging and Stimulation), 4, 139, 2013*
- Monji A, Kato TA, Mizoguchi Y, Horikawa H, Seki Y, Kasai M, Yamauchi Y, Yamada S, Kanba S: Neuroinflammation in schizophrenia especially focused on the role of microglia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry, 42, 115-121, 2013*
- Isomura S, Monji A, Sasaki K, Baba S, Onitsuka T, Ohara T, Mizoguchi Y, Kato TA, Horikawa H, Seki Y, Kanba S: A case of FTD with catatonia-like signs that temporarily resolved with zolpidem. *Neurology: Clinical Practice, 3:354-357, 2013*
- 加藤隆弘, 大塚耕太郎, 鈴木友理子, 藤澤大介, 佐藤玲子, 青山久美, 橋本直樹, 鈴木志麻子, 神庭重信: こころの応急対応 (メンタルヘルス・ファーストエイド) ー日常臨床場面における、うつ病の早期介入と自殺予防ー. *臨牀と研究, 91(2), 289-294, 2014*
- 加藤隆弘, 神庭重信: ミクログリアと精神疾患. *生命の科学, 65(1), 37-42, 2014*
- 早川宏平, 加藤隆弘, 神庭重信: 精神免疫学から観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*
- 加藤隆弘, 館農勝, 新福尚隆, 神庭重信: ひきこもりに関する初の国際共同調査の紹介: ひきこもりは海外にも存在するのか? *精神神経学雑誌, SS529-SS540, 2013*

加藤隆弘: 精神分析と脳科学 — ミクログリアは『死の欲動』の起源か? —. 臨床精神病理, 34 (2), 233-240, 2013

大塚耕太郎, 鈴木友理子, 藤澤大介, 加藤隆弘, 佐藤玲子, 青山久美, 橋本直樹, 鈴木志麻子, 黒澤美枝: Mental Health First Aid-Japan チームの活動について. 精神神経学雑誌, 115(7), 792-796, 2013

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*, Fetters 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

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

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-HT2A and D1-NMDA Receptors in the mPFC. *Neuropsychopharmacology* 40 (3):601-13, 2015

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

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 (FBX045) in schizophrenia. *Schizophr Res* 157 (1-3):149-56, 2014

Takahashi T, Nakamura Y, Nakamura Y, Aleksic B, Takayanagi Y, Furuichi A, Kido M, Nakamura M, Sasabayashi D, Ikeda M, Noguchi K, Kaibuchi K, Iwata N, Ozaki N, Suzuki M: The polymorphism of YWHAE, a gene encoding 14-3-3epsilon, and orbitofrontal sulcogyral pattern in patients with schizophrenia and healthy subjects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 51C 166-171, 2014

Shishido E, Aleksic B, Ozaki N: Copy-number variation in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* 68 (2):85-95, 2014

Morita T, Senzaki K, Ishihara R, Umeda K, Iwata N, Nagai T, Hida H, Nabeshima T, Yukawa K, Ozaki N, Noda Y: Plasma dehydroepiandrosterone sulfate levels in patients with major depressive disorder correlate with remission during treatment with antidepressants. *Hum Psychopharmacol* 29 (3):280-286, 2014

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

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

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, Chiocchetti 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, Klevzon 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

Shiino T, Koide T, Kushima I, Ikeda M, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Aleksic B, Banno M, Kikuchi T, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Okada T, Inada T, Ujike

Iidaka T, Suzuki M, Iwata N, Ozaki N: Common variants in *bc19* gene and schizophrenia in a Japanese population: Association study, meta-analysis and cognitive function analysis. *J Med Biochem* 32 (4):351-357, 2013

Niwa M, Jaaro-Peled H, Tankou S, Seshadri S, Hikida T, Matsumoto Y, Cascella NG, Kano S, Ozaki N, Nabeshima T, Sawa A: Adolescent stress-induced epigenetic control of dopaminergic

- neurons via glucocorticoids. *Science* 339 (6117):335-9, 2013
- Miura H, Ando Y, Noda Y, Ozaki N, Isobe K: Effects of Minocycline on Changes in Brain Tryptophan Metabolism and the Behavior of Juvenile Mice Elicited By Inescapable-Predator Stress. *J Trauma Stress Disor Treat* 2 (3):2013
- Aleksic B, Kushima I, Ohye T, Ikeda M, Kunimoto S, Nakamura Y, Yoshimi A, Koide T, Iritani S, Kurahashi H, Iwata N, Ozaki N: Definition and refinement of the 7q36.3 duplication region associated with schizophrenia. *Sci Rep* 3 2587, 2013
- Aleksic B, Kushima I, Hashimoto R, Ohi K, Ikeda M, Yoshimi A, Nakamura Y, Ito Y, Okochi T, Fukuo Y, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Ujike H, Suzuki M, Inada T, Takeda M, Kaibuchi K, Iwata N, Ozaki N: Analysis of the VAV3 as Candidate Gene for Schizophrenia: Evidences From Voxel-Based Morphometry and Mutation Screening. *Schizophr Bull* 39 (3):720-8, 2013
- Torii Y, Iritani S, Sekiguchi H, Habuchi C, Hagikura M, Arai T, Ikeda K, Akiyama H, Ozaki N: Effects of aging on the morphologies of Heschl's gyrus and the superior temporal gyrus in schizophrenia: A postmortem study. *Schizophr Res* 134 (2-3):137-42, 2012
- Kushima I, Nakamura Y, Aleksic B, Ikeda M, Ito Y, Shiino T, Okochi T, Fukuo Y, Ujike H, Suzuki M, Inada T, Hashimoto R, Takeda M, Kaibuchi K, Iwata N, Ozaki N: Resequencing and Association Analysis of the KALRN and EPHB1 Genes And Their Contribution to Schizophrenia Susceptibility. *Schizophr Bull* 38 (3):552-60, 2012
- Koide T, Banno M, Aleksic B, Yamashita S, Kikuchi T, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Kushima I, Nakamura Y, Okada T, Ikeda M, Ohi K, Yasuda Y, Hashimoto R, Inada T, Ujike H, Iidaka T, Suzuki M, Takeda M, Iwata N, Ozaki N: Common Variants in MAGI2 Gene Are Associated with Increased Risk for Cognitive Impairment in Schizophrenic Patients. *PLoS One* 7 (5):e36836, 2012
- Koide T, Aleksic B, Kikuchi T, Banno M, Kohmura K, Adachi Y, Kawano N, Iidaka T, Ozaki N: Evaluation of factors affecting continuous performance test identical pairs version score of schizophrenic patients in a Japanese clinical sample. *Schizophr Res Treatment* 2012 970131, 2012