

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「精神・神経疾患の分子病態理解に
基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
研究課題「BDNF機能障害仮説に基づいた
難治性うつ病の診断・治療法の創出」

研究終了報告書

研究期間 平成20年10月～平成26年3月

研究代表者：小島 正己
(独立行政法人・産業技術総合研究所
健康工学研究部門
バイオインターフェース研究グループ・
研究グループ長)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

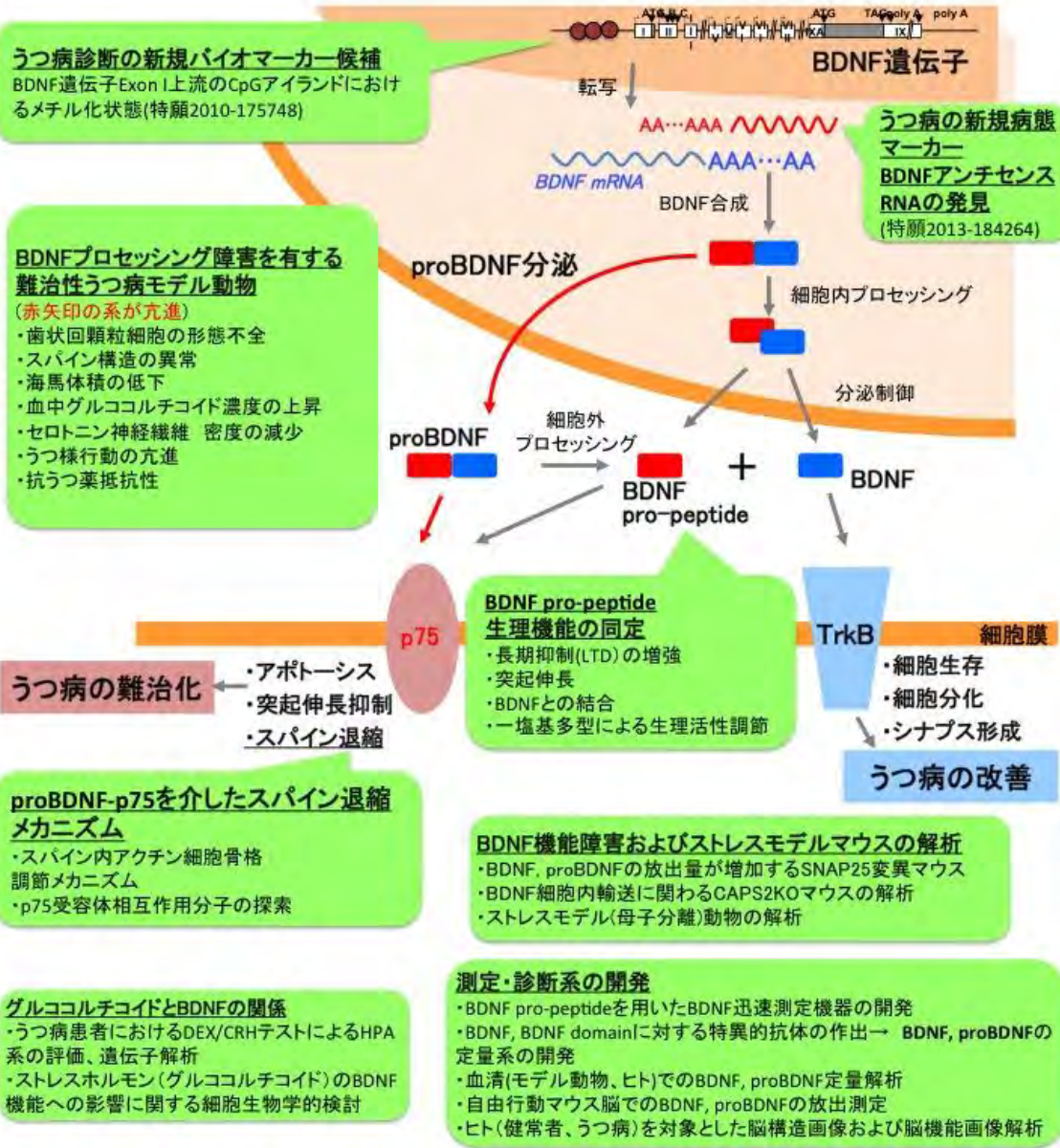
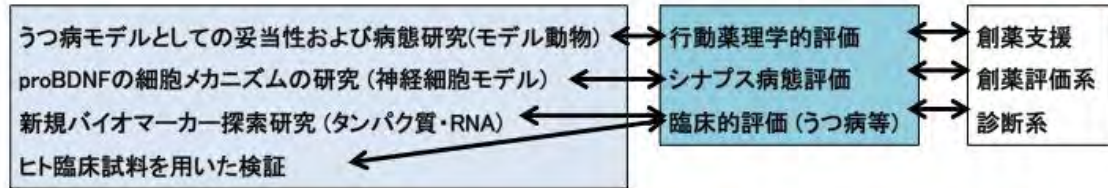
本研究課題では、BDNF の前駆体(proBDNF)から成熟体(mBDNF)へのプロセッシング障害、分泌障害といった BDNF の細胞メカニズムがうつ病の難治化やうつ病の特定の病態に関連するものと仮定し、その分子細胞病態の詳細解明、および、基礎研究者と精神科医の連携研究を行い、難治性うつ病の診断技術と治療法の開発を目指す。

うつ病における BDNF 仮説は、うつ病モデル動物において BDNF 発現が低下するという 1995 年の報告以来、重要かつ有望なうつ病仮説として検証が続いている。しかし、BDNF 自身の検出技術、臨床症状と BDNF 分子病態との関連解析の遅れ、うつ病に特有な複雑な精神病理などから、BDNF を指標としたうつ病の診断と創薬には、有用なモデル動物、バイオマーカーの創出を目指した基礎研究が第一であり、精査された臨床試料を用いた検証が重要となる。

産総研は、作製した BDNF プロセッシング障害マウスに、抗うつ薬抵抗性、海馬の萎縮、スパイン形態の異常、HPA 系の恒常的活性化、BDNF mRNA の発現低下に伴い誘導される新規 BDNF アンチセンス RNA の発見など、顕著な分子細胞病態を見出し、創薬スクリーニングへの有用性を示唆した。さらには、BDNF pro-peptide という新たな BDNF 分子種を発見し、BDNF と異なる細胞成長活性を見出した。開発研究では、特異性の高い BDNF 抗体類の整備を行い、バイオセンシング技術との融合から、血中 BDNF 濃度を 10 分以内に決定する新手法を作製した。分担研究グループからは、BDNF 分泌制御因子 CAPS2 と情動障害の関係が明らかになり、BDNF モノクローナル抗体が複数作製された。臨床研究グループからは、HPA 系とストレス対処法との関係、抗うつ薬抵抗性うつ病患者の海馬と前帯状回の有意な体積減少、うつ病診断の新指標になりうる BDNF ゲノムのメチル化パターンが見出された(図 1、3 頁)。

本研究課題への参画研究者は基礎研究と臨床研究の経験に富むが、本事業の目標の「診断・治療へ向けた新技術の創出」を実現するためには、国内外の研究者や産業界等とのネットワーク形成と連携は不可欠であった。研究期間後半では、モデルマウスの創薬研究への応用、BDNF 分子種に対する抗体を用いた BDNF 診断系の確立と臨床試料を用いた検証、BDNF 発現を 10 倍以上に増加させる BDNF アンチセンス RNA ベクターの開発、BDNF 迅速計測機器の開発と実証研究などにも国内外の研究者あるいは産業界と共に取り組んだ。そして、これらの研究と技術を蓄積した最終年度には、proBDNF のプロセッシング障害がヒトの難治性うつ病と関連する可能性が高いことを明確にできるかどうかという、本クレスト研究の成果を診断・治療法の創出につなげる上でクリティカルな研究を臨床研究者と共同で行い、BDNF とうつ病という科学的仮説からうつ病診断の確度を上げるべく客観的診断技術の確立を目指した。

図1 BDNF 機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の診断・治療法の創出



(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. *Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival.*

Molecular Brain 2, 1-19, 2009

Koshimizu, H. Kiyosue, K. Hara, T. Hazama, S. Suzuki, S. Uegaki, K. Nagappan, G. Zaitsev, E. Hirokawa, T. Tatsu, Y. Ogura, A. Lu, B and Kojima, M

概要:

中枢神経系の神経細胞において proBDNF は神経突起伸長、スパイン形成、細胞生存において負の調節を行っていることを明らかにした。成熟型 BDNF は上記について正の調節に働くことから、BDNF は前駆体、成熟体で相反する機能を担うことを示唆した。本論文は、掲載誌の 2009 年 No.1 論文に選ばれている (Selected as No. 1 of Molecular Brain in 2009 by the Editor-in-Chief)

2. *BDNF and its pro-peptide are stored in presynaptic dense core vesicles in brain neurons.*

J Cell Biol. 196, 775-788, 2012

Dieni S, Matsumoto T, Dekkers M, Rauskolb S, Ionescu MS, Deogracias R, Gundelfinger ED, Kojima M, Nestel S, Frotscher M, Barde YA.

概要:

内在的な BDNF 発現量は非常に少ないことから、多くの BDNF 研究が培養神経細胞、強制発現系を用いて機能解析している。しかしこの論文では、成獣マウス海馬の内在 BDNF の局在を抗 BDNF 抗体、産総研が作製した抗 BDNF プロドメイン抗体 (特許 4457216 号)、免疫組織化学、免疫電子顕微鏡、免疫沈降法等の手法を用いて、BDNF, proBDNF BDNF pro-peptide の三者の存在とその量比を解析している。

3. *Reduced axonal localization of a Caps2 splice variant impairs axonal release of BDNF and causes autistic-like behavior in mice, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109, pp.21104-21109, 2012*

Sadakata T., Shinoda, Y., Oka, M., Sekine, Y., Sato, Y., Saruta, C., Miwa, H., Tanaka, M., Itoharu, S., and Furuichi, T.

概要:

古市グループが注目している BDNF 分泌制御因子 Caps2 のスプライシングバリエントは BDNF のアクソンからの BDNF 放出を阻害し、そのバリエントの発現マウスは自閉症様の行動が顕在化していることが見出された。BDNF の分泌を制御するトランス分子はまだほとんど同定されていない。そのため、Caps2 の研究は世界的にも注目されており、本研究によりその分子ファミリーの役割の理解が進んだ。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 本研究では、BDNF の前駆体蛋白質 proBDNF に関する発明 (特願 2006-156879 特許 4457216 号) を軸として、proBDNF とうつ病の関係に注目した。BDNF のうつ病仮説 (Nester et al., Neuron, 2002) では神経伝達の構造基盤の障害が提唱されてきたが、その実体の解明は進んでいなかった。しかし、産総研チームは、proBDNF がスパイン退縮を促進する因子であることを見出し、作製した抗 proBDNF 抗体は proBDNF の定量解析や免疫沈降に有用であることも明らかにした。
2. 本研究では、BDNF プロセッシング障害マウスに関する発明 (特願 2005-177093、特許査定済み 2013/11/05) を軸にして、うつ病の病態解析を行った。proBDNF の高発現、抗うつ薬抵抗性、スパイン形態の異常、HPA 系の恒常的活性化など、顕著な分子細胞病態を示し、このモデルマウスの創薬スクリーニングへの有効性が強く示唆された。しかし、創薬研究を実現するため

には、うつ病患者の血中および死後脳における proBDNF の定量的解析は重要なフィジイビリティ試験であり、臨床医との連携によりその検証を進めている。

3. 特願 2010-175748 (出願日:平成 22 年 8 月 4 日)

発明の名称: 精神疾患の検査方法、精神疾患用の検査キット、ならびに精神疾患治療剤および/または予防剤の評価方法

発明者: 森信繁、淵上学、山脇成人 (広島大学大学院(広大 A) 山脇グループ)

概要:

一つの遺伝子を対象とした手法での生物学的指標に基づいた客観的判断基準による、精神疾患の検査方法、精神疾患用の検査キット、ならびに精神疾患治療剤および/または予防剤の評価方法を提供する。本発明の精神疾患の検査方法は、被験体から採取した試料の BDNF 遺伝子のエクソン I 上流の CpG アイランドにおけるメチル化状態を検出する検出工程、ならびに、当該試料のメチル化状態と、精神疾患の個体および非精神疾患の個体から採取した試料の BDNF 遺伝子のエクソン I 上流の CpG アイランドにおけるメチル化状態とを比較し、被験体が精神疾患か否かを検査する検査工程を含む。好ましくは、精神疾患は、うつ病および/または統合失調症である。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

①「産総研」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
小島 正己	(独)産業技術総合研究所	研究グループ長	H20.10～
広川 貴次	同上	研究グループ長	H20.10～
上垣 浩一	同上	研究グループ長	H20.10～
田和 圭子	同上	研究グループ長	H23.1～
清末 和之	同上	主任研究員	H23.9～
石川 保幸	同上	招聘型客員研究員	H23.4～
北畠 真子	同上	研究員	H20.10～
水井 利幸	同上	研究員	H21.7～
熊ノ郷 晴子	同上	産学官制度来所者	H21.4～
原 とも子	同上	テクニカルスタッフ	H20.10～H25.3
小西 明雄	同上	テクニカルスタッフ	H24.4～H24.9
三浦 峻維	同上	テクニカルスタッフ	H25.6～
谷間 祐一郎	大阪大学	M1	H25.4～
佐藤 茉莉	関西大学	M1～2	H23.9～
高見 享佑	大阪大学	M1～2	H24.4～H25.6
横田 佳樹	龍谷大学	M2	H23.9～H24.3
加藤 耕一	大阪大学	M1～2	H23.1～H24.3
延原 理幹	関西大学	M1～2	H23.1～H24.3
高雄 啓三	(独)産業技術総合研究所	招聘型客員研究員	H21.2～H23.3
江頭 良明	大阪大学	D2～3	H20.10～H22.3
ウルバンチク善子	(独)産業技術総合研究所	テクニカルスタッフ	H21.4～H22.3
柴山 厚子	同上	テクニカルスタッフ	H21.6～H21.11

研究項目

- ・BDNF機能障害の分子病態の解明と難治化うつ病の診断・治療法の開発

②「広島大学A」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
山脇 成人	広島大学	教授	H20.10～
森信 繁	同上	准教授	H20.10～
松本 知也	同上	特任助教	H22.4～
淵上 学	同上	研究生	H20.10～H23.12
瀬川 昌弘	同上	特任助教	H21.4～
岡田 怜	同上	D2～4	H23.4～
小澤 光一郎	同上	教授	H20.10～H23.3
山脇 洋輔	同上	研究生	H20.10～H22.3
木村 仁美	同上	M2	H21.4～H21.7
佐々木 綾	同上	D12	H21.4～H21.4

研究項目

- ・難治性うつ病の病態機序の解明と新規診断法の開発に関する基礎・臨床的研究

③「神経センター」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
功刀 浩	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	部長	H20.10～
沼川 忠広	同上	室長	H20.10～
太田 深秀	同上	室長	H22.10～
服部 功太郎	同上	室長	H23.4～
若林 千里	同上	ポスドク	H22.10～
堀 弘明	同上	ポスドク	H20.10～
安達 直樹	同上	ポスドク	H20.10～
ユン ヒョンシン	同上	ポスドク	H23.4～
寺石俊哉	同上	D1～4	H22.10～
篠山大明	同上	D1～3	H23.10～
藤井 崇	同上	ポスドク	H20.10～H23.3
千葉 秀一	同上	客員研究員	H20.10～H23.3

研究項目

- ・うつ病における HPA 系と BDNF 機能の役割に関する研究

④「北里大学」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
高橋 正身	学校法人北里研究所 北里大学医学部生化学	教授	H20.10～
板倉 誠	同上	講師	H20.10～
山森 早織	同上	助教	H20.10～
東 貞宏	北里大学医学部 実験動物学	助教	H20.10～
永田 悦子	北里大学医学部生化学	技術職員	H20.10～
菅谷 津貴子	同上	技術職員	H20.10～
渡辺 滋	同上	技術職員	H20.10～
熊ノ郷晴子	同上	特別研究員	H21.4～
安田 圭一	北里大学大学院 医療系研究科	D3	H21.4～H24.3

研究項目

- ・モデルマウスを用いた難治性うつ病の病態機序の解明と新規診断法の開発

⑤「東京理科大」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
古市 貞一	東京理科大学 (理化学研究所)	教授 (チームリーダー)	H23.4～ (H20.10～H23.3)
仙波 りつ子	東京理科大学 (理化学研究所)	客員研究員 (研究嘱託)	H23.4～ (H20.10～H23.3)
定方 哲史	群馬大学	助教	H23.4～

	(理化学研究所)	(研究員)	(H20.10~H23.3)
篠田 陽	東京理科大学	助教	H24.4~
林 周宏	武蔵野大学 (理化学研究所)	助教 (客員研究員)	H20.10~H25.3 (H20.10~H23.3)
三島百合子	理化学研究所	研究員	H21.12~H24.3

