

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))

双極性障害の神経病理学に基づく診断法の開発  
平成26年度 総括研究報告書

研究代表者 加藤忠史  
独立行政法人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

平成27(2015)年3月

研究要旨:

福島県立医科大学では、ブレインバンク事業において、双極性障害患者の生前登録を進め、2015年3月までに、35名の双極性障害患者が登録された。登録者の分布は、北海道から九州まで全国に及んでいた。一方、実際の死後脳の集積に関しては、2015年3月現在で、6名の双極性障害患者の脳が集積された。

国立精神・神経医療研究センターでは、リサーチリソースネットワークおよび高齢者ブレインバンクの双極性感情障害例の過去の13症例を見直し、タウオパチーをはじめとする神経変性疾患が一部にあることを報告した。また、生前同意登録システムに基づくブレインバンクに精神疾患を加えるべく倫理申請を行った。

高齢者ブレインバンクでは、これまで行ってきた気分障害の病歴に関する後方視的な病歴確認に加え、本年度から、認知症スクリーニングにGeriatric Depression Scaleを加えることにより、前方視的検討も開始した。後方視的に大うつ病の病歴を確認した6例について検討したところ、タウオパチー2例(嗜銀顆粒性疾患、神経原線維変化優位型老年性変化、1例ずつ)、脳血管障害2例、神経病理学的有意所見なし2例であった。双極性障害、うつ病で神経病理学的異常のない各二例をさらに検討したが、高感度免疫組織化学的検討において、対象タンパクを拡げても、異常所見は得られなかったことから、これらの神経病理学的異常を認めない症例の脳リソースは、気分障害の生物学的研究に貢献すると期待される。

理化学研究所脳科学総合研究センターでは、モデルマウスを用いて開発した、ミトコンドリアDNA(mtDNA)欠失に伴うシトクロムc酸化酵素(Cox)蛋白サブユニット減少を反映するCox陰性細胞を検出する方法をヒト死後脳に応用し、ヒト死後脳でCox陰性細胞を免疫組織化学的に検出する方法を確立した。マウスでCox陰性細胞が見られた候補部位に相同なヒト脳の部位を明らかにするため、抗カルレチニン抗体および抗アセチルコリンエステラーゼ抗体を用いた免疫染色により検討を行い、その解剖学的な特徴づけを進めた。双極性障害患者死後脳における予備的な検討を進め、双極性障害患者においても、Cox陰性細胞が存在する可能性が示唆された。

研究分担者

加藤忠史 独立行政法人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

村山繁雄 東京都健康長寿医療センター神経内科・  
バイオリソースセンター(高齢者ブレインバンク)部長

齊藤祐子 独立行政法人国立精神・神経医療センター臨床検査部 医長

國井泰人 福島県立医科大学医学部 講師

## A 研究目的

双極性障害は、躁状態、うつ状態を繰り返し、社会生活の障害を引き起こす重大な精神疾患である。他の精神疾患に比べて、比較的均一な一群であると考えられたことから、ゲノム研究、脳画像研究が進められてきたが、未だ確実な所見は乏しく、その原因については不明な点が多い。そのため、確実な生物学的診断法がなく、診断は面接によって行われるため、初発のうつ状態は大うつ病と診断せざるを得ない。そのため、潜在的な双極性障害患者において、抗うつ薬治療によって躁転・急速交代化などの問題が引き起こされる可能性があり、これが経過の悪化につながっている。初発時に双極性障害と診断できるような診断法の開発が急務である。

我々は、双極性障害患者における磁気共鳴スペクトロスコピー研究、死後脳研究、遺伝学研究、及び動物モデルの研究などから、双極性障害にミトコンドリア機能障害が関与することを示した。

さらに、平成21～23年度の厚生労働科学研究費（気分障害の神経病理学に基づく分類を目指した脳病態の解明）により、脳内の情動関連部位へのミトコンドリア機能障害細胞の蓄積が、気分障害の病態に関与する可能性を示した。一方、双極性障害患者死後脳と気分障害モデル動物の遺伝子発現解析により共通点を探索した結果、Sfpq/PSFが共通に変化していることを突き止めた(Kubota et al, 2010)。最近、SFPQがタウ遺伝子のスプライシングに関与することが見いだされ(Ray et al, J Mol Neurosci 2011)。リチウムがタウリン酸化酵素であるGSK-3の阻害作用を持つことと併せ、タウと双極性障害の関連が注目された。