研究項目

・CAPS2によるBDNF分泌動態制御とうつ病神経ネットワーク障害の解析

⑥「広島大学B」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岡本泰昌	広島大学大学院医歯薬学総合 研究科精神神経医科学	准教授	H20.10~
吉村晋平	同上	特任助教	H24.10~H25.3
西山佳子	同上	D4	H23.4~
神人 蘭	同上	D4	H23.4~
高石佳幸	同上	研究補助員	H23.4~
土岐 茂	広島大学付属病院精神科	特任助教	H23.4~H23.12
岡田 剛	広島大学大学院医歯薬学総合 研究科精神神経医科学	研究員	H20.10~H23.6
出本吉彦	同上	D4	H20.10~H23.3
国里愛彦	同上	D3	H20.10~H23.3
青山志緒理	同上	D4	H20.10~H22.7
吉村晋平	同上	D4	H20.10~H22.3
吉野敦雄	同上	D4	H20.10~H22.3
小野田慶一	同上	ポスドク	H20.10~H21.4

研究項目

・脳画像解析法を用いた難治性うつ病の病態解明と新規診断法の開発

⑦「生理研」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
高雄 啓三	自然科学研究機構生理学研究所 行動・代謝分子解析センター (京都大学 生命科学系 キャリアパス形成ユニット)	特任准教授 (講師)	H23.3~ (H21.7~H23.3)
木瀬 環	同上	特定技術職員	H23.4~
今井 篤子	同上	技術支援員	H23.4~
石川 美香	同上	技術支援員	H23.4~
中木原 敦子	同上	技術支援員	H23.4~
大吉 とみ枝	同上	技術支援員	H23.4~H24.3
岩月 美緒	同上	技術支援員	H23.4~H24.9
中西 和男	京都大学 生命科学系 キャリアパス形成ユニット	教務補佐員	H21.7~H22.12
山田 建男	同上	技術補佐員	H21.7~H23.3

林真 理子	同上	技術補佐員	H21.7～H23.3
岡本 延子	同上	技術補佐員	H21.7～H22.3

研究項目

・難治性うつ病モデルマウスの行動学的解析

⑧「(独)国立病院機構災害医療センター」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
松岡 豊	(独)国立病院機構災害医療センター統括診療部第一外来部 (独)国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナル・メディカルセンター)	精神科医師 情報管理・解析部長	H25.4～
西 大輔	独立行政法人国立精神神経医療研究センター	室長	H19.10～
松村 健太	金沢大学	博士研究員	H20.4～
永岑 光恵	防衛大学校人文社会科学群人間文化学科	准教授	H24.4～
臼杵 理人	独立行政法人国立病院機構災害医療センター	精神科医師	H21.4～
浜崎 智仁	富山城南温泉第二病院	医師	H19.10～
橋本 謙二	千葉大学社会精神保健教育研究センター	教授	H19.10～
米本 直裕	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター	室長	H19.10～
中谷 直樹	鎌倉女子大学家政学部	講師	H23.4～
曾根 稔雅	東北福祉大学健康工学研究部門科学部	助教	H23.4～
浜崎 景	富山大学大学院医学薬学研究部	助教	H20.4～
野口 普子	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター	流動研究員	H19.10～
森田 沙奈恵	武蔵野大学心理臨床センター	研究生	H23.4～H25.3
岡登直子	武蔵野大学大学院人間社会研究科	大学院生 M2	H24.4～H25.3
宮崎 可奈	武蔵野大学心理臨床センター	研究生	H23.4～H24.3
佐久間香子	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター	研究生	H19.10～H23.3
佐野恵子	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター	研究生	H19.10～H23.3
坏京子	独立行政法人国立病院機構災害医療センター	研究補助員	H19.10～
鴨志田由美子	独立行政法人国立病院機構災害医療センター	研究補助員	H20.4～
大友 康裕	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科	教授	H20.5～

稲垣 中	慶應義塾大学大学院健康マネジメント研究科	准教授	H20.5～
中林 哲夫	独立行政法人医薬品医療機器総合機構 新薬審査第三部	審査専門員	H21.4～
寺尾 岳	大分大学医学部精神神経学講座	教授	H23.4～
池下 克美	奈良県立医科大学精神医学講座	助教	H23.4～

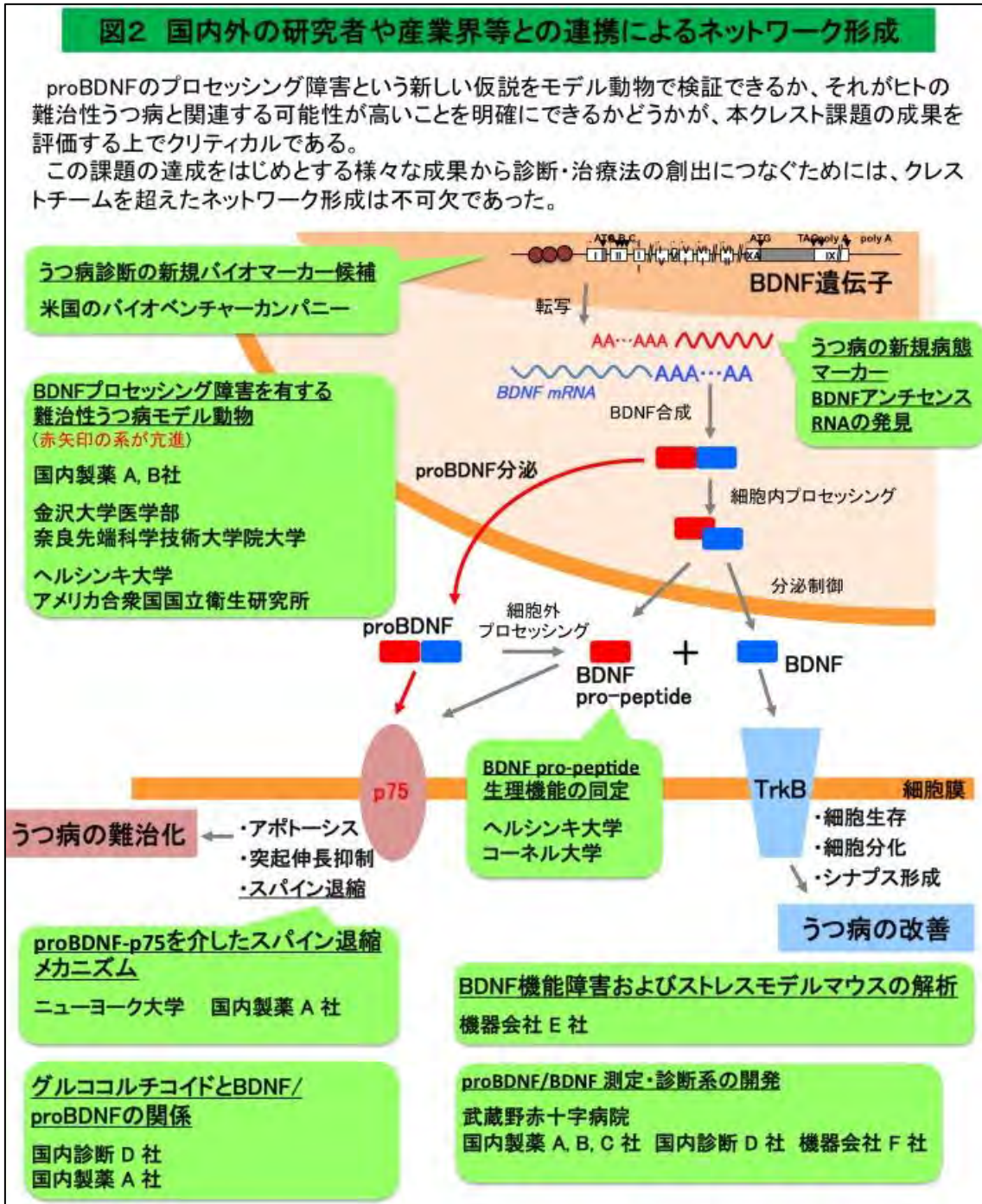
研究項目

- ・不飽和脂肪酸による PTSD 予防法の開発ならびに BDNF の PTSD に及ぼす影響の検討

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

proBDNF のプロセッシング障害という新しい仮説をモデル動物で検証できるか、それがヒトの難治性うつ病と関連する可能性が高いことを明確にできるかどうか、本クレスト研究の成果を評価する上でクリティカルであり、診断・治療法の創出につながる。

そのために、国内外の BDNF 研究、動物行動学、行動薬理学、うつ病以外の臨床研究、応用物理学などを専門とする国内外の研究者・製薬メーカーをはじめとする産業界とのネットワーク形成を行い、上記の達成を目指した。



§ 3 研究実施内容及び成果

3.1 BDNF機能障害の分子病態の解明と難治化うつ病の診断・治療法の開発 (産総研グループ)

(1)研究実施内容及び成果

BDNF プロセッシング障害マウスの難治性うつ病モデルとしての妥当性

1) BDNF プロセッシング障害マウスのセロトニン繊維と情動行動

研究代表者が開発した BDNF プロセッシング障害マウスは、proBDNF→mBDNF の反応効率が著しく低下しており、尾懸垂試験においては顕著な抑うつ様行動を示した。さらに、proBDNF 組換え蛋白質を投与した培養海馬神経細胞ではスパイン密度の顕著な低下が見出された (A-1)。

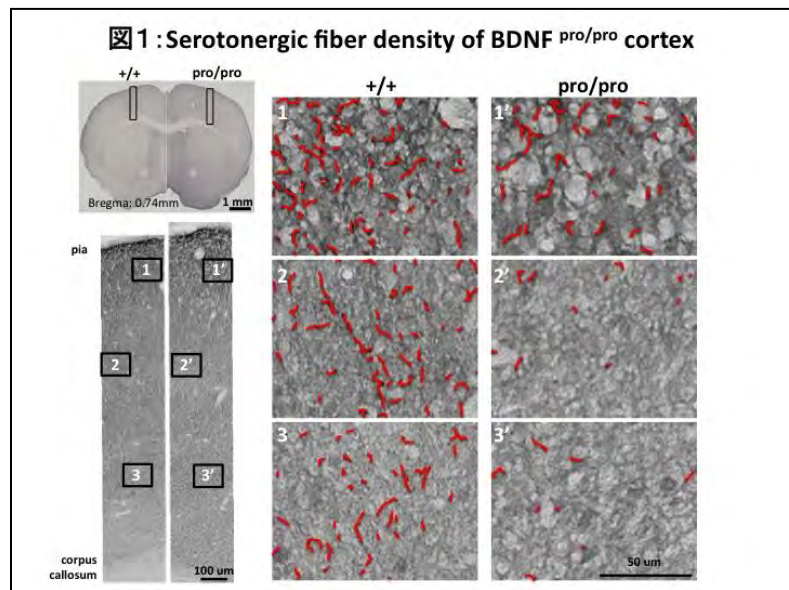
同マウスは、抗うつ薬スクリーニングに使用される尾懸垂試験での不動時間(抑うつ症状の指標)が長い。本年度は、様々な研究手法を用いて、当該マウスの難治性うつ病モデルとして妥当性を評価した。

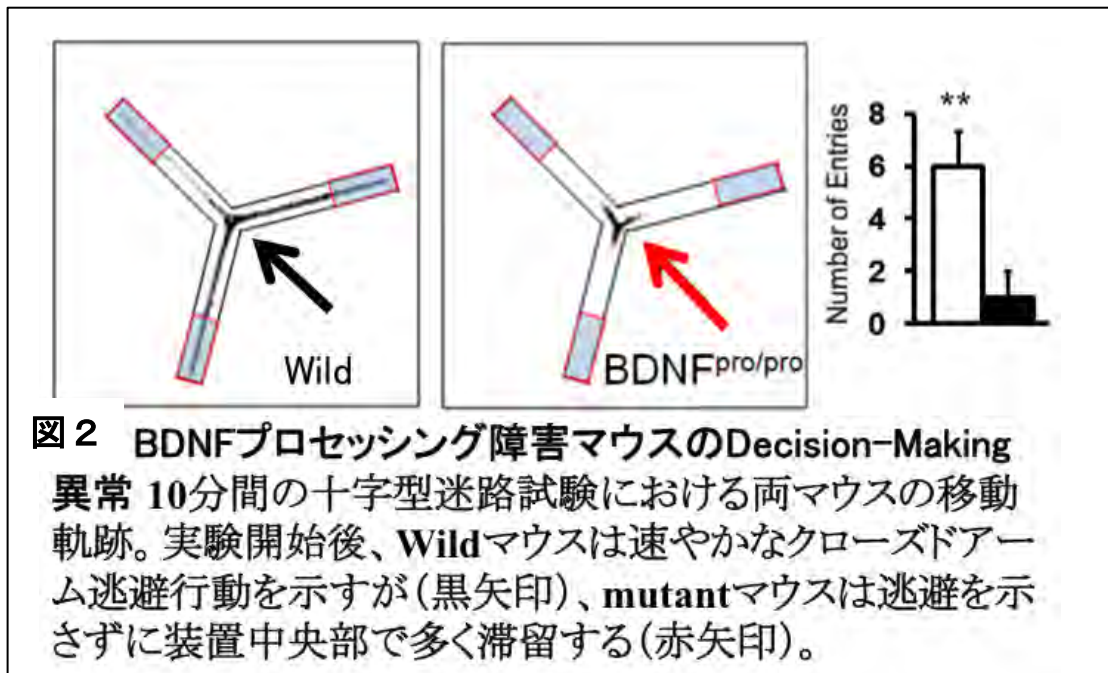
- BDNF^{pro/pro} マウスの抑うつ症状は強制水泳と尾懸垂の両試験から確認された。(両試験は逃避不可能なストレスを負荷した時の活動低下を測定する)
- ヘテロ接合体(BDNF^{pro/+})の不動時間は BDNF^{+/+}と BDNF^{pro/pro} の中間となり、モデルマウスの抑うつ症状には導入遺伝子の用量依存性が見いだされた。
- 連日の強制水泳によるストレスがヘテロ接合体マウス(BDNF^{pro/+})の抑うつ症状を亢進した。つまり、proBDNF がうつ病発症リスクである可能性を示唆した。
- BDNF^{pro/pro} マウスのセロトニン神経繊維密度は顕著に減少しており(図1: pro/pro の赤)、抗うつ薬抵抗性モデルの可能性を示唆した。
- 複数メーカーの BDNF 抗体を用いたウエスタンブロット解析から、BDNF^{pro/pro} マウス脳のプロBDNF 発現過剰を確認し、神経回路形成の異常や細胞内シグナル伝達の障害を見いだした。

2) BDNF 発現および DNA アレイ解析を用いた抗うつ薬抵抗性関連遺伝子の探索

BDNF プロセッシング障害および抗うつ薬抵抗性に関する遺伝子を探索するために、DNA アレイ解析を行い、有意

な変動を示す 140 遺伝子を見出した。これらの遺伝子 Taqman Expression Assay を行い、BDNF プロセッシング障害および抗うつ薬抵抗性に関与する遺伝子の同定を進めている。一方 BDNF 遺伝子の発現に関しては、BDNF^{pro/pro} マウスは顕著な低下を示した。BDNF の発現低下はうつ病においては重要な分子病態と考えられてきた。この結果は、proBDNF>mBDNF あるいは proBDNF シグナルが BDNF の遺伝子発現と関係している可能性を示唆している。





3) BDNF プロセッシング障害マウスの精神運動抑止 (産総研) (図 2)

BDNF プロセッシング障害モデルマウスの網羅的行動解析研究を宮川剛博士(藤保衛大/JST CREST)高雄啓三博士(生理研-京大)と共同で進めた。その結果、両博士のこれまでの研究では見出されなかった著しい行動表現型、つまり、マウスはY迷路中央で conflict していた(図2)。この時の神経活動マーカーc-Fos 陽性細胞数をカウントしたところ、conflict 課題直後のうつ患者のように帯状回前部・内側前頭前野の神経活動が低下していることが見出された。

4) BDNF プロセッシング障害マウスの細胞病態と抗うつ薬抵抗性

BDNF プロセッシング障害に伴う proBDNF の過剰から誘引される細胞障害等を解析し、SSRI 抗うつ薬に対する抵抗性、ストレスホルモンであるコルチコステロンの血中濃度の恒常的上昇とそれに伴う副腎湿重量の増加、BDNF アンチセンス RNA の発現増加などを見出した。

これらの結果は、本モデルマウスの抗うつ薬抵抗性モデルマウスとしての新規性、proBDNF/p75 シグナリングとうつ様行動とストレスとの関係、さらにはうつ病仮説に新たな創薬ターゲット・バイオマーカーとしての役割を示唆する。(A-2 再投稿)。今後は、うつ病難治化の脳内責任部位と分子病態の解明、難治化うつ病と意思決定障害の関係の解明を目指す。

BDNF 分子種に対する抗体と定量技術の開発

成熟型 BDNF のモノクローナル抗体の作成を行い、4クローン(2A1、2B3、2H4、3E12)を得た。2B3 については大量培養した無血清培地から硫酸沈殿で精製抗体を調整した(北里大学のグループと共同研究)。平成 21 年度に作製した BDNF プロドメインに対する抗体は、内在性 BDNF pro-peptide を特異的に検出する抗体であった(A-3、A-4)。プロドメイン特異抗体の作成では、繰り返しフュージョンを行ってモノクローナル抗体の作成を試みている。モノクローナル抗体は(#1、#3、#10)の3種を単離し各抗体の使用目的を決定した(特許出願準備中)。