村山らは、同研究費により気分障害患者の脳を蓄積し、最近、齊藤らと共に、タウ蓄積による嗜銀顆粒(Saito et al, JNEN 2004)が双極性障害患者死後脳で脳幹部などに多い可能性を示した。

死後脳において、特定の脳部位のこれらの変化が双極性障害に特異的な変化であることが確認されれば、双極性障害の脳画像診断が可能になると期待される。

本研究の目的は、双極性障害における局在性ミトコンドリア機能障害およびタウ蓄積の意義について、患者死後脳を用い、動物モデルと比較しながら明らかにすることである。

## B. 研究方法

本研究では、病態としては、ミトコンドリア機能障害とタウを中心として解析し、研究の手法としては、死後脳の収集と、その免疫組織化学的な解析に焦点を絞る。

加藤は、死後脳および動物モデルにおける定量的かつハイスループットな免疫組織化学的解析法を開発すると共に、モデルマウスを用いて、病変候補脳部位を同定する。一方、國井と共に、双極性障害患者の献脳登録の推進に向けて、啓発活動を行う。啓発活動は、これまでに進めてきた福島精神疾患ブレインバンクを基盤として、生物学的精神医学会のブレインバンク委員会と連携して進める。

村山、齊藤、國井は、各々が関わるブレインバンク（高齢者ブレインバンク、リサーチリソースネットワーク、福島精神疾患ブレインバンク）において、生前登録した患者の剖検を推進し、双極性障害患者の死後脳の蓄積を進めると共に、既に得られた試料を用いた神経病理学的な解析を行う。

（倫理面への配慮）

本研究については、参加施設の倫理委員会の承認を受けている。これらの研究においては、ヒトゲノム指針、死体解剖保存法など、関連の法規および指針を遵守して行う。

動物実験においては、施設内の動物実験委員会の承認を得て研究を進めると共に、3Rの原則に基づき、使用する動物を最小にすること、可能な限り代替法を利用すること、苦痛を軽減することに努める。

福島精神疾患ブレインバンクの生前登録者には、献脳について説明の上、書面にてインフォームドコンセントを得ると共に、家族の同意を得る。死亡後は家族のインフォームドコンセントに基づいて剖検を行う。剖検は、基本的に、東京都健康長寿医療センター、国立精神神経医療研究センター、福島県立医科大学の3カ所で行う。

国立精神神経医療研究センターにおける精神疾患患者の生前登録については、倫理委員会に申請中である。

## C. 研究結果

福島県立医科大学では、ブレインバンク事業において、双極性障害患者の生前登録を進め、平成27年3月までに、福島県内からの7名に加え、福島県外からも28名の登録を受け、合計35名の双極性障害患者が登録された。これは、生前登録者168名の20.8%を占めており、特に平成26年度に新規に生前登録された24名のうち双極性障害患者は13名(54%)にも上り、本研究の取り組みにより双極性障害患者の登録は大きく増加している。一方、実際の死後脳の集積に関しては、2015年3月現在で、6名の双極性障害患者の脳が集積された。これは、同ブレインバンクに脳が集積された50例の12%を占めている。6例のうち1名は悪性腫瘍に罹患したことを機に生前登録し、剖検に至ったケースであった。これらの症例の脳については、今後、神経病理学的な検討を進め、診断確定を行う予定である。

国立精神・神経医療研究センターでは、双極性障害では嗜銀顆粒のステージが高く、対照群に比して、若年より、高いステージの嗜銀顆粒を示すことが確認され、若年の双極性障害患者群においては嗜銀顆粒が扁桃核、縫線核、青斑核等に多いなどの特徴から、タウオパチーが一部の症例に関係していることがわかった。この所見を受け、国立精神・神経医療研究センターのバイオバンクと共同で、双極性障害を含めた精神疾患の症例における髄液中の総タウ、リン酸化タウ測定に関する共同研究の準備を開始した。一方、生前登録システムに基づくブレインバンクは現在神経疾患を対象としているが、実際は、精神疾患の方からの登録希望者が多いことから、まず国立精神・神経医療研究センター病院外来通院中の方を対象として、倫理委員会申請を行っている。準備段階の時点で、既に、生前登録を希望している者は、精神疾患で13名あり、そのうち双極性障害の方は6名である。

高齢者ブレインバンクでは、在宅高齢者支援救急総合病院の特質を生かし、高齢者コホート全体の死後脳リソースを構築している。リソースの中に気分障害も一定の頻度で存在することから、剖検例において、精神科専門医による病歴の後方視的な確認により、臨床診断を確認し、気分障害例の半脳凍結リソースの構築を行っている。今年度は、病歴確認により気分障害と診断された症例のうち、神経病理学

的に有意の病変を見だし得ない症例の抽出を試みた。高齢者ブレインバンク連続登録例中、気分障害の既往を持つ例の病歴を、ご遺族の同意を元に後方視的に収集し、うつ病、双極性障害と推定できる症例を抽出した。登録例は全例、高齢者ブレインバンクプロトコルに従い老化性蛋白の網羅的検討を行っている。それらの検討から、有意病変の得られない群を抽出した。それらの例にさらに抗p62、FUS抗体等通常のスクリーニングには含めていない抗体を用いた免疫染色を行うことで、何らかの差異が認められないかを検討した。

これまでに、双極性障害半脳凍結例4例(表1)、うつ病例6例が抽出された(表2)。

表1. 双極性障害

歳・性 脳重(g) 神経病理診断

1. 90・男 1,160 嗜銀顆粒性認知症
2. 67・男 1,325 著変なし
3. 79・男 1,266 皮質基底核変性症
4. 71・男 1,360 著変なし

表2. うつ病

歳・性 脳重(g) 神経病理診断

1. 77・男 1,240 脳梗塞
2. 78・男 1,170 微小血管障害変化
3. 90・男 1,186 嗜銀顆粒性認知症
4. 81・男 1,216 著変なし
5. 85・女 925 神経原線維変化優位型変化
6. 86・女 1,192 脳出血・梗塞

双極性障害は、タウオパチー2例、著変なし2例であった。またうつ病は、タウオパチー2例、脳血管障害2例、神経病理学的有意所見なし2例(微小血管障害例を含む)であった。有意な変性型老化性病変を欠く、双極性障害2例(症例2, 4)、うつ病2例(症例2, 4)に関し、p62、FUSによる免疫染色を行ったが、通常の陽性所見以外の異常な蓄積は認められなかった。

理化学研究所脳科学総合研究センターでは、気分障害モデルマウスを用いて開発した、ミトコンドリアDNA(mtDNA)欠失蓄積に伴い、mtDNAにコードされたシトクロムc酸化酵素(COX)蛋白サブユニットが減少している細胞(COX陰性細胞)を免疫組織化学的に検出する方法を用いて、視床室傍核においてmtDNA欠失が特に多く蓄積していることを見いだしたが、この所見を元に、COX陰性細胞をヒト死後脳で検出する方法の確立を進めた。

同じ所見が患者死後脳でも見られるかどうかを確認するには、マウスの視床室傍核と相同な部位がヒト脳でどこにあたるのかを明らかにする必要がある。そこで、ヒト視床室傍核の解剖学的特徴を明らかにするため、マウスでこの部位の同定に用いられている、抗カルレチニン抗体および抗アセチルコリンエステラーゼ抗体を用いた免疫染色を行って、その解剖学的な特徴付けを進めた結果、ヒト視床室傍核は、マウスと異なった形状を持つ可能性が示唆された。

#### D. 考察

啓発活動により、双極性障害患者の生前登録は確実に増加しており、実際に生前登録を経て剖検に至ったケースもあった。今後は、国立精神・神経医療研究センター病院でも生前同意システムに基づくブレインバンクを推進すべく、次年度中の倫理委員会承認を目指すと共に、啓発活動を行って行く予定である。