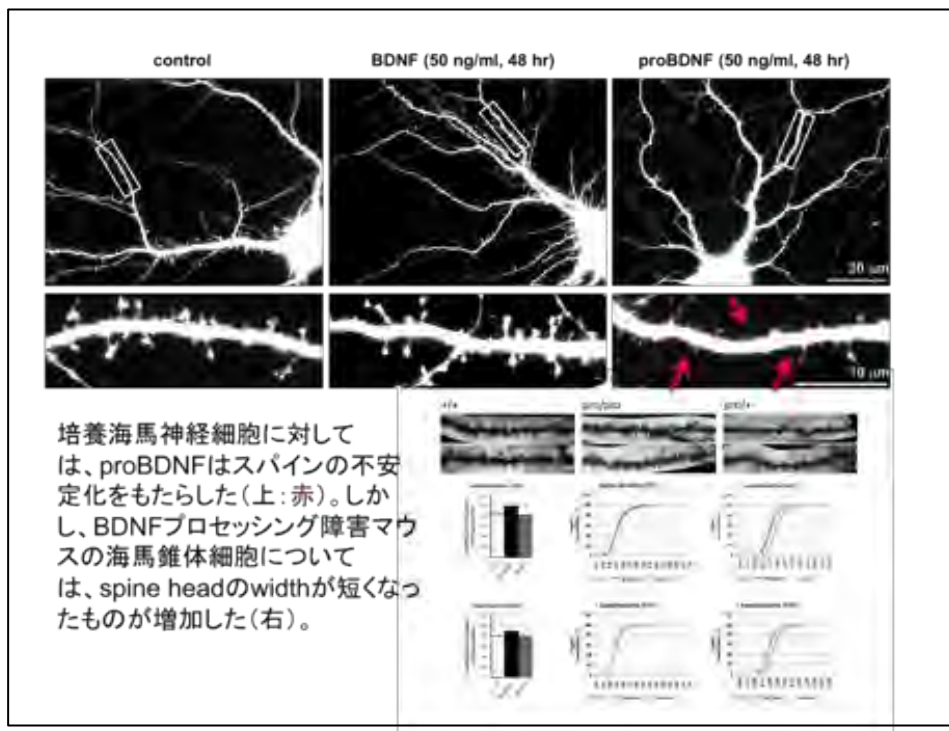
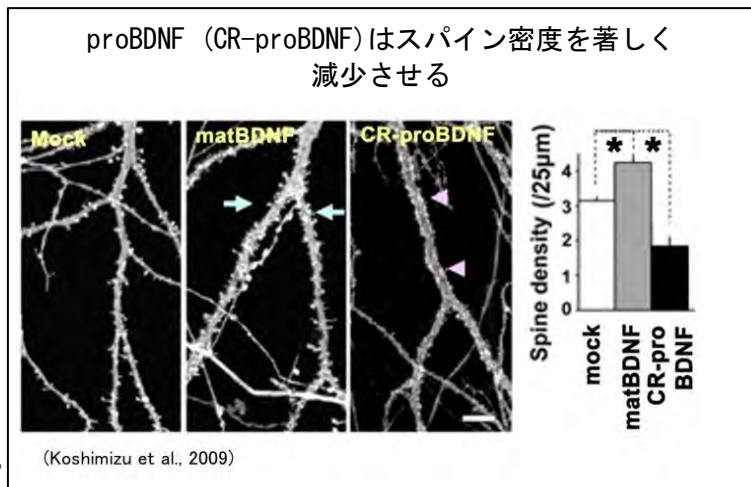
さらには、ヒト死後脳試料において proBDNF 反応性を確認する抗体も含まれており、将来の病態研究への応用が期待される(この一文の非公開を希望)。これらのモノクローナル抗体を用いて proBDNF および mBDNF を得意的に認識し定量化を可能にする ELISA の構築を現在進めている。また、病理切片を用いた免疫組織化学の研究も開始し、事項のスパイン退縮との関係などの解明を目指している。

proBDNF によるシナプス形態制御調節メカニズムの研究

1) proBDNF によるスパイン退縮

うつ病における神経可塑性仮説が提唱されている (Krishnan & Nestler, Nature, 2008)。研究グループは proBDNF が培養海馬神経細胞のマッシュルーム様スパイン密度を顕著に低下させ、シナプス伝達効率を減少させることを報告した (A-1, 右図)。低密度培養海馬神経細胞系 (バンカー法) においても、同様に proBDNF によるスパイン退縮作用が観察される (A-5)。この系を用いた time-lapse

imaging 研究では、proBDNF はスパイン構造を急速に不安定化させることを見いだした。(A-6 Mizui et al., 論文準備中)。さらに、BDNF^{pro/pro} マウス海馬におけるスパイン形態をゴルジ染色法によりスパインを可視化し、形態学的解析を検討した。その結果、*in vitro*と同様に、*in vivo*においても、proBDNF 高発現によってスパインヘッドのサイズが減少していることを明らかになった (下図)。これらの知見は、proBDNF がシナプス形態を調節する制御分子であることを示しており、病態におけるシナプス機能の脆弱性に関する研究に大きな貢献を果たす可能性を示している。



2) proBDNF によるスパイン退縮作用の分子メカニズムの解明

proBDNF によるスパイン退縮において分子メカニズムの検討を行った。具体的には、proBDNF の受容体である p75 受容体のノックアウトマウスを用いて、proBDNF のスパイン退縮作用を検証した。p75 ノックアウトマウスから作製した低密度培養海馬神経細胞では proBDNF のスパイン退縮効果が

認められなかった。これは、proBDNF のスパイン退縮作用に p75 受容体の活性化が必要であることを示している。

スパインの形態は、アクチン細胞骨格が主体となりその形が制御されていることが知られている ((2)その他の著作物(総説、書籍など、産総研-1))。そこで、proBDNF によるスパイン退縮メカニズムにアクチン細胞骨格系が関与しているかどうかを細胞化学的・薬理的に検討した。その結果、proBDNF は p75 受容体の活性化を介しスパイン内部のアクチンフィラメントの含量を低下させること、さらに、アクチンフィラメント安定化剤によって proBDNF の効果が阻害されることを見いだした。これらの知見は、proBDNF-p75 シグナリングがスパイン内部のアクチン細胞骨格系を制御している可能性を示唆する。

3) proBDNF によるスパイン退縮の細胞内メカニズム

proBDNF はスパイン内部のアクチン細胞骨格に作用し、スパイン形態を制御していることを示してきた。また、これらの proBDNF の効果が p75 受容体の活性化を必要とすることも見出してきた。p75 受容体は small GTPase シグナリングを介し、細胞死などの生理機能を果たしていることが知られている。proBDNF のシグナル伝達に関しては、p75-RacGTPase を介したシグナルを小脳顆粒神経細胞の培養系を用いて明らかにしている (A-7)。BDNF によるスパイン進展については、そのシグナリングを NGF で活性化しうるベクターの開発に成功し (A-8)、BDNF と proBDNF の関係について総説にまとめた ((2)その他の著作物(総説、書籍など、産総研-2))。最後に、細胞間接着に関与する分子 BIT/SHPS-1 が BDNF シグナルを増強することを見出し、BDNF の抗うつ作用との関係が期待された (A-9)。

小脳顆粒細胞の培養系において、proBDNF は p75-RacGTPase シグナリングを調節していることを示したが、海馬由来の培養神経細胞において proBDNF は細胞死を誘導しない。これは異なる細胞内調節機構が存在していることを示している。そこで、proBDNF のスパイン退縮作用における proBDNF-p75 シグナリング下流の分子メカニズムについての解明を試みた。

スパイン内部のアクチン細胞骨格の調節メカニズムにはさまざまな調節分子群が関わっていることが知られている。そこで、アクチン細胞骨格を調節するコフィリンダイナミクスが proBDNF-p75 シグナリングに関連するかどうかを生化学的に検討した。proBDNF を処理した培養細胞において、リン酸化コフィリンの発現レベルが減少していることを見いだした。pro/pro マウス海馬におけるリン酸化コフィリンの発現レベルも同様に減少していた。これらの結果は proBDNF-p75 シグナリングがコフィリンのリン酸化レベルを調節しうる可能性を示している。

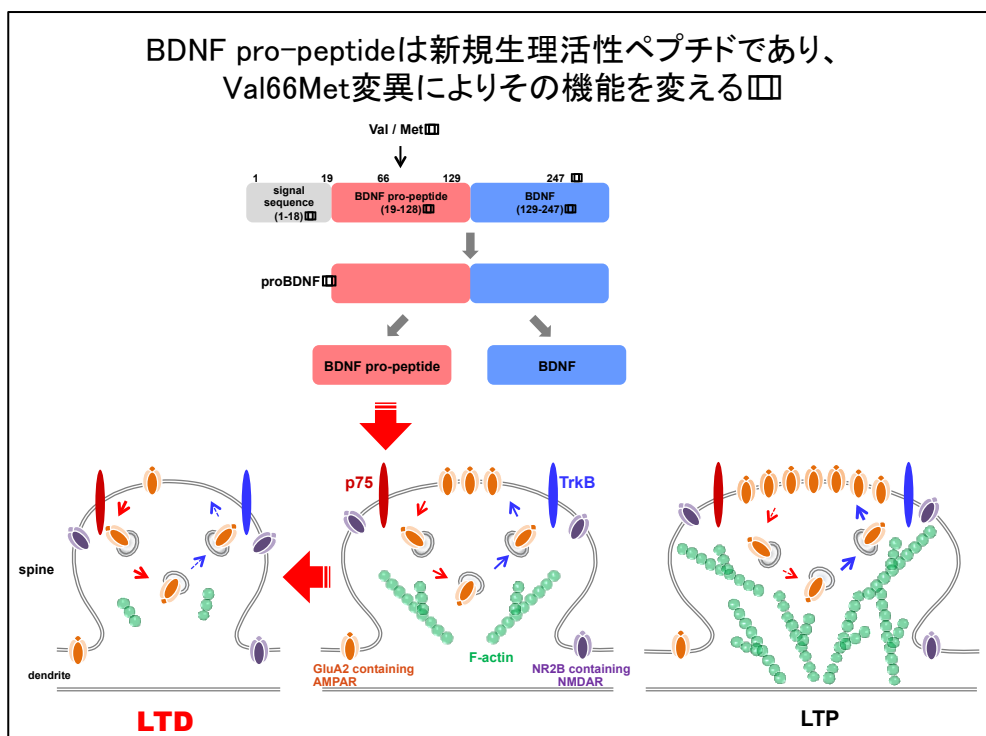
4) p75 受容体相互作用分子の探索

上述のように、proBDNF による p75 受容体の活性化が、コフィリンなどのアクチン細胞骨格関連分子を調節し、その結果これらのシグナリングがスパイン退縮メカニズムに寄与している可能性がある。そこで、p75 受容体に相互作用する分子群を網羅的に質量分析の手法を用いて同定することを試みた。この解析は現在進行中である。

BDNF pro-peptide は LTD を亢進する新規生理活性ペプチドである

proBDNF→mature BDNF+BDNF pro-peptide というプロセッシング反応は、多くの成長因子の活性化に共通するメカニズムであるが、mBDNF と同時に産生される pro-peptide の生理機能の研究は進んでいない。産総研グループは、pro-peptide に対する抗体、組換え型を用いた研究から、2点を見出した。BDNF の発見者である Y.-A. Barde との共同研究により、内在性 BDNF pro-peptide がシナプス前部に存在することを示した (A-10)。

放出された BDNF pro-peptide はシナプス伝達の長期抑圧を促進する因子であること、そのメカニズムとして、p75 を介するシグナル伝達が重要であること、一塩基多型による配列中のアミノ酸置換 (Val66Met) は BDNF pro-peptide の生理作用を変えることを見出した。研究代表者は、これまで BDNF 遺伝子上の一塩基多型の機能解析を進めてきた。本クレスト研究から見出した新たな研究展開を含め、この common variation の脳機能における役割は注目される (A-11, in revision)。



BDNF 迅速測定機器の開発:震災復興技術イノベーション創出実証研究事業(7 頁に詳細)

BDNF pro-peptide 研究(A-10, 11)および CREST 研究成果としての特許出願(特願 2010-123957)を用いたバイオセンサーチップの開発を東北大学との共同研究により論文化した(A-12)。さらには、これらの成果をもとに国内企業と共に日本発うつ病迅速診断機器の開発を行い、その実証試験を行なった(経産省、東北震災復興技術イノベーション創出実証研究事業)。

血中バイオマーカーとの関連研究

上記のように、BDNF 遺伝子のエクソン I, IV 上流のプロモーター上のメチル化パターンの解析系に加え、BDNF、proBDNF の高感度 ELISA が、平成 25 年度に完成した。現在は、広大 B が開発を進めている画像診断技術とこれらのマーカー測定技術の融合研究を24年度から全機関で開始している。

3. 2 難治性うつ病の病態機序の解明と新規診断法の開発に関する基礎・臨床的研究 (国立大学法人・広島大学大学院医歯薬保健学研究院 (広大 A) 山脇グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

難治性うつ病の危険因子と BDNF の相互作用の研究

(1) 母子分離(生後 50 日)(NI)ラットの学習性無力(LH)状態が、正常飼育ラットの LH 状態に比べて長期に持続することから、NI + LH ラットが遺伝子操作を用いないタイプの難治性うつ病モデルとなることを発見した。NI ラットの海馬及び大脳皮質前頭部での、BDNF、proBDNF 量を免疫沈降法と Western blot 法(研究項目 3において産総研が作製した proBDNF 抗体を使用)を用いて計測した結果、BDNF、proBDNF 量が海馬で亢進しており、BDNF プロセッシング障害が難治化に関与する可能性を示した。更に BDNF、TrkB 発現の減少、c) miR-103, 107 の発現は変化がみられないことを見出した。また、LH 状態となったラットでは母親となった後のその育児に問題があり、その子供の LH テストの結果にも影響した(B-1)。

(2) 難治性うつ病の治療に用いられる電気けいれん処置(ECT)をラットに行ったところ、抗うつ薬治療効果との違いとして proBDNF のプロセッシング酵素である tPA の発現や活性の亢進を見出し

た(B-6)。

(3) 単回拘束ストレス負荷を行ったラットの解析から、ストレスとBDNF転写量とヒストン蛋白質のアセチル化のレベルの関係、HDAC inhibitor の抗うつ薬作用に関する分子メカニズムを明らかにした(B-2,B-4,B-5)

難治性うつ病患者を基盤としたバイオマーカー開発

うつ病診断の新規バイオマーカー候補:BDNF 遺伝子メチル化クラスター

BDNF 遺伝子 promoter 上の 81 個の CpG についてそのメチル化状態を指標にした新たな難治性うつ病診断法 (MassARRAY System) を確立した。

うつ病患者・難治性うつ病(電気けいれん治療)患者・健康対照者の 3 群の末梢血 DNA を用いて、BDNF 遺伝子のエクソン I, IV 上流のプロモーター上のシトシン・メチル化パターンを解析した。その結果、エクソン I 上流の CpG アイランド内 81 個のメチル化のクラスターから、未治療うつ病群・難治性うつ病群・健康対照者群を分類できることが判明した。エクソン IV 上流の CpG のメチル化パターンでは、上記 3 群を分類することは出来なかった。更に、統合失調症群を対象にエクソン I 上流のメチル化の解析を行ったところ、そのクラスターパターンから、うつ病群(未治療うつ病 23 例・抗うつ薬治療中 18 例)・統合失調症群(40 例)・健康対照者群(18 例)を分類できることが分かった。Serotonin transporter (5-HTT) 遺伝子のエクソン 1 を含むプロモーター領域 (799 bp, 86 CpG) の DNA メチル化を、未治療うつ病 20 例・健康対照者 20 例で解析したが、BDNF とは異なり 2 群を分類することは出来なかった。以上の研究成果から、BDNF 遺伝子エクソン I の上流の CpG アイランドのメチル化パターンが精神疾患マーカーに成りうる可能性が発見され、特許出願と論文発表(特願 2010-175748, 文献 B-3) を行った。研究成果はプレス発表されたが、全国紙の一面での報道など社会的インパクトのある研究成果となった。今後は患者数を増やした検証が重要となる。

3.3 うつ病における HPA 系と BDNF 機能の役割に関する研究 ((独)国立精神・神経医療研究センター・疾病研究第三部 (神経セ) 功刀グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ストレスホルモン(グルココルチコイド)の BDNF 機能への影響に関する細胞生物学的検討

脳由来神経栄養因子 BDNF の機能低下とグルココルチコイド増加は、共にうつ病発症に関係するとされるが、両者の相互作用についてはほとんど分かっていない。そこで初代培養ニューロンを用い、グルココルチコイド暴露による BDNF、その受容体 TrkB や関連するシグナル伝達系について解析を行った。