髄液中のタウについては、被検者が若いこともあり、上昇症例はわずかである可能性が高いが、今後、共同研究を行う予定である。

これまでの研究で、気分障害患者死後脳において老化性変性蛋白蓄積が見られることが明らかとなってきたが、これらの蓄積が原因なのか結果なのかは判断困難である。これらの変化を欠く症例については、気分障害の最上流の変化を示している可能性がある。今回神経変性疾患に伴う異常蛋白蓄積の検出に汎用されるようになったp62と、新たな異常蛋白であるFUSを用いて検出を試みたが、異常構造は見られなかった。これらの症例は、原因解明に貢献しうる可能性を持つ、貴重なリソースであると考えられ、今後多くの研究者に提供することにより、

研究が進展すると期待される。

ヒト視床室傍部の解剖学的な検証により、その形態が明らかになりつつあり、今後、視床室傍部についての神経病理学的な検討が可能になると期待される。今後、集積した双極性障害患者死後脳を用いて、候補部位である視床室傍核のミトコンドリア機能障害に関する神経病理学的な検討を進めていく予定である。

#### E. 結論

双極性障害患者死後脳の蓄積は困難な課題ではあるが、生前登録活動を通して啓発を進め、脳の集積も進みつつある。

最終年度には、双極性障害における視床室傍核のミトコンドリア機能障害についての検討をさらに進め、結論を得たい。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shioya A, Saito Y, Arima K, Kakuta Y, Yuzuriha T, Tanaka N, Murayama S, Tamaoka A. Neurodegenerative changes in patients with clinical history of bipolar disorders. *Neuropathology*. 2015 Mar 30.

Fuke S, Kametani M, Yamada K, Kasahara T, Kubota-Sakashita M, Kujoth GC, Prolla TA, Hitoshi S, Kato T. Heterozygous Polg mutation causes motor dysfunction due to mtDNA deletions. *Ann Clin Transl Neurol*. 2014 Nov;1(11):909-20.

Hasegawa, H., Liu, L., Tooyama, I., Murayama, S., Nishimura, M. The FAM3 superfamily member ILEI ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by destabilizing the

penultimate amyloid-beta precursor. *Nat Commun* 2014;5:3917

Ishibashi, K., Ishiwata, K., Toyohara, J., Murayama, S. and Ishii, K. Regional analysis of striatal and cortical amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci* 2014;40:2701-2706

Ito, S., Takao, M., Hatsuta, H., Kanemaru, K., Arai, T., Saito, Y., Fukayama, M. and Murayama, S. Alpha-synuclein immunohistochemistry of gastrointestinal and biliary surgical specimens for diagnosis of Lewy body disease. *Int J Clin Exp Pathol* 2014;7:1714-1723

Iwata, A., Nagata, K., Hatsuta, H., Takuma, H., Bundo, M., Iwamoto, K., Tamaoka, A., Murayama, S., Saito, T. and Tsuji, S. Altered CpG methylation in sporadic Alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation. *Hum Mol Genet* 2014;23:648-656

Matsumoto, H., Sengoku, R., Saito, Y., Kakuta, Y., Murayama, S. and Imafuku, I. Sudden death in Parkinson's disease: a retrospective autopsy study. *J Neurol Sci* 2014;343:149-152

Miyashita, A., Wen, Y., Kitamura, N., Matsubara, E., Kawarabayashi, T., Shoji, M., Tomita, N., Furukawa, K., Arai, H., Asada, T., Harigaya, Y., Ikeda, M., Amari, M., Hanyu, H., Higuchi, S., Nishizawa, M., Suga, M., Kawase, Y., Akatsu, H., Imagawa, M., Hamaguchi, T., Yamada, M., Morihara, T., Takeda, M., Takao, T., Nakata, K., Sasaki, K., Watanabe, K., Nakashima, K., Urakami, M., Ooya, T., Takahashi, M., Yuzuriha, T., Serikawa, K., Yoshimoto, S., Nakagawa, R., Saito, Y., Hatsuta, H., Murayama, S., Kakita, A., Takahashi, H., Yamaguchi, H., Akazawa, K., Kanazawa, I., Ihara, Y., Ikeuchi, T. and Kuwano, R. Lack of genetic association between TREM2 and late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population. *J Alzheimers Dis* 2014;41:1031-1038

Oikawa, N., Hatsuta, H., Murayama, S., Suzuki, A. and Yanagisawa, K. Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer's pathology on synaptic membrane lipids of human brains. *J Neurosci Res* 2014;92:641-650

Qina, T., Sanjo, N., Hizume, M., Higuma, M., Tomita, M., Atarashi, R., Satoh, K., Nozaki, I., Hamaguchi, T., Nakamura, Y., Kobayashi, A., Kitamoto, T., Murayama, S., Murai, H., Yamada, M. and Mizusawa, H. Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene. *BMJ Open* 2014;4:e004968

Sakurai, K., Tokumaru, A., Nakatsuka, T., Murayama, S., Hasebe, S., Imabayashi, E., Kanemaru, K., Takao, M., Hatsuta, H., Ishii, K., Saito, Y., Shibamoto, Y., Matsukawa, N., Chikui, E. and Terada, H. Imaging spectrum of sporadic cerebral amyloid angiopathy: multifaceted features of a single pathological condition. *Insights Imaging* 2014;5:375-385

Xie, C., Miyasaka, T., Yoshimura, S., Hatsuta, H., Yoshina, S., Kage-Nakadai, E., Mitani, S., Murayama, S. and Ihara, Y. The homologous carboxyl-terminal domains of microtubule-associated protein 2 and TAU induce neuronal dysfunction and have differential fates in the evolution of neurofibrillary tangles. *PLOS One* 2014;9:e89796

Yamada, M., Tanaka, M., Takagi, M., Kobayashi, S., Taguchi, Y., Takashima, S., Tanaka, K., Touge, T., Hatsuta, H., Murayama, S., Hayashi, Y., Kaneko, M., Ishiura, H., Mitsui, J., Atsuta, N., Sobue, G., Shimozawa, N., Inuzuka, T., Tsuji, S. and Hozumi, I. Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan. *Neurology* 2014;82:705-712

## 2. 学会発表

(国際学会)

Junya Matsumoto; Effects of the -141C Ins/Del Polymorphism in the Dopamine D2 Receptor Gene on the Dopamine system in the Striatum in Schizophrenia, Walter E Washington Convention Center, Washington,DC, November 18, 2014.

Murayama S, Saito Y, Members of the Brain Bank Committee, the Japanese Society of Neuropathology: 18<sup>th</sup> International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

Uchino A, Takao M, Saito Y, Sumikura H, Nakano Y, Hatsuta H, Nishiyama K, Murayama S: Incidence of TDP-43 proteinopathy in aging human brain. 18<sup>th</sup> International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

Murayama S, Saito Y: The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. Brain Conference 2014 The 3rd Congress of Asian Society of Neuropathology. November 6-8, 2014, Seoul, Korea

Kato T, Iwamoto K (2014) Neural genome analysis of bipolar disorder and schizophrenia. Symposium "Chromatin (Epigenetic) regulation of neuronal development." Neuroscience 2014, Japan, Yokohama, Sept. 12

#### (国内学会)

國井泰人;若手研究者育成プログラム・プログレスレポート,遺伝子多型と統合失調症脳内タンパク質発現の関連解析,第36回日本生物学的精神医学会・第57回日本神経化学会合同年会,奈良,2014/9/29-10/1

松本純弥、國井泰人、他;統合失調症でのドパミンD2受容体遺伝子多型による線条体ドパミンシステムへの影響,第36回日本生物学的精神医学会・第57回日本神経化学会合同年会,奈良,2014/9/29-10/1

國井泰人、他;全ゲノム遺伝子多型解析による統合失調症脳内ドパミン関連タンパク質発現プロファイルの予測,第10回日本統合失調症学会,東京,2015/3/27-28

加藤忠史、岩本和也(2014)双極性障害と統合失調症における脳ゲノミクス研究 第130回日本薬理学会関東部会シンポジウム2 「脳のマクロ機能や精神疾患を理解するための網羅的解析技術とマルチオミクスデータ解析」東京 2014年7月5日

#### H.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