グルココルチコイドに急性暴露された培養神経細胞では BDNF 刺激に対して TrkB→PLC/Ca²⁺ シグナル経路の特異的阻害が起こり BDNF 依存的グルタミン酸放出が低下していた。しかし、グルココルチコイド慢性暴露(4-5 日間)では、受容体 p75 が発現上昇し BDNF 依存的に細胞死が誘発された。つまり、慢性的グルココルチコイド暴露は、TrkB から p75 優位の細胞内シグナルへスイッチする可能性が示唆された。産総研グループが有する BDNF プロセッシング障害マウスでは血中グルココルチコイド濃度がコントロールマウスの 2 倍に上昇しているため、p75 を介するシグナルの増強が予想される。

また、グルココルチコイド過剰による神経細胞死について、グルココルチコイド曝露に起因した BDNF 依存的な神経細胞内の ERK シグナルの抑制が、フォスファターゼ shp2 と TrkB との結合の低下を原因とすることを明らかにした(C-18)。更に、以前我々は BDNF による miR132 の発現増加とそれによるシナプス蛋白質の増強がグルココルチコイドによって減少することを報告しているが、BDNF 以外の栄養因子による効果を神経細胞やグリア細胞を用いて解析した。その結果、線維芽細胞増殖因子(bFGF)が、神経、グリア細胞の双方に働きかけ、miR132 を増加させることを見出した(C-21)。

うつ病動物モデルの解析 (HPA 系、ドーパミン作動薬)

ステロイドホルモン剤プレドニゾロンをマウス投与することによってうつ病モデルができることを行

動薬理学的に明らかにした。その海馬のマイクロアレイ解析の結果、アポトーシス関連遺伝子が発現上昇していることを見出した(C-1)。

次に、BDNF の特異的受容体である TrkB とグルコルチコイド受容体(GR)とが相互作用することを細胞レベルで示してきたが、拘束ストレスを与えたラットの解析により、グルコルチコイド受容体の発現低下があることを明らかにした(C-25, 内藤カンファレンス ポスター賞)。

近年、治療抵抗性うつ病に対する新たな治療戦略としてドーパミン作動薬の可能性が指摘されている。われわれは、ラットの行動解析により、ドーパミン作動薬の1つカベルゴリンが抗うつ効果をもつこと、難治性うつ病モデルである Wistar-Kyoto ラットのうつ様行動に対して有効であること、カベルゴリンの慢性投与が BDNF の発現を高め、下流シグナル ERK を活性化することを明らかにした(C-3)。

そのほか、BDNF の低親和性受容体 p75 過剰発現動物の解析や、p75 に作用する低分子化合物の行動薬理学的解析は現在進行中である。

ヒトを対象とした遺伝子解析研究、HPA 系と BDNF のバイオマーカーに関する研究

ストレス応答で重要な役割を果たす視床下部-下垂体-副腎系(HPA 系)について DEX/CRH テストによって評価し、ストレス症状や性格傾向との関連をみた。その結果、HPA 系が過剰に抑制されている者(ストレスホルモンであるグルコルチコイドの過剰抑制)は、ストレス症状が多いが、シゾイド人格傾向と関連があることを見出した(C-8)。この結果は、シゾイドうつ病などの難治性うつ病がグルコルチコイドの過剰抑制と関連することを示唆している可能性がある。また、DEX/CRH テストの非抑制は、一般人口において睡眠の質の低下と関連することを見出した(C-7)。また、同テストの抑制パターンは、IL-1 β の遺伝子多型と関連することを明らかにした(C-9)。これは、免疫系とストレスホルモン系のクロストークを説明する上で貴重な所見である。さらに興味深いことに、IL-1 β の遺伝子多型は老年期の認知機能とも関連することを明らかにした(C-13)。

うつ病と診断されている患者も一部は双極性障害であり、その場合、難治であることが多いことが指摘されている。われわれは、うつ状態において気質・性格尺度(TCI)を用いて評価すると、新奇性追求と自己超越性スコアによって、双極性障害をかなり正確に予測できること(C-6)、運動テスト(ペグボード)の成績によっても予測することが可能であることを示した(C-22)。

BDNF のシナプス小胞からの分泌に重要な役割を果たしている CADPS2 のスプライズバリエーション CADPS2 Δ Exon3 の末梢血中の発現が高い者は、一般人口の IQ や記憶力の低下と関連し、自己志向性や良心的などの性格が低下していることを見出した(C-20)。しかし、死後脳での解析では、うつ病などとの関連は認められなかった(C-10)。

遺伝子解析研究により、うつ病のリスク遺伝子として BDNF の低親和性受容体である p75 の (Ser205)アレルがリスクを与えることを明らかにし(C-19)、脳血液関門を司る P 糖タンパクをコードする遺伝子の機能低下型アレルは、うつ病のリスクとなることを見出した(C-23)。

3.4 モデルマウスを用いた難治性うつ病の病態機序の解明と新規診断法の開発 (学校法人 北里研究所 北里大学医学部生化学 (北里) 高橋グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

mBDNF/proBDNF 特異的抗体の作製と proBDNF 定量化技術の開発

BDNF のプロセッシング/分泌機序を解明し、それらに障害をもたらす疾患要因を見出すためには、mBDNF および proBDNF 特異的抗体作製が重要である。北里大学グループは、クレストチーム全体が用いる抗体の作製および評価系の作成の役割を行なっている。これまでに proBDNF と mature BDNF の定量や、免疫組織化学、細胞染色に用いることができるポリクローナル抗体やモノクローナル抗体の作成を試み、その結果、proBDNF に対するモノクローナル抗体候補 30 以上、mBDNF に対するポリクローナル抗体と4モノクローナル抗体の作成に成功した。しかし、proBDNF 抗体はプロセッシング後に切り出される pro ペプチドも認識するため、免疫組織化学でプロセッシング過程を調べるには不十分である。このためプロセッシングでの切断部位の前後 11 アミノ酸含むペプチドを抗原としてマウスモノクローナル抗体の作成を試み、3 つの強い陽性クローンを得た。これら、

クレストチームで開発した抗体類および市販抗体を用いて、ラット末梢血からの血清及び血漿中に含まれる BDNF および proBDNF の定量解析技術の開発を行った。これらの作成抗体を用いて proBDNF および mBDNF を得意的に認識し定量化を可能にする ELISA システムを完成させた。

BDNF のプロセッシング過程の解析

BDNF のプロセッシングやその調節機構を明らかにするため、C 末に HA タグを付加した BDNF を培養細胞に一過的に発現させ、我々が作成した各種抗 BDNF モノクローナル抗体を用いて解析を行った。

COS 細胞に BDNF を一過的に発現させた場合、成熟型に対するプロ体の存在比が脳に比べ遙かに大きく、これらの細胞ではプロセッシングが非常にゆっくり起こることが分かった。抗 HA タグ抗体陽性反応はゴルジ装置と思われる部位に特に強いが、細胞質全体にも顆粒状に分布していた。抗成熟型 BDNF 抗体の陽性反応は細胞質に顆粒状に見出されたが、ゴルジ様の構造には陽性反応が認められなかった。これらの結果から COS 細胞ではゴルジ装置以降の細胞内小胞輸送中に BDNF のプロセッシングが少なくとも部分的に起こると結論された。

NGF で分化誘導をかけた PC12 細胞に BDNF を強制発現させ、プロセッシングの過程を作成した BDNF 抗体を用いた細胞染色法で解析した。トランスフェクション後 24 時間では大部分の細胞は proBDNF にのみ陽性で、mature BDNF 抗体とは反応しなかったが、一部の細胞ではゴルジ様の構造に mature BDNF 陽性反応が認められ、プロセッシングがある程度はゴルジ体でも起こることが示唆された。発現後 48 時間では、大部分の発現細胞が proBDNF および mature BDNF のどちらにも陽性反応を示すようになり、特に神経突起の先端に強い陽性反応が認められた。しかし proBDNF と mature BDNF の陽性反応には部分的には一致しないことから、プロセッシングの過程が異なる小胞が混在することが示唆された。さらに培養条件に依存してプロセッシングの効率が大きく変化する可能性も見出された。

BDNF を発現させた PC12 細胞に高 K⁺刺激やイオノマイシン処理を加えると、細胞外液に proBDNF と mature BDNF の顕著な遊離が引き起こされた。放出量をそれぞれの細胞内含量で割りつけた%値は mature BDNF に比べ proBDNF のほうが5~10倍も多く、貯蔵された小胞の放出効率に違いがあることが示唆された。さらに NGF を作用させると数分以内に proBDNF の有意な放出が引き起こされることも見出された。

SNAP-25 変異マウスを用いた難治性うつ病の分子/細胞病態の解明

SNAP-25 変異マウス(D-3)の脳では BDNF や proBDNF の著しい発現上昇が起きていると共に、うつ病患者でしばしば見られる不安感の亢進や拒食症状を示すという際だった特徴を持っている。panBDNF 抗体を用いたイムノブロット解析から、SNAP-25 変異マウスの脳での BDNF の発現が生後 3~10 週頃に大きく増加することを定量的に明らかにし、さらに、行動学的な多様な変化が、何故 SNAP-25 のリン酸化部位の変異で引き起こされるかを明らかにするため、生後発達期の行動変化と脳内変化を詳細に検討した。

その結果、SNAP-25 の変異マウスは生後3週頃に自発性の全身発作を起こし、その数日後に不安様行動が現れることが分かった。抗てんかん薬であるバルプロ酸を餌に混ぜて与えると、不安様行動の発症が顕著に遅れ、正常マウスにピロカルピンを投与しててんかん重積を起こすと、数日後に SNAP-25 変異マウスで見られるような不安様行動が出現した。以上のことから、SNAP-25 変異マウスで見られる不安様行動の発症は、てんかん発作が原因となっていると考えられた。さらにピロカルピン投与によっててんかん重積を起こすと、野生型マウスでも BDNF の発現上昇に伴い不安様行動を引き起こされることが明らかとなった。

Atmos LM マイクロダイアリシスプローブを BDNF が高発現している SNAP-25 ノックインマウスの海馬に挿入し、自由行動化での proBDNF の遊離を測定した。高 K⁺刺激を加えると著しい proBDNF 遊離の増加が認められ、現在 ELISA 法の高感度化を進めている

3.5 CAPS2 による BDNF 分泌動態制御とうつ病神経ネットワーク障害の解析 (学校法人 東京理科大学・理工学部 (東理大) 古市グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本グループは、有芯小胞の分泌を調節する分子 CAPS を基軸として、BDNF の分泌動態の制御機構の解明とその異常によるうつ病の難治化への関与を明らかにするために研究をすすめた。

CAPS2 による BDNF 分泌制御の欠損と難治性うつ病との関連について検討するために、CAPS2KO マウスの神経病理と行動形質を解析し、BDNF 分泌制御のしくみと生物学的な意義について研究した。方法としては、GFP による細胞染色、シナプス電気生理、電子顕微鏡による微細形態観察、不安・情動・学習などの各種行動テストを用いた。その結果、CAPS2 が海馬ニューロンにおける BDNF 分泌を速度論、頻度、量ともに増強する様子をタイムラプス蛍光イメージング解析によって明らかにし(E-4)、抑制性シナプスの微細形態と生理の異常、GABA 作動性ニューロン数の減少、GABA 系の関連が示唆される海馬シータ波の異常などを見出し、GABA 作動性の抑制性神経回路の異常が特徴付けた。また、CAPS2KO マウスは環境ストレス負荷による不安様行動の亢進とややうつ様の症状を示すことがわかった。以上のことから、CAPS2 の欠損はシナプスの発達と機能、および GABA 系神経ネットワークに影響し、不安様形質増大につながる事が示唆された。

CAPS2KO マウスの海馬では、BDNF の低下による GABA 作動性のシナプス機能や回路機能が欠損し、不安様行動の亢進とうつ傾向を示す事が明らかになったため、CAPS2KO マウスの慢性ストレス負荷に対する脆弱性と、その際の BDNF のタンパク量と mRNA 発現量の変化についての解析を試みた。愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所との共同研究で、生後2週目のマウスでは脳内 BDNF レベルが日内リズムを示して(夜間高く、日中低い)、明暗サイクルの位相前進や睡眠妨害によって増加する事が示され、興味深い事に CAPS2KO マウスではこの BDNF 量の日内変動が消失していることが明らかになった(E-5)。脳発達期には、BDNF は正しい神経回路の形成に必須なことから、CAPS2 が BDNF の日内リズムにも影響することが示唆され、例えば発育期の生活環境とストレス脆弱性の神経ネットワークの形成に CAPS2-BDNF 経路が関係すると仮説を立てる事が出来るかも知れない。また、北里大学・高橋グループの協力を得て、CAPS に関連する分泌小胞の産生のプロテオミクス解析を行い、CAPS2 が低分子量 GTPase の Arf4/5 と相互作用して、ゴルジ小胞輸送にも関与することを明らかにした(E-8)。これらの研究は、BDNF がどのようにして分泌小胞に分配させるのか、さらに proBDNF と mature BDNF の両方の分配に CAPS2 が関係するのか、などの基礎研究の重要な知見となる可能性がある。さらに、CAPS2 遺伝子を脳発達関連遺伝子の一つとして分離し、BDNF 分泌促進に関与して行動障害に関係することを明らかにした経緯などについて、他の発達関連遺伝子と共に紹介した(E-6)。

自閉症患者で検出した CAPS2 のエクソン 3(111 アミノ酸)を欠失する稀な選択的スプライシング亜型を発見するマウスモデル(CAPS2-dex3)を作製し、表現型解析を行った(E-7)。細胞レベルでは、小脳、大脳皮質、海馬において、欠失型 CAPS2 が軸索に分布せず、軸索における BDNF の局在や分泌も著減することがわかった。行動レベルでは、社会的な相互作用が減少するだけではなく、新奇環境下での適応性の低下および不安行動の亢進も明らかになった。さらに、コピー数多型のモデルマウスとして CAPS2 ヘテロの行動解析を実施し、やはり不安の亢進を確認した(E-9)。BDNF の Val166Met 変異における細胞内分布の異常と精神疾患との関連が示唆されている事を考えると、この変異マウスではストレスに対する脆弱性が高まっている可能性がある。また、CAPS1 KO マウスにおける解析も進めており、CAPS1 が CAPS2 同様、BDNF の分泌に関与している可能性を示した。CAPS1 はインシュリン分泌の促進に関与していることがすでに報告されている。糖尿病患者とうつ病発症との関連性が提起されており、CAPS1 がこれらの関連性に関与していることが示唆される。

3.6 脳画像解析法を用いた難治性うつ病の病態解明と新規診断法の開発(国立大学法人・広島大学大学院医歯薬保健学研究院(広大B)岡本グループ)

(1)研究実施内容及び成果

Structural MRI を用いた海馬構造測定

MRI を用いた脳画像解析法により BDNF 機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の病態解明と血中 proBDNF 測定と画像診断法を組み合わせた新規診断法の開発を目的とする。基礎的検討として、S/N 比の向上した 3T の MRI を用いた構造画像および安静時脳機能の測定手法を確立した

(F-2, 3)。また、うつ病で重要とされる複数の脳領域に対応した脳賦活課題の作成し、海馬の脳活動が頑健に計測できることを発表した(F-4)。続いて、実際に未治療から縦断的に評価し難治化したうつ病に対する研究(prospective study)を開始した。治療開始 6 ヶ月後にうつ病の重症度評価より難治性を判断した結果、67 例の参加者の内、16 例が 6 ヶ月経過し、7 例にうつ病症状が存在した。引き続き症例の蓄積を行うと共に、現在、難治化(6 ヶ月後)と考えられる症例を対象として脳画像解析を行った。すでに 2 種類以上の抗うつ薬に治療抵抗性を示したうつ病の脳画像解析(retrospective study)から、健常対照者と比べて抗うつ薬抵抗性うつ病において、海馬と前帯状回の体積が減少していること、安静時の脳活動(Low-frequency oscillations)が前帯状回、中心前回などの領域で低下していることが明らかになった。また、抗うつ薬抵抗性うつ病に対する認知行動療法の作用メカニズムとして、前帯状回、内側前頭前野などの脳活動が重要であること(F-1)、また、うつ病で重要とされる複数の脳領域に対応した脳賦活課題の作成し、課題の妥当性や生理的意義を発表した(F-2, 3)。

Functional MRI を用いた海馬機能の測定

Functional MRI に関しては、ネガティブ/ポジティブな情動価を持つ形容詞と顔写真との組み合わせを記録・再認する課題を作成した。記録時、再認時ともに海馬および内側前頭前野などの脳領域が活動すること、さらにネガティブな形容詞と顔写真との組み合わせを記録する際には扁桃体が強く活動し、この活動が強いほど、連合記憶成績が低いも明らかになった(F-1)。spontaneous BOLD fluctuation analysis を用いて、覚醒状態(activated state)だけでなく覚醒休息状態(resting state)に関連した脳活動/脳内ネットワーク(default mode network)を推定することが可能となったが、default mode network として後帯状皮質、楔前部、外側頭頂皮質、内側前頭前野などの領域の活動評価が可能となること、セロトニン欠乏により default mode network が変化すること、うつ病難治化と関連が深い神経症傾向と default mode network 活動が関連することなどが明らかになった(F-5)。Voxel-based morphometry (VBM)を用いた脳構造測定の結果、抗うつ薬抵抗性うつ病において、健常対照者と比べて海馬と前帯状回の体積が減少していること、さらに右上側頭回の信号値が大きいと反芻思考が多く、認知行動療法への反応性が低いことも明らかになった。

産総研の BDNF プロセッシング障害マウスでは conflicting behavior と帯状回前部・内側前頭前野の神経活動の低下が見出したが、うつ病患者が conflicting する課題に取り組んだ時、同様の部位の活動低下を拡大 B のグループは見出している。

3. 7 難治性うつ病モデルマウスの行動学的解析(自然科学研究機構 生理学研究所行動・代謝分子解析センター 高雄グループ)

(1)研究実施内容及び成果

産総研グループが有する BDNF プロセッシング障害マウスのうつ病様行動の実験系および認知行動に関する行動解析系を確立した。産総研グループと共に行った行動解析の結果、ストレス、proBDNF、抗うつ薬抵抗性の 3 者の関係を初めて示した。(A-2) さらに本グループは、行動異常を網羅的に調べる「網羅的行動テストバッテリー」を用い、約10年にわたり精神疾患のモデルマウスの探索を行っています。これまでに160系統以上を解析した結果、Schnurri-2 遺伝子欠損(Schn-2 KO)マウスが作業記憶と呼ばれるタイプの記憶や、社会的行動の異常など、統合失調症注4)患者で見られる症状(主として認知障害や陰性症状)とそっくりな行動異常を示していることを見出した。このマウスの脳を解析したところ、遺伝子発現パターンが統合失調症患者の死後脳と酷似していたほか、パルバルブミン陽性細胞数の減少や脳波の異常など統合失調症患者の脳で報告されている特徴の多くを持っていました。さらに、Schn-2 KOマウスの脳で慢性的で軽度な炎症が起こっていること、脳の一部(海馬歯状回)が未成熟な状態にあることを発見した(G-1)。

3. 8 不飽和脂肪酸による PTSD 予防法の開発ならびに BDNF の PTSD に及ぼす影響の検討(国

立病院機構災害医療センター、松岡グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

不飽和脂肪酸による PTSD 予防法の開発

松岡グループは、井ノロチーム在籍時に「心的トラウマ直後に神経新生を促進する作用がある ω 3 系脂肪酸を補充すると、恐怖記憶が海馬から早期に消失し、結果的に PTSD 症状が最小化する」という仮説を立てた。

現在、身体外傷後に ω 3 系脂肪酸を投与された患者が、プラセボを投与された患者に比して、3 ヶ月後の PTSD 症状が減弱するか否かを検証する。また同グループでは、主要評価項目である PTSD 症状の群間差を 10 点とし、 α 値=0.05(両側)、 β 値=0.10、SD=15 の条件下で平均値の差の検定に必要な症例数を各群 49 例と見積もり、既に米国 NIH に登録している [NCT00671099]。

臨床試験は実施前に積もった症例数に達しなければ、その介入が有効か否かについて検証ができない。中止・脱落を 30%と想定し目標参加者数を 140 例(各群 70)としているが、良質な研究コーディネーター活用により登録者の追跡率は 89%と高いため、平成 25 年第二四半期には解析可能な症例数(112~120 例)に達する見込みで研究を進めてきた。その結果、外傷患者を対象とした ω 3 系脂肪酸投与の PTSD の二次予防に関する有効性を検討し、本年度プラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験を可能にする症例数に達した。つまり、身体外傷後に ω 3 系脂肪酸を投与された患者 110 人。内訳は投与当初から PTSD 試験を行う 3 ヶ月後までの合計 313 samples であり、平成 25 年度内には試験を完了する予定である。

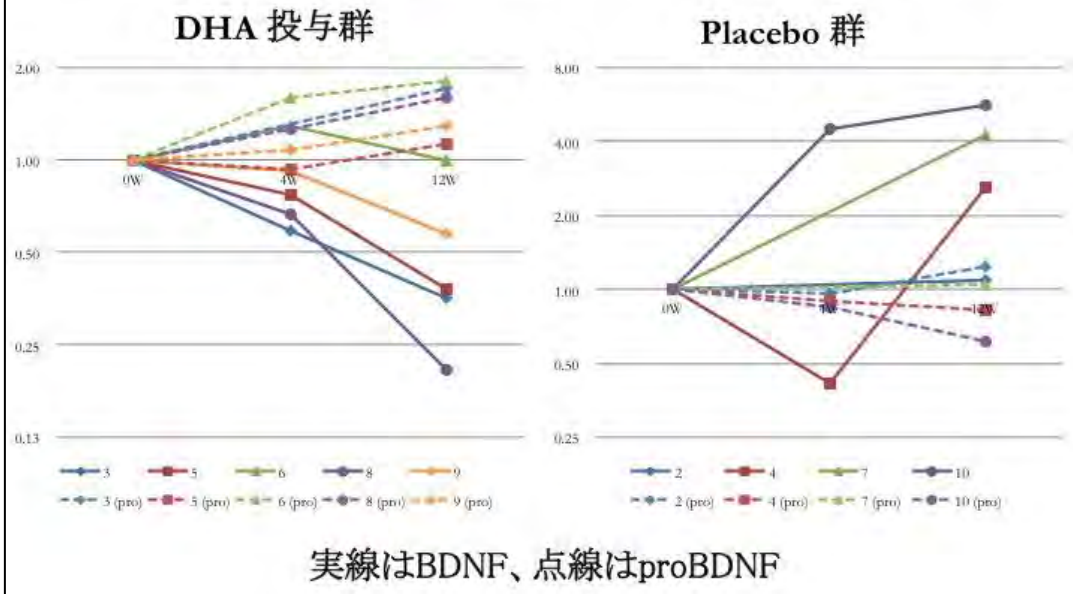
BDNF および proBDNF の PTSD に及ぼす影響の検討

PTSD とうつ病のそれぞれにおいて顕著な脆弱性を示す「扁桃体」と「海馬」は BDNF が強く発現している脳内領域としてよく知られており、心的トラウマ後に発症する PTSD と抹消血中 BDNF との関連を示唆する報告もある (Matsuoka Y. et al., Psychother Psychosom., 2011)。そのため BDNF にはうつ病だけでなく PTSD のバイオマーカーとしての役割が指摘され始めている。本研究では、患者集積を終えた交通外傷患者の精神健康に関する前向きコホート研究と前述の臨床試験の参加者から採取した保存血清を用いて、BDNF および proBDNF が PTSD の病態形成にどのように関連するのかについて検討してきた。

交通外傷患者の精神健康に関する前向きコホート研究ならびに ω 3 系脂肪酸による PTSD 予防介入試験の参加者から採取した血清における BDNF 値を測定し、PTSD の病態形成に関連しているかどうかを検討した。産総研チームとの共同研究から、興味深い予備結果を得た(下図)。つまり、DHA 投与群と placebo 群は、試験開始後の BDNF と proBDNF の血中濃度に関して逆反応を示しており、BDNF・proBDNF が PTSD バイオマーカーになりうることを示唆する。

DHA投与群とplacebo群は、試験開始後のBDNFとproBDNFの血中濃度に関して逆反応を示す

- BDNF・proBDNFがPTSDバイオマーカーになりうることを示唆 -



§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 68 件)

産業技術総合研究所 (産総研) 小島グループ

- A-1 Koshimizu, H. Kiyosue, K. Hara, T. Hazama, S. Suzuki, S. Uegaki, K. Nagappan, G. Zaitsev, E. Hirokawa, T. Tatsu, Y. Ogura, A. Lu, B and Kojima, M.: Multiple functions of precursor BDNF to CNS neurons: negative regulation of neurite growth, spine formation and cell survival. *Molecular Brain*, 2:27, 1-19, 2009. (Selected as No. 1 of *Molecular Brain* in 2009 by the Editor-in-Chief)
- A-2 Rantamäki T, Kempainen S, Autio H, Stavén S, Koivisto H, Kojima M, Antila H, Miettinen PO, Kärkkäinen E, Karpova N, Vesa L, Lindemann L, Hoener MC, Tanila H, Castrén E., The impact of Bdnf gene deficiency to the memory impairment and brain pathology of APP^{sw}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 3:8(7):e68722, 2013.
- A-3 Koshimizu, H., Hazama, S., Hara, T., Ogura, A., Kojima, M., Distinct signaling pathways of precursor BDNF and mature BDNF in cultured cerebellar granule neurons, *Neurosci. Lett.*, 473(3), 229-232, 2010.
- A-4 Sato Y., Suzuki S., Kitabatake M., Hara T., Kojima M., Generation of TrkA/TrkB chimeric receptor constructs reveals molecular mechanisms underlying BDNF-Induced dendritic outgrowth in hippocampal neurons, *Cell. Mol. Neurobiol.*, 31, 605-614, 2011.
- A-5 Koshimizu H., Suzuki S., Araki T., Yamada M., Kojima M., Hatanaka H., BIT/SHPS-1 promotes antiapoptotic effect of BDNF on low potassium-induced cell death of cultured cerebellar granule neurons, *Cell. Mol. Neurobiol.*, (7):1027-32, 2011.
- A-6 S. Dieni, T. Matsumoto, M. Dekkers, S. Rauskolb, M. Ionescu, R. Deogracias, E. D.Gundelfinger, M. Kojima, S. Nestel, M. Frotscher, Y.-A. Barde, BDNF and its pro-peptide are stored in presynaptic dense core vesicles in brain neurons, *Journal of cell Biology*, 196(6) 775-788, 2012.
- A-7 Tawa K, Satoh M, Uegaki K, Hara T, Kojima M, Kumanogoh H, Aota H, Yokota Y, Nakaoki T, Umetsu M, Nakazawa H, Kumagai I, Rapid and sensitive detection of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) with a plasmonic chip, *JJAP*, 52: 06GK01, 2013.(DOI: 10.7567/JJAP.52.06GK01)

広島大学大学院 (広大 A) 山脇グループ

- B-1. Kurata A, Morinobu S, Fuchikami M, Yamamoto S, Yamawaki S: Maternal postpartum learned helplessness (LH) affects maternal care by dams and responses to the LH test in adolescent offspring. *Horm Behav* 56: 112-120, 2009.
- B-2. Fuchikami M., Yamamoto S., Morinobu S., Takei S., Yamawaki S., Epigenetic regulation of BDNF gene in response to stress, *Psychiatry Investigation*, 7, 251-256, 2010.
- B-3. Fuchikami M, Morinobu S, Segawa M, Okamoto Y, Yamawaki S, et al., "DNA methylation profiles of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in major depression", *PLoS ONE* 6: e23881, 2011.
- B-4. Yamawaki Y, Fuchikami M., Morinobu S., Segawa M., Matsumoto T., Yamawaki S., Antidepressant-like effect of sodium butyrate (HDAC inhibitor) and its molecular mechanism of action in the rat hippocampus, *The World J. Biol. Psychiatry*, 13(6):458-67, 2012.
- B-5. Fujita Y, Morinobu S, Takei S, Fuchikami M, Matsumoto T, Yamamoto S, Yamawaki S. Vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, facilitates fear extinction and enhances expression of the hippocampal NR2B-containing NMDA receptor gene. *J Psychiatr Res*. 46(5):635-43, 2012.

- B-6. Segawa M, Morinobu S, Matsumoto T, Fuchikami M, Yamawaki S.
Electroconvulsive seizure, but not imipramine, rapidly up-regulates pro-BDNF and t-PA, leading to mature BDNF production, in the rat hippocampus, *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2013 Mar;16(2):339-50, 2013.

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

- C-1. Kajiyama Y, Iijima Y, Chiba S, Furuta M, Ninomiya M, Izumi A, Shibata S, Kunugi H: Prednisolone causes anxiety- and depression-like behaviors and altered expression of apoptotic genes in mice hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 34(1): 159-65, 2009.
- C-2. Takebayashi M., Hashimoto R., Hisaoka K., Tsuchioka M., Kunugi H., Plasma levels of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 2 in patients with major depressive disorders. *J. Neural. Transm.*, 117, 1119-22, 2010.
- C-3. Chiba S., Numakawa T., Ninomiya M., Yoon H.S., Kunugi H., Cabergoline, a dopamine receptor agonist, has an antidepressant-like property and enhances brain-derived neurotrophic factor signaling, *Psychopharmacology (Berl)*, 211, 291-301, 2010.
- C-4. Hori H., Ozeki Y., Teraishi T., Matsuo J., Kawamoto Y., Kinoshita Y., Suto S., Terada S., Higuchi T., Kunugi H., Relationships between psychological distress, coping styles, and HPA axis reactivity in healthy adults, *J. Psychiatr. Res.* 44, 865-873, 2010.
- C-5. Hori H., Teraishi T., Ozeki Y., Sasayama D., Matsuo J., Kawamoto Y., Kinoshita Y., Suto S., Higuchi T., Kunugi H., Schizotypal personality in healthy adults is related to blunted cortisol responses to the combined dexamethasone/CRH test, *Neuropsychobiology*, 63, 232-241, 2011.
- C-6. Sasayama D., Hori H., Teraishi T., Hattori K., Ota M., Matsuo J., Kawamoto Y., Kinoshita Y., Hashikura M., Koga N., Okamoto N., Sakamoto K., Higuchi T., Amano N., Kunugi H., Difference in Temperament and Character Inventory scores between depressed patients with bipolar II and unipolar major depressive disorders, *J Affect. Disord.*, 132(3):319-24, 2011.
- C-7. Hori H., Teraishi T., Sasayama D., Ozeki Y., Matsuo J., Kawamoto Y., Kinoshita Y., Hattori K., Higuchi T., Kunugi H., Poor sleep is associated with exaggerated cortisol response to the combined dexamethasone/CRH test in a non-clinical population, *J Psychiatr Res.*, 45(9):1257-63, 2011..
- C-8. Hori H, Teraishi T, Ozeki Y, Hattori K, Sasayama D, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Higuchi T, Kunugi H. Schizotypal personality in healthy adults is related to blunted cortisol responses to the combined dexamethasone / corticotropin-releasing hormone test. *Neuropsychobiology*. 2011;63(4):232-41. Epub 2011 Apr 13. PubMed PMID: 21494051.
- C-9. Sasayama D, Hori H, Iijima Y, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Fujii T, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Modulation of cortisol responses to the DEX/CRH test by polymorphisms of the interleukin-1beta gene in healthy adults. *Behav Brain Funct*. 2011 Jul 5;7:23. PubMed PMID: 21726461; PubMed Central PMCID: PMC3141407.
- C-10. Hattori K, Tanaka H, Wakabayashi C, Yamamoto N, Uchiyama H, Teraishi T, Hori H, Arima K, Kunugi H. Expression of Ca²⁺-dependent activator protein for secretion 2 is increased in the brains of schizophrenic patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011 Aug 15;35(7):1738-43. Epub 2011 May 12. PubMed PMID: 21601610.
- C-11. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Iijima Y, Tatsumi M, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Possible association between Interleukin-1beta gene and schizophrenia in a Japanese population. *Behav Brain Funct*. 2011 Aug 16;7:35. PubMed PMID: 21843369; PubMed Central PMCID: PMC3168401.
- C-12. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Matsuo J, Kawamoto Y,

- Kinoshita Y, Hashikura M, Koga N, Okamoto N, Sakamoto K, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Difference in Temperament and Character Inventory scores between depressed patients with bipolar II and unipolar major depressive disorders. *J Affect Disord.* 2011 Aug;132(3):319-24. Epub 2011 Mar 24. PubMed PMID: 21439649.
- C-13. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Association of interleukin-18 genetic polymorphisms with cognitive performance in elderly females without dementia. *J Hum Genet.* 2011 Aug;56(8):613-6. doi: 10.1038/jhg.2011.56. Epub 2011 May 26. PubMed PMID: 21614008.
- C-14. Sasayama D, Wakabayashi C, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Ishikawa M, Arima K, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Association of plasma IL-6 and soluble IL-6 receptor levels with the Asp358Ala polymorphism of the IL-6 receptor gene in schizophrenic patients. *J Psychiatr Res.* 2011 Nov;45(11):1439-44. Epub 2011 Jun 22. PubMed PMID: 21700295.
- C-15. Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Kunugi H. Relationships between season of birth, schizotypy, temperament, character and neurocognition in a non-clinical population. *Psychiatry Res.* 2011 Aug 6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21824667.
- C-16. Wakabayashi C, Numakawa T, Ninomiya M, Chiba S, Kunugi H. Behavioral and molecular evidence for psychotropic effects in L: -theanine. *Psychopharmacology (Berl).* 2011 Aug 23. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21861094.
- C-17. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Amano N, Kunugi H. Association of cognitive performance with interleukin-6 receptor Asp358Ala polymorphism in healthy adults. *J Neural Transm.* 2011 Aug 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21879314.
- C-18. Kumamaru E, Numakawa T, Adachi N, Kunugi H. Glucocorticoid suppresses BDNF-stimulated MAPK/ERK pathway via inhibiting interaction of Shp2 with TrkB. *FEBS Lett.* 2011 Oct 20;585(20):3224-8. Epub 2011 Sep 19. PubMed PMID: 21946312.
- C-19. Fujii T, Yamamoto N, Hori H, Hattori K, Sasayama D, Teraishi T, Hashikura M, Tatsumi M, Okamoto N, Higuchi T, Kunugi H. Support for association between the Ser205Leu polymorphism of p75(NTR) and major depressive disorder. *J Hum Genet.* 2011 Nov;56(11):806-9. doi: 10.1038/jhg.2011.107. Epub 2011 Sep 22. PubMed PMID: 21938001.
- C-20. Hattori K, Tanaka H, Yamamoto N, Teraishi T, Hori H, Kinoshita Y, Matsuo J, Kawamoto Y, Kunugi H. Blood CADPS2ΔExon3 expression is associated with intelligence and memory in healthy adults. *Biol Psychol.* 2012 Jan;89(1):117-22. Epub 2011 Oct 12. PubMed PMID: 22001167.
- C-21. Numakawa T, Yamamoto N, Chiba S, Richards M, Ooshima Y, Kishi S, Hashido K, Adachi N, Kunugi H. Growth factors stimulate expression of neuronal and glial miR-132. *Neurosci Lett.* 2011 Nov 21;505(3):242-7. Epub 2011 Oct 19. PubMed PMID: 22027176.
- C-22. Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Hashikura M, Amano N, Higuchi T, Kunugi H. More severe impairment of manual dexterity in bipolar disorder compared to unipolar major depression. *J Affect Disord.* 2011 Dec 12. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22169250.
- C-23. Fujii T, Ota M, Hori H, Sasayama D, Hattori K, Teraishi T, Hashikura M, Tatsumi M, Higuchi T, Kunugi H. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population *J Psychiatr Res* (in press)
- C-24. Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Hattori K, Hashikura M, Higuchi T, Kunugi H.

- Relationship of temperament and character with cortisol reactivity to the combined dexamethasone/CRH test in depressed outpatients. *J Affect Disord.* 147(1-3): 128-36, 2012.
- C-25. Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Wakabayashi C, Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 39(1):112-9, 2012.
- C-26. Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba R, Kunugi H. Phencyclidine-Induced Decrease of Synaptic Connectivity via Inhibition of BDNF Secretion in Cultured Cortical Neurons. *Cereb Cortex.* 2012.
- C-27. Sasayama D, Hiraishi A, Tatsumi M, Kamijima K, Ikeda M, Umene-Nakano W, Yoshimura R, Nakamura J, Iwata N, Kunugi H. Possible association of CUX1 gene polymorphisms with antidepressant response in major depressive disorder. *Pharmacogenomics J.* 2012 May 15. doi: 10.1038/tpj.2012.18.
- C-28. Numakawa T, Adachi N, Richards M, Chiba S, Kunugi H. Brain-derived neurotrophic factor and glucocorticoids: Reciprocal influence on the central nervous system. *Neuroscience.* 2012 Oct 13. pii: S0306-4522(12)01004-4. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.09.073.
- C-29. Hori H, Yamamoto N, Fujii T, Teraishi T, Sasayama D, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Ota M, Hattori K, Tatsumi M, Arima K, Kunugi H. Effects of the CACNA1C risk allele on neurocognition in patients with schizophrenia and healthy individuals. *Sci Rep.* 2012;2:634. doi: 10.1038/srep00634.
- C-30. Fujii T, Ota M, Hori H, Sasayama D, Hattori K, Teraishi T, Yamamoto N, Hashikura M, Tatsumi M, Higuchi T, Kunugi H. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatr Res.* 2012 Apr;46(4):555-9. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.01.012.
- C-31. Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Hattori K, Hashikura M, Higuchi T, Kunugi H: Relationship of temperament and character with cortisol reactivity to the combined dexamethasone/CRH test in depressed outpatients. *J Affect Disord.* 2013 May;147(1-3):128-36. doi: 10.1016/j.jad.2012.10.022. Epub 2012 Nov 22.

北里大学 (北里大) 高橋グループ

- D-1. Yasuda K., Itakura M., Aoyagi K., Sugaya T., Nagata E., Ihara H., Takahashi M., PKC-dependent inhibition of Ca²⁺-dependent exocytosis from astrocytes, *Glia*, 59, 143-151, 2010 (doi: 10.1002/glia.21083).
- D-2. Yamamori S., Itakura M., Sugaya D., Katsumata O., Hiroyuki S., Takahashi M., Differential Expression of SNAP-25 Family Proteins in the Mouse Brain, *J. Comp. Neurol.*, 519, 916-932, 2011 (doi: 10.1002/cne.22558).
- D-3. Kataoka M, Yamamori S, Suzuki E, Watanabe S, Sato T, Miyaoka H, Azuma S, Ikegami S, Kuwahara R, Suzuki-Migishima R, Nakahara Y, Nihonmatsu I, Inokuchi K, Katoh-Fukui Y, Yokoyama M, Takahashi M. (2011) A Single Amino Acid Mutation in SNAP-25 Induces Anxiety-Related Behavior in Mouse. *PLoS ONE*, 6(9): e25158.
- D-4. Iida Y, Yamamori S, Itakura M, Miyaoka H, Takahashi M. Protein phosphatase 2A dephosphorylates SNAP-25 through two distinct mechanisms in mouse brain synaptosomes. *Neurosci Res.* 75(3):184-9, 2013. (doi: 10.1016/j.neures.2013.01.002.)

東京理科大学 古市グループ

- E-1. Sadakata, T. and Furuichi, T. Developmentally-regulated Ca²⁺-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) is involved in BDNF release and is associated with

- autism susceptibility. *The Cerebellum* 8:312-322, 2009.
- E-2. Shiraishi-Yamaguchi, Y., Sato, Y., Sakai, R., Mizutani, A., Knopfel, T., Mori, N., Mikoshiba, K., and Furuichi, T. Interaction of Cupidin/Homer2 with two actin cytoskeletal regulators, Cdc42 small GTPase and Drebrin, in dendritic spines. *BMC Neurosci.* 10(1):25, 2009.
- E-3. Sadakata, T., Shinoda, Y., Sekine, Y., Saruta, C., Itakura, M., Takahashi, M., and Furuichi, T., Interaction of CAPS1 with the class II Arf small GTPases is required for dense-core vesicle trafficking in the trans-Golgi network, *J. Biol. Chem.*, 285, 38710-38719, 2010 (doi: 10.1074/jbc.M110.137414).
- E-4. Shinoda, Y., Sadakata, T., Nakao, K., Katoh-Semba, R., Kinameri, E., Furuya, A., Yanagawa, Y., Hirase, H., and Furuichi, T., Calcium-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) promotes BDNF secretion and is critical for the development of GABAergic interneuron network, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 373-378, 2011 (doi:10.1073/pnas.1012220108).
- E-5. Hamatake, M., Miyazaki, N., Sudo, K., Matsuda, M., Sadakata, T., Furuya, A., Ichisaka, S., Hata, Y., Nakagawa, C., Nagata, K., Furuichi, T., Katoh-Semba, R. Phase advance of the light-dark cycle perturbs diurnal rhythms of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 protein levels, which reduces synaptophysin-positive presynaptic terminals in the cortex of juvenile rats. *J. Biol. Chem.* 286:21478-21487, 2011. (DOI: 10.1074/jbc.M110.195859)
- E-6. Furuichi T, Shiraishi-Yamaguchi Y, Sato A, Sadakata T, Huang J, Shinoda Y, Hayashi K, Mishima Y, Tomomura M, Nishibe H, Yoshikawa F. Systematizing and cloning of genes involved in the cerebellar cortex circuit development. *Neurochem Res.* 36:1241-52, 2011. (DOI: 10.1007/s11064-011-0398-1)
- E-7. Sadakata T., Shinoda, Y., Oka, M., Sekine, Y., Sato, Y., Saruta, C., Miwa, H., Tanaka, M., Itohara, S., and Furuichi, T., “Reduced axonal localization of a Caps2 splice variant impairs axonal release of BDNF and causes autistic-like behavior in mice”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109:21104-21109, 2012 (DOI: 10.1073/pnas.1210055109)
- E-8. Sadakata T, Sekine Y, Oka M, Itakura M, Takahashi M, Furuichi T. Calcium-dependent activator protein for secretion 2 interacts with the class II ARF small GTPases and regulates dense-core vesicle trafficking. *FEBS J.* 279:384-394, 2012. (DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08431.x.)
- E-9. Sadakata, T., Shinoda, Y., Oka, M., Sekine, Y., and Furuichi, T., “Autistic-like behavioral phenotypes in a mouse model with copy number variation of the CAPS2/CADPS2 gene”, *FEBS Lett.* 587:54-59, 2013. (DOI: 10.1016/j.febslet.2012.10.047)
- E-10. Sadakata T, Kakegawa W, Shinoda Y, Hosono M, Katoh-Semba R, Sekine Y, Sato Y, Tanaka M, Iwasato T, Itohara S, Furuyama K, Kawaguchi Y, Ishizaki Y, Yuzaki M, Furuichi T. CAPS1 Deficiency Perturbs Dense-Core Vesicle Trafficking and Golgi Structure and Reduces Presynaptic Release Probability in the Mouse Brain. *J Neurosci.*, 33(44):17326-34, 2013(doi: 10.1523/JNEUROSCI.2777-13).
- E-11. Motoyoshi-Yamashiro, A., Tamura, M., Moriyama, M., Takano, K., Kawabe, K., Nakajima, H., Katoh-Semba, R., Furuichi, T., and Nakamura, Y. Activation of cultured astrocytes by amphotericin B: Stimulation of NO and cytokines production and changes in neurotrophic factors. *Neurochem. Int.* 63:93-100, 2013.
- E-12. Shinoda, Y., Sadakata, T., and Furuichi, T. Animal Models of Autism Spectrum Disorder (ASD): A Synaptic-level Approach to Autistic-like Behavior in Mice. *Exp. Anim.* 62(2), 71-78, 2013
- E-13. Sadakata, T., Shinoda, Y., Sato, A., Iguchi, H., Ishii, C., Matsuo, M., Yamaga, R., and Furuichi, T. Mouse models of mutations and variations in autism spectrum disorder-associated genes: mice expressing Caps2/Cadps2 copy number and alternative splicing variants. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, in press.

広島大学（広大B）岡本グループ

- F-1. Yoshimura S., Okamoto Y., Onoda K., Matsunaga M., Ueda K., Suzuki S.I., Yamawaki S., Rostral anterior cingulate cortex activity mediates the relationship between the depressive symptoms and the medial prefrontal cortex activity, *J. Affect. Disord.*, 122, 76-85, 2010 (doi:10.1016/j.jad.2009.06.017).
- F-2. Kunisato Y., Okamoto Y., Okada G., Aoyama S., Demoto Y., Munakata A., Nomura M., Onoda K., Yamawaki S., Modulation of default-mode network activity by acute tryptophan depletion is associated with mood change: A resting state functional magnetic resonance imaging study, *Neurosci. Res.* 69, 129-34, 2011 (doi:10.1016/j.neures.2010.11.005).
- F-3. Kunisato Y, Okamoto Y, Okada G, Aoyama S, Nishiyama Y, Onoda K, Yamawaki S. Personality traits and the amplitude of spontaneous low-frequency oscillations during resting state. *Neurosci Lett.* 492:109-13, 2011(DOI:10.1016/j.neulet.2011.01.067)
- F-4. Okada G, Okamoto Y, Kunisato Y, Aoyama S, Nishiyama Y, Yoshimura S, Onoda K, Toki S, Yamashita H, Yamawaki S. The effect of negative and positive emotionality on associative memory: an fMRI study. *PLoS One.* 6: e24862. 2011 (DOI:10.1371/journal.pone.0024862)
- F-5. Kunisato Y., Okamoto Y., Okada G., Aoyama S., Demoto Y., Munakata A., Nomura M., Onoda K., Yamawaki S., Modulation of default-mode network activity by acute tryptophan depletion is associated with mood change: A resting state functional magnetic resonance imaging study, *Neurosci. Res.* 69, 129-34, 2011 (doi:10.1016/j.neures.2010.11.005).

生理学研究所 –京都大学（生理研–京大） 高雄グループ

- G-1. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T, Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia, *Neuropsychopharmacology.* 2013 Feb 6. doi: 10.1038/npp.2013.38.

国立病院機構災害医療センター 松岡グループ

- H-1. Yutaka Matsuoka, Daisuke Nishi, Hiroko Noguchi, Yoshiharu Kim, Kenji Hashimoto, Longitudinal Changes in Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor in Accident Survivors with Posttraumatic Stress Disorder 68:44-50, 2013

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

①査読審査の入る proceedings 等

産業技術総合研究所（産総研）小島グループ

1. Mizui T, Kojima M. BDNF and Synaptic Plasticity: The Recent Cell Biology for Understanding of Brain Disorders, *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*, S1: 004. 2013 (doi:10.4172/2167-065X.S1-004)
2. Ishikawa, Y. Kojima, M. Role of BDNF as a modulator of synaptic plasticity, *Brain Aging and Therapeutic Interventions*, 37-47, 2012. (DOI: 10.1007/978-94-007-5237-5)

国立精神・神経医療研究センター（神経セ） 功刀グループ

1. H.Kunugi, H.Hori, N.Adach, T.Numakawa, Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in

depression, *Psychiatry Clin Neurosci*, 64, 447-459, 2010.
(doi:10.1111/j.1440-1819.2010.02135.x.)

2. Numakawa T, Richards M, Adachi N, Kishi S, Kunugi H, Hashido K: MicroRNA function and neurotrophin BDNF. *Neurochem Int*. 2011 Oct;59(5):551-8.

東京理科大学 古市グループ

1. T.Sadakata, T.Furuichi, Ca²⁺-dependent activator protein for secretion 2 and autistic-like phenotypes, *Neurosci Res*, 67, 197-202, 2010.
(doi:10.1016/j.neures.2010.03.006)
2. T.Furuichi, Y.Shiraishi, A.Sato, T.Sadakata, J.Huang, Y.Shinoda, K.Hayashi, Y.Mishima, M.Tomomura, H.Nishibe, F.Yoshikawa, Systematizing and cloning of genes involved in the cerebellar cortex circuit development, *Neurochem Res*, 36(7):1241-52. 2012. (doi: 10.1007/s11064-011-0398-1)

広島大学 (広大B) 岡本グループ

1. Yamawaki S, Okada G, Okamoto Y, Liberzon I. Mood dysregulation and stabilization: perspectives from emotional cognitive neuroscience. *Int J Neuropsychopharmacol*. 17:1-14. 2011.

②その他

産業技術総合研究所 (産総研) 小島グループ

1. 熊ノ郷晴子、水井利幸、高橋正身、小島正己: うつ病に関する BDNF 研究:現状と課題 実験医学増刊号、28(5)725-731、2010
2. 小島正己:BDNF機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の診断・治療法の開発研究 医薬ジャーナル、8-1、2010
3. 熊ノ郷晴子、小島正己、Mature BDNF と proBDNF・BDNF の二面性、*Clinical Neuroscience*、29(7)、759-762(2011)
4. 水井利幸、熊ノ郷晴子、小島正己、うつ病における BDNF 仮説、*日薬理誌*、139、43(2012)

広島大学大学院 (広大A) 山脇グループ

1. 山脇成人: 幼少期のトラウマ体験とストレス脆弱性 脳科学からみた最近の話題. 児童青年精神医学とその近接領域 50: 219-225, 2009
2. 森信 繁: 栄養因子・成長因子とシナプス可塑性からみたうつ病の病態メカニズム. 精神神経誌 111: 687-691, 2009.
3. 森信 繁: ストレス反応性形成におよぼす早期の母子関係の影響とその脳内メカニズム ーラットの養育行動からー. 思春期青年期精神医学 19: 41-47, 2009.
4. 森信 繁、倉田明子、淵上 学、松木 文、土岐 茂、山脇成人: うつ病発症感受性と養育環境. 心身医学 49: 285-289, 2009.
5. 松本知也、瀬川昌弘、藤田洋輔、山脇洋輔、岡田怜、淵上学、森信繁、山脇成人、「うつ病と脳由来神経栄養因子(BDNF)」、*Depression Strategy*、Vol.2、No.4、2012

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

北里大学 (北里大) 高橋グループ

東京理科大学 古市グループ

1. 定方哲史、篠田陽、林周宏、古市貞一、有芯小胞の分泌制御因子 CAPS2 と自閉症感受性、実験医学増刊号、28、63-69、2010
2. 篠田 陽、定方哲史、林周宏、古市貞一、自閉症の感受性候補遺伝子と動物モデル、脳と精神の医学、20 4、303-310、2010
3. 定方哲史、篠田 陽、古市貞一、ゴルジ体における有芯小胞の生合成と CAPS タンパク 質

の役割、生体の科学 医学書院、Vol. 63, No. 5, pp. 414-415, 2012

広島大学（広大B）岡本グループ

1. 岡田剛、岡本泰昌、山脇成人：MRI 研究によるうつ病の脳内機構、臨床精神医学 38、413-419、2009
2. 岡本泰昌、山脇成人、田中沙織、銅谷賢治、計算論的神経科学研究の精神医学への応用、実験医学、28、2211-2217、2010
3. 岡本泰昌 土岐茂 高石佳幸 志々田一宏 吉野敦雄 福本拓治 町野彰彦 山下英尚 山脇成人 “うつ病の病態はどこまで明らかになったか？” 基礎心理学研究, 31 巻 1 号, 58-63, 2012
4. 吉村晋平 “fMRI を用いたうつ病の心理・生理学的メカニズムの検討” 基礎心理学研究, 31 巻 1 号, 64-73, 2012
5. 吉村晋平 “うつ病の認知行動療法とニューロイメージング” 分子精神医学, 12 巻, 284-289, 2012
6. 岡本泰昌 岡田剛 志々田一宏 福本拓治 町野彰彦 山下英尚 田中沙織 銅谷賢治 山脇成人 “遅延報酬の割引に対するセロトニンの効果：精神疾患の病態理解への応用” 精神神経科学雑誌, 114 巻 2 号, 108-114, 2012
7. 吉野敦雄 神人蘭 岡本泰昌 “認知行動療法と薬物療法の併用効果” 臨床精神医学, 41 巻 8 号, 1009-15, 2012

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演（国内会議 41 件、国際会議 13 件）

産業技術総合研究所（産総研）小島グループ

1. 小島正己：神経栄養因子 BDNF の機能未知ドメインが行う脳機能調節、生理研研究会：シナプス可塑性の分子基盤、岡崎、2009/6/19
2. Kojima, M.: Role of BDNF cleavage in CNS neurons, Univ. of Chicago, 2009/10/18
3. 小島正己：BDNF の分子内構造に注目した新しい神経栄養因子研究 東北大学 GCOE 講演会、仙台、2009/12/4
4. 小島正己：うつ病難治化要因としての BDNF の分子機能障害、生理学研究所研究会、2010 年 9 月、岡崎
5. Kojima, M.: The BDNF pro-peptide is a new modulator of synaptic plasticity in the nervous system, NGF 2010, 2010. 6, Helsinki
6. Kojima, M.: The BDNF pro-peptide is a new modulator of synaptic plasticity in the nervous system, Brain Aging and Dementia: Basic and Translational Aspects, 2010.11, Varanasi
7. Kojima, M.: The BDNF pro-peptide is a new modulator of synaptic plasticity in the nervous system, The 5th Federation of Asian and Oceanian Neuroscience Societies (FAONS) Congress, 2010.11, Lucknow
8. Kojima, M.: A modification of BDNF hypothesis in depression, UK-Japan workshop, 2011.2, Tokyo
9. 小島正己：BDNF機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の診断・治療法の創出（独）科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 (CREST) 「精神・神経の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」研究領域第1回領域シンポジウム 平成20年11月28日 東京大学
10. 小島正己：神経栄養因子 BDNF の機能障害仮説に基づいた難治性うつ病の病態研究 阪大神経変性疾患抄読会 平成21年3月24日 大阪大学
11. 小島正己：脳の成長因子BDNF機能未知ドメインに潜む精神疾患発症の危険因子 第4回産業用酵素シンポジウム/FS フォーラム ～蛋白質科学と産業応用の新しい関係～ 平成21

年 3 月 9 日 東京大学

12. Kojima, M: BDNF and mood disorders、第34回日本神経科学大会、横浜、2011年9月17日
13. 小島正己: 脳由来神経栄養因子 BDNF サブタイプの研究 ~ 精神神経疾患の分子病態解明から診断確度の向上を目指した工学研究へ ~、田辺三菱製薬株式会社セミナー、横浜、2011年6月24日
14. 小島正己: 神経栄養因子 BDNF の生物学—新しい分子種と気分障害モデルマウスの解析—、第35回脳神経発達統御学セミナー、前橋、2012年1月25日
15. Kojima M: **Biological roles of the BDNF pro-peptide and its modulation by BDNF polymorphism Val66Met, GRC, Newport, 5/7/2011**
16. 小島正己 「うつ病と神経栄養因子-新治療と早期診断を目指した神経科学研究-」厚生省・ヒト iPS 分化細胞を利用した医薬品のヒト特異的有害反応評価系の開発・標準化、2012年5月、前橋
17. 小島正己 「うつ病:モノアミン仮説から神経栄養因子仮説へ-新しい治療とより早い診断を目指した神経科学の最前線-」第9回日本うつ学会総会、2012年7月、東京
18. 小島正己 「神経栄養因子 BDNF の生物学 -脳疾患研究への応用を目指して-」第5回香川脳神経研究会、2013年1月、高松
19. 小島正己 「うつ病の診断治療のための基礎研究 - 神経栄養因子研究から見えた問題点・将来への期待・神経疾患とのつながり -」2013年2月、エーザイセミナー、筑波
20. 小島正己 「うつ病の診断治療のための基礎研究 - 神経栄養因子が担ううつ病創薬の側面とは -」2013年3月、産総研創薬・バイオセミナー、神戸
21. Kojima, M: **The BDNF pro-peptide is a novel facilitator of hippocampal LTD and the biological action is modulated by a common BDNF polymorphism Val66Met, NGF2012, June, 20-22, 2012, Würzburg**
22. Kojima, M: **Pathological role of proBDNF in brain disorder, Neuroscience Seminar, University of Helsinki, June, 28, 2012, Helsinki**
23. Kojima, M: **Importance of proBDNF cleavage in brain function and the pathological role of proBDNF in brain disorder The 11th Biennial Meeting of the Asian Pacific Society for Neurochemistry, October 2, 2012, Kobe**
24. Mizui, T: **ProBDNF affects dendritic spine morphology and reorganizes the actin cytoskeleton, The 11th Biennial Meeting of the Asian Pacific Society for Neurochemistry, October 1, 2012, Kobe**
25. Kojima, M: **Program in Neuroscience and Behavioral Disorders Duke-NUS Graduate Medical School, May 31, 2013**

広島大学大学院 (広大 A) 山脇グループ

1. Morinobu S: Neonatal isolation as an animal model of vulnerability for depression. The 32nd Japanese Neuroscience Meeting, Nagoya, 2009/9/18.
2. Morinobu S, Are the DNA methylation profiles within the CpG island at the promoter of exon I of the grain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene as a potent diagnostic biomarker in psychiatric disorders? 第34回日本神経科学学会、横浜、2011年9月17日

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

1. 功刀浩、抗うつ薬の作用メカニズムからみたうつ病の病態と治療、第14回高知県うつ病研究会、2010年6月、高知
2. 功刀浩、うつ病におけるドーパミンの役割 - 治療抵抗性うつ病に対するドーパミン作動薬の可能性 -、つくば SNRI フォーラム(県南地区学術講演会)、2010年6月、筑波
3. 功刀浩、難治性うつ病におけるドーパミンアゴニスト、第2回多摩難治性うつ病研究会、2010年6月、東京

4. 功刀浩、うつ病におけるドーパミンの役割:ドーパミン作動薬の効果を中心に、第12回新潟不安抑うつ研究会、2010年11月、新潟
5. 功刀浩、うつ病におけるグルココルチコイド、BDNF、ドーパミンについて、第8回SNRI研究会、2010年11月、東京
6. 功刀浩:DEX/CRH テストとプレパルスインヒビションテストによる精神疾患の類型化. シンポジウム「精神疾患の客観的診断法の開発」第28回日本医学会総会、CD-ROM、Web 登録による発表.
7. 功刀浩:仮説 ドーパミンうつ病. シンポジウム「ドーパミンからみる高齢者うつ病」第26回日本老年精神医学会、東京、2011年6月16日
8. 功刀浩:「気分障害におけるグルココルチコイド、BDNF、ドーパミンについて」、湯島精神科セミナー特別講演、東京、2011年11月11日
9. 功刀浩、堀弘明、沼川忠広:視床下部-下垂体-副腎系とうつ病:最近の知見(シンポジウム:うつ病の最先端脳科学的研究とその臨床応用)、第21回日本臨床精神神経薬理学会第41回日本神経精神薬理学会合同年会、東京、2011年10月28日
10. **Kunugi H: Differentiation between schizophrenia and depression by multiple intermediate phenotypes. University of Melbourne and NCNP joint symposium, Tokyo, 31/10/2011**

北里大学 (北里大) 高橋グループ

1. 山森早織、菅谷大地、小久保宏俊、板倉誠、飯田諭宜、鈴木映二、宮岡 等、高橋正身: ストレス負荷によるシナプスタンパク質のリン酸化、第25回日本ストレス学会/第27回日本青年期精神療法学会合同大会、横浜、2009年12月

東京理科大学 古市グループ

1. 古市貞一、定方哲史、篠田陽: Ca^{2+} 依存性活性化分泌関連タンパク質 CAPS2は正常な脳の発達と行動に必須な役割を果たす、第61回日本細胞生物学会大会、名古屋、2009年6月2-4日
2. 古市貞一: 神経発達障害のモデルマウスと環境-遺伝子相互作用、脳を巡る環境-遺伝子相互作用の分子基盤シンポジウム、東京、2009年8月29日
3. 古市貞一: 分泌関連 Ca^{2+} 依存性活性化タンパク質2 (CAPS2)と自閉症感受性、第32回日本神経科学大会・シンポジウム、名古屋、2009年9月16-18日
4. 古市貞一、定方哲史、篠田陽、仙波りつ子: CAPS2 タンパク質による有芯小胞分泌経路の制御と発達障害の感受性、第82回日本生化学会大会、神戸、2009年10月21-24日
5. 古市貞一、定方哲史、篠田陽、仙波りつ子: 神経回路の発達と機能に必要な CAPS2 の遺伝子欠損マウスは社会性相互作用の障害と不安行動の増加を示す、第32回日本分子生物学会年会・2009年12月9-12日
6. **Furuichi, T: Neurotrophin secretion. Gordon Research Conferences on Neurotrophic factors (Newport, RI, USA) June 21-26, 2009**
7. **T.Furuichi, Increased expression of a rare alternative splicing CAPS2/CADPS2 variant in autism, 18th World Congress on Psychiatric Genetics, 2010.10, Athens**
8. 古市貞一(独:理研、JST/CREST) CAPS2 遺伝子欠損による神経栄養因子 BDNF 分泌障害と自閉症様行動形質第5回行動遺伝学研究会 国立遺伝学研究所 2009年3月12日
9. 古市貞一、有芯小胞分泌調節分子 CAPS2 遺伝子欠損マウスにおける行動障害、日本実験動物学会総会・日本実験動物科学・技術九州2012、別府・大分、2012年5月
10. 古市貞一、脳の正常な発達とその障害-分泌関連因子 CAPS2 の役割について、埼玉大学・研究機構・脳科学融合研究センター シンポジウム(III) 脳の発生・発達とその破綻の理解をめざして、おおみや・埼玉、2012年10月
11. 古市貞一、脳の正常な発達とその障害-分泌関連因子 CAPS ファミリーの機能、東京都医学総合研究所セミナー、上北沢・東京、2013年1月

広島大学（広大B）岡本グループ

1. 岡本泰昌、うつ病の病態と治療に関わる脳内基盤—ストレス制御の視点から—、第 51 回日本心身医学会総会、2010 年 6 月、仙台
2. 岡本泰昌、認知行動療法の生物学的基盤-脳画像研究の知見から-、第 10 回日本認知療法学会、2010 年 9 月、名古屋
3. 岡本泰昌、うつ病の機能的脳内基盤 -fMRI 研究-、第 32 回日本生物学的精神医学会、2010 年 10 月、小倉
4. 岡本泰昌、精神療法の脳科学的基盤-うつ病の認知行動療法の知見を中心として- シンポジウム「うつ病精神療法の未来」、第9回日本うつ病学会シンポジウム、東京、2012 年 7 月
5. 岡本泰昌、脳機能画像研究からみたうつ病の神経基盤、シンポジウム「うつ病はどこまで客観化できるか」、第 34 回日本生物学的精神医学会、神戸、2012 年 9 月

②口頭発表 (国内会議 5 件、国際会議 0 件)

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

1. 篠山大明、若林千里、内山博文、山本宜子、飯嶋良味、藤井崇、巽雅彦、天野直二、岡本長久、有馬邦正、樋口輝彦、功刀浩、大うつ病とインターロイキン-6との関連、第 29 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会、2010 年 6 月、箱根

北里大学（北里大）高橋グループ

1. Ohtsuka, S. Yamamori, S. Uchida, T. Itakura, M. and Takahashi, M: Abnormal activation of dentate granule cells in phosphorylation site-deficient SNAP-25 knock-in mouse、第 52 回日本神経化学学会大会、群馬、2009 年 6 月
2. Yasuda, K. Itakura, M. Nagata, E. Yamamori, S. Ihara, I. Takahashi: Identification of PKC-dependent phosphorylation sites of SNAP-23 in clonal glial cell 第 52 回日本神経化学学会大会、群馬、2009 年 6 月
3. 飯田 諭宜、山森 早織、菅谷 大地、板倉 誠、高橋 正身、宮岡 等:SNAP-25 の脱リン酸化酵素の検討. 第 25 回 日本ストレス学会/第 27 回 日本青年期精神療法学会合同大会、横浜、2009 年 12 月

東京理科大学 古市グループ

1. 定方哲史、古市貞一: CAPS family タンパク質の有芯小胞トラフィッキングにおける役割. 第 32 回日本神経科学学会、名古屋、2009 年 9 月 16-18 日

③ポスター発表 (国内会議 42 件、国際会議 20 件)

産業技術総合研究所（産総研）小島グループ

1. Kojima M: Inhibition of proBDNF cleavage causes reduction of dendritic complexity, shrinkage of brain and deficits in making-decision behavior, Gordon Research Conferences on Neurotrophic factors, Newport, June 21-26, 2009
2. Hara, T. Otsuka, M. Ogura, A. Kojima M: Inhibition of proBDNF cleavage causes shrinkage of brain and reduction of dendritic complexity, Neurogenesis 2009—Japan Symposium Ranges From Molecules to Mind, Awaji, June 2-3, 2009
3. Kumanogoh, H. Ohtsuka, M. Hara, T. Urbanczyk, Y. Takao, K. Miyakawa, T. Ogura, A. Takahashi, M. Kojima, M: In vivo role of BDNF cleavage: Behavioral study of the mutant mice using test battery, The 32nd Japanese Neuroscience Meeting, Nagoya, 2009/9/18
4. Kumanogoh, H. Takao, K. Miyakawa, T. Takahashi, M. Kojima, M: In vivo role of proBDNF cleavage: Behavioral study of the mutant mice, 2009 Annual Meeting of Society for Neuroscience, Chicago, USA, 2009/10/17-21.

5. Mizui,T. Ishikawa,Y, Kumanogoh,H. Kojima,M. Biological roles of the BDNF pro-peptide in the nervous system, Neuro2010, 2010.9, Kobe
6. Mizui,T. Ishikawa,Y. Kumanogoh,H. Kojima,M. Biological roles of the BDNF pro-peptide in the nervous system, 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2010), 2010.11, San Diego
7. 水井利幸、上垣浩一、石川保幸、原とも子、高橋正身、塩坂貞夫、伊丹千晶、熊ノ郷晴子、小島正己「多型による神経栄養因子の新しい機能制御」第34回日本神経科学大会 2011年9月15日、パシフィコ横浜
8. 熊ノ郷晴子、田和圭子、横田佳樹、上垣浩一、小島正己「脳疾患バイオマーカー迅速高感度検出技術の開発」第34回日本神経科学大会 2011年9月15日、パシフィコ横浜
9. 松本知也, Dieni S, Dekkers M, Rauskolb S, Ionescu M, Deogracias R, Gundelfinger E, 小島正己, Nestel S, Frotscher M, Barde Y.-A「海馬における脳由来神経栄養因子の局在と分泌」第34回日本神経科学大会 2011年9月15日、パシフィコ横浜
10. 小島正己、熊ノ郷晴子、水井利幸、高橋正身、清末和之「神経栄養因子プロセッシング障害マウスの解析」第35回日本神経科学大会、2012年9月30日-10月2日、名古屋熊ノ郷晴子、水井利幸、清末和之、高橋正身、小島正己「げっ歯類 Bdnf アンチセンス RNA の同定と機能」第35回日本神経科学大会、2012年9月30日-10月2日、名古屋
11. 水井利幸、熊ノ郷晴子、清末和之、小島正己「培養海馬神経細胞における前駆体 BDNF の樹上突起スパインへの作用」第35回日本神経科学大会、2012年9月30日-10月2日、名古屋
12. Kozuka,T. Nobuhara,M. Takami,K. Mizui,T. Kojima,M. A novel role of the BDNF pro-peptide in the development of neuron : a new insight into neurotrophic hypothesis, The 11th Biennial Meeting of the Asian Pacific Society for Neurochemistry, October, 2, 2012, Kobe
13. Mizui,T. Kojima,M. Precursor BDNF promotes the shrinkage of dendritic spine through the activation of actin cytoskeletal reorganization, SFN 2012, October.13. 2012, New Orleans,
14. Uegaki,K. Ishikawa,Y. Mizui,T. Nobuhara,M. Hirokawa,T. Hara,T. Suzuki,M. Takahashi,M. Shiosaka,S. Itami,C. Kumanogoh,H. Kojima,M. The BDNF pro-peptide is a novel facilitator of hippocampal LTD and the biological action is altered by a common BDNF polymorphism Val66Met, Neruotrophic Factors, June 2-7.2013, Newport
15. 熊ノ郷晴子、水井利幸、清末和之、高橋正身、小島正己「げっ歯類 Bdnf アンチセンス RNA の機能解析」Neuro 2013 2013年8月20日-23日
16. 小塚考司、水井利幸、熊ノ郷晴子、清末和之、小島正己「BDNF pro-peptide は軸索伸長を誘導し、ヒト BDNF の一塩基多型によってその効果が異なる」Neuro 2013 2013年8月20日-23日
17. 水井利幸、熊ノ郷晴子、清末和之、小島正己「前駆体 BDNF は p75NTR の活性化を介してスパイン形態を変える」Neuro 2013 2013年8月20日-23日
18. 小島正己、上垣浩一、石川保幸、水井利幸、延原理幹、小塚考司「BDNF pro-peptide は海馬 LTP の新規の促進系であり、その生物学的機能は BDNF の一塩基多型で異なる」Neuro 2013 2013年8月20日-23日

広島大学大学院 (広大 A) 山脇グループ

1. Fuchikami M, Morinobu S. Yamawaki Y., Yamawaki S: Anti-depressant like effect of sodium butyrate (HDAC inhibitor) and its biological actions in the rat hippocampus. 2009 Annual Meeting of Society for Neuroscience, Chicago, USA, 2009/10/17-21.
2. 淵上学, 森信繁, 山脇成人: Sodium Butyrate (HDAC 阻害剤) の抗うつ効果と作用機序の検討、第31回日本生物学的精神医学会、京都、2009/4/23.

3. 倉田明子, 森信繁, 淵上学, 山本茂人, 松木文, 山脇成人:産後早期の母ラットにおける学習性無力が養育行動及び仔のストレス脆弱性に与える影響、第 31 回日本生物学的精神医学会、京都、2009/4/23.
4. 山脇洋輔, 木村仁美, 淵上学, 小澤孝一郎, 森信繁, 山脇成人:Sodium butyrate(HDAC 阻害剤)の抗うつ効果と作用機序の検討、第 48 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中国支部学術大会、徳島、2009/11/7-8.
5. 森信繁, 淵上学, 山脇洋輔, 松木文, 倉田明子, 山脇成人:新規抗うつ薬開発のためのヒストン修飾を介した抗うつ薬効果の行動学的・分子生物学的研究、第 42 回精神神経系薬物療法研究報告会、大阪、2009/12/4.
6. 瀬川昌弘, 森信繁, 松本知也, 淵上学, 山脇成人, 電気痙攣刺激によるラット海馬内 tissue-plasminogen activator (t-PA) 発現と BDNF の関わり、第 33 回日本生物学的精神医学会、東京、2011 年 5 月 21 日 22 日

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

1. Hori, H. Ozeki, Y. Higuchi, T. Kunugi, H: Relationships of psychological distress and sleep status with HPA axis function in non-clinical population. World Psychiatric Association International Congress, Italy, April 3, 2009.
2. Chiba, S. Ninomiya, M. Richards, M. Kajiyama, Y. Izumi, A. Kunugi, H: Antidepressive Properties of Dopamine Receptor Agonist Cabergoline The 1st Meeting of the Asian College of Neuropsychopharmacology (AsCNP), 第39回日本神経精神薬理学会年会, 2009 年 11 月 13 日、京都
3. 堀弘明, 寺石俊也, 篠山大明, 石川正憲, 功刀浩, 統合失調症における視床下部-下垂体-副腎系機能:デキサメタゾン抑制テストによる検討(HPA axis function in schizophrenia: a study by dexamethasone suppression test)、第 32 回日本生物学的精神医学会、2010 年 10 月、小倉
4. 千葉秀一, 沼川忠広, 二宮碧, 功刀浩, Antidepressant- and Anxiolytic-like Properties of Dopamine Receptor Agonist Cabergoline. ドーパミン受容体アゴニストカベルゴリンの抗うつ・抗不安薬様作用、Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会、2010 年 9 月、神戸
5. T.Fuji, H.Uchiyama, N.Yamamoto, H.Hori, M.Tatsumi, M.Ishikawa, K.Arima, T.Higuchi, H.Kunugi, Possible association of the semaphorin 3D gene (SEMA3D) with schizophrenia, Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会合同大会)、2010 年 9 月、神戸
6. H.Hori, T.Teraishi, Y.Ozeki, J.Matsuo, Y.Kawamoto, Y.Kinoshita, S.Suto, T.Higuchi, H.Kunugi, Schizotypal personality in healthy adults is related to blunted HPA axis reactivity, 2nd Biennial Schizophrenia International Research Conference, 2010.4, Florence, (Travel award winning poster)
7. D.Sasayama, C.Wakabayashi, H.Uchiyama, Y.Iijima, T.Fujii, H.Kunugi, Plasma levels and genetic polymorphisms of interleukin 6 and interleukin 10 in schizophrenia, 2nd Biennial Schizophrenia International Research Conference, 2010.4, Florence
8. 山本宜子, 沼川忠広, 安達直樹, 千葉秀一, 岸宗一郎, 橋戸和夫, 功刀浩 「神経栄養因子による脳特異的 microRNA-132 の発現誘導」 2011 年 9 月 15 日、パシフィコ横浜
9. 沼川忠広, 安達直樹, 千葉秀一, 大島淑子, 橋戸和夫, 功刀浩 「グルココルチコイトによる神経伝達物質放出の抑制を回復させる栄養因子機能」 2011 年 9 月 15 日、パシフィコ横浜
10. 岸宗一郎, 沼川忠広, 安達直樹, 水野 英哉, 功刀, 橋戸和夫 「BDNF 依存的シナプス増加 における miRNA-132 機能と ERK シグナル伝達の相互作用」、第 34 回日本神経科学大会 2011 年 9 月 16 日、パシフィコ横浜
11. 藤井崇, 山本典子, 堀弘明, 服部功太郎, 篠山大明, 寺石俊也, 橋倉都, 巽雅彦, 岡本長久, 樋口輝彦, 功刀浩 「大うつ病性障害における p75NTR 遺伝子のミスセンス多型

北里大学 (北里大) 高橋グループ

1. Watanabe, I. Itakura, M. Yamamori, S. and Takahashi, M: α -8, Stargazin-like protein, is associated with Calcineurin in Calcium/Calmodulin-dependent manner in rat hippocampus. 第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月16-18日
2. Itakura, M. Watanabe, I. Yamamori, S. Sugaya, T. Taoka, M. Isobe, T. Takahashi, M: Proteomic analysis of stargazin-like protein, α -8-containing intracellular vesicles in rat hippocampus. 第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月16-18日
3. Yasuda, K. Itakura, M. Aoyagi, K. Sugaya, T. Yamamori, S. Takahashi, M: Phorbol 12-myristate 13-acetate suppresses Ca^{2+} -dependent exocytotic release from rat astroglial cells. 36th International Union of Physiological Sciences (IUPS), Kyoto, July 27-August 1, 2009
4. Sugaya, D. Yamamori, S. Itakura, M. Takahashi, M: Cold water stress-induced phosphorylation of SNAP-25 at Ser¹⁸⁷ in mouse brain. 36th International Union of Physiological Sciences (IUPS), Kyoto, Japan, July 27-August 1, 2009
5. S.Ohtsuka, S.Yamamori, S.Watanabe, E.Suzuki, H.Miyaoka, M.Takahashi, Expression of reversible and irreversible emotional disorders after pilocarpine-induced status epilepticus, Neuro 2010, 2010.9, Kobe
6. H.Kokubo, S.Yamamori, M.Itakura, Y.Iida, H.Miyaoka, M.Takahashi, Monoamines suppressed phosphorylation of SNAP-25 in mouse brain, Neuro 2010, 2010.9, Kobe
7. M.Takahashi, S.Kanno, S.Yamamori, M.Itakura, PKC-dependent phosphorylation of SNAP-25 is essential for the positive regulation of dopamine release in mouse brain, Neuro 2010, 2010.9, Kobe
8. I.Watanabe, M.Itakura, T.Sugaya, M.Takahashi, Direct binding of calcineurin/PP2B to a specific region in the intracellular C-terminal domain of g-8, Neuro 2010, 2010.9, Kobe
9. M.Yamazaki, M.Fukaya, K.Hashimoto, M.Yamasaki, M.Itakura, M.Takahashi, M.Kano, M.Watanabe, K.Sakimura, TARPs g-2 and g-7 are functional components of cerebellar AMPA receptor, Neuro 2010, 2010.9, Kobe
10. 大塚新太郎、山森早織、渡辺滋、鈴木映二、斉藤正範、宮岡等、高橋正身「SNAP-25 のリン酸化は生後発達期のてんかんと不安様行動の発症の抑制に関与する」第34回日本神経科学大会 2011年9月16日、パシフィコ横浜

東京理科大学 古市グループ

1. 篠田陽、木滑恵未、古屋亜佐子、定方哲史、古市貞一: 有芯分泌小胞関連遺伝子 CAPS2 KO マウスにおける海馬 GABA ニューロンの減少と、シナプス可塑性および行動の異常. 第32回日本神経科学大会、名古屋、2009年9月16-18日
2. 定方哲史、篠田陽、古市貞一: ペプチドを含む有芯小胞は Golgi 体よりいかにして生まれるか? 第36回日本神経内分泌学会、北九州、2009年9月4-5日
3. 定方哲史、篠田陽、古市貞一: CAPS1 とクラス 2ARF はゴルジ体における有芯小胞の生成に関わる. 第82回日本生化学会大会、神戸、2009年10月21-24日
4. Shinoda, Y. Sadakata, T. Furuya, A. Semba-Katoh, R. and Furuichi, T: Vesicle associated protein CAPS2 KO mice show impaired synapse function of hippocampus and exhibit depression-like behavior. 36th International Union of Physiological Sciences (IUPS), Kyoto, Japan, July 27-August 1, 2009
5. Shinoda, Y. Kinameri, E. Furuya, A. Sadakata, T. and Furuichi, T: Secretory vesicle-related gene CAPS2 knock-out mice exhibit the reduced number of hippocampal GABAergic interneuron and the impairments in synaptic plasticity and behavior. 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Chicago,

October 17-21, 2009

6. Hayashi, K. Furuya, A. Huang, J. and Furuichi, T: Brain specific RasGEF, v-KIND regulates dendrite arborization. 39th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, October 17-21, 2009
7. 篠田陽、定方哲史、木滑恵未、古屋亜佐子、仙波りつ子、古市貞一、分泌小胞関連タンパク質 CAPS2 による神経栄養因子 BDNF 分泌の速度論的増強: KO マウスにおける BDNF の減少、海馬 GABA ニューロンの発達異常、および不安様行動の増加、第 87 回日本生理学会大会、2010 年 5 月、盛岡
8. 篠田陽、定方哲史、木滑恵未、古屋亜佐子、仙波りつ子、中尾和人、平瀬肇、古市貞一、分泌小胞関連タンパク質 CAPS2 による神経栄養因子 BDNF 分泌制御のイメージング解析、第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会合同大会(Neuro2010)、2010 年 9 月、神戸
9. 定方哲史、篠田陽、古市貞一、CAPS2 のエクソン3スキップマウスは自閉症様形質を示す、第 33 回日本神経科学大会・第 53 回日本神経化学学会大会・第 20 回日本神経回路学会大会合同大会 (Neuro2010)、2010 年 9 月、神戸
10. T.Sadakata, T.Furuichi, Autistic-like phenotypes in CAPS2 exon 3-skipped mice, 18th World Congress on Psychiatric Genetics, 2010.10, Athens
11. T.Furuichi, H.Nishibe, C.Saruta, A.Sato, Genes and transcriptome underlying the postnatal development of the mouse cerebellum, 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2010), 2010.11, San Diego.
12. Nagae A, Sato Y., Sadakata T., Shinoda Y., and Furuichi T., "Co-localization of Ca²⁺-dependent activator protein for secretion (CAPS) proteins with oxytocin in the mouse pituitary", 第 35 回日本神経科学大会, 名古屋・愛知, 2012.9.18-21

広島大学 (広大 B) 岡本グループ

1. Y.Kunisato, Y.Okamoto, S.Aoyama, Y.Demoto, G.Okada, K.Onoda, A.Munakata, M.Nomura, S.Yamawaki, The changes of mood are correlated to fALFF after acute tryptophan depletion : A resting fMRI study, XXVII Congress of the CINP (Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum), 2010.6, Hong Kong
2. Y.Okamoto, G.Okada, Y.Kunisato, S.Yoshimura, S.Tanaka, N.Schiweighofer, K.Doya, S.Yamawaki, Serotonin regulates delayed reward discounting via the modulation of striatum in humans-from fMRI studies after acute tryptophan depletion and loading, ACNP 49th Annual Meeting, 2010.12, Miami Beach
3. 吉野敦雄 岡本泰昌 小野田慶一 吉村晋平 国里愛彦 岡田剛 高橋輝道 山脇成人 "悲しみによる主観的な痛みの増強と脳機能の変化" 第 33 回日本疼痛学会, 松山, 2012 年 7 月
4. Kunisato Y, Okamoto Y, Okada G, Nishiyama Y, Kanai Y, Sasaki-Aoki S, Yoshimura S, Katsuragawa T, Suzuki S, Yamawaki S, "The Association between Brain's Default Mode Network and Anhedonia: a Resting State FMRI Study" The 12th International Congress of Behavioral Medicine (ICBM), Budapest, October, 2012
5. Yoshino A, Okamoto Y, Yoshimura S, Toki S, Shishida K, Yamawaki S. "Sadness enhances the experience of pain and affects brain regions associated with pain" CINP, Stockholm, June, 2012

(4)知財出願

国内出願 (2 件)

産業技術総合研究所 (産総研) 小島グループ

発明の名称:成長因子のプロペプチド

発明者:上垣浩一、水井利幸、熊ノ郷晴子、原とも子、石川保幸、小島正己

出願人:産業技術総合研究所

出願日:2010/05/31
出願番号:特願 2010-123957

広島大学大学院(広大 A) 山脇グループ

発明の名称:精神疾患の検査方法、精神疾患用の検査キット、ならびに精神疾患治療剤および／または予防剤の評価方法」

発明者:森信 繁、淵上 学、山脇成人

出願人:国立大学法人広島大学

出願番号:特願 2010-175748 出願日:平成 22 年 8 月 4 日

(5)受賞・報道等

①受賞

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

1. Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Himi T, Kunugi H: Alterations by chronic restraint stress in anxiety- and depression-like behaviors, glucocorticoid receptor expression and BDNF-dependent neural functions. 第 32 回内藤コンファレンス, 八ヶ岳、山梨、2011 年 10 月 20 日. (ポスター賞受賞)

2. Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba R, Kunugi H: Phencyclidine-induced synapse loss through impairment of BDNF function in cortical neurons. 第 32 回内藤コンファレンス, 八ヶ岳、山梨、2011 年 10 月 20 日. (ポスター賞受賞)

②マスコミ(新聞・TV等)報道

産業技術総合研究所(産総研) 小島グループ(国内 1 件)

・日刊工業新聞「うつ病と神経栄養因子」、2011 年 9 月 29 日

概要:

うつ病の神経栄養因子仮説をどのように検証し、その成果を臨床研究に橋渡しすべきかを述べた記事。

広島大学大学院(広大 A) 山脇グループ(国内 1 件)

- ・朝日新聞「うつ病血液診断に新手法」、2011 年 8 月 31 日
- ・毎日新聞「うつ診断に化学的指標」、2011 年 8 月 31 日
- ・産経新聞「血液鬱病診断『指標』初発見」、2011 年 8 月 31 日
- ・読売新聞「うつ病診断に新指標」、2011 年 8 月 31 日
- ・中国新聞「うつ病客観的指標に候補」、2011 年 8 月 31 日

概要:

神経栄養因子 BDNF 遺伝子上流域のメチル化がうつ病発症のバイオマーカーとして応用できる可能性を述べた記事。

図4 クレスト研究成果を報道する産経新聞

産経新聞 8月31日(1面)



東京理科大学(東理大) 古市グループ(国内 1 件)

Sadakata T., Shinoda, Y., Oka, M., Sekine, Y., Sato, Y., Saruta, C., Miwa, H., Tanaka, M., Itoharu,

S., and Furuichi, T., “Reduced axonal localization of a Caps2 splice variant impairs axonal release of BDNF and causes autistic-like behavior in mice”, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 109, pp.21104-21109, 2012 (DOI: 10.1073/pnas.1210055109)

概要:

古市グループが注目している BDNF 分泌制御因子 Caps2 のスプライシングバリエントは BDNF のアクソンからの BDNF 放出を阻害し、そのバリエントの発現マウスは自閉症様の行動が顕在化していることが見出された。BDNF の分泌を制御するトランス分子はまだほとんど同定されていない。そのため、Caps2 の研究は世界的にも注目されており、本研究によりその分子ファミリーの役割の理解が進んだ。

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

proBDNF のプロセッシング障害という新しい仮説をモデル動物で検証できるか、それがヒトの難治性うつ病と関連する可能性が高いことを明確にできるかどうか、本クレスト研究の成果を評価する上でクリティカルであり、診断・治療法の創出につながる重要なフィジビリティ試験である。

この目標をより達成させるために、国内外の BDNF 研究、動物行動学、行動薬理学、うつ病以外の臨床研究、応用物理学などを専門とする国内外の研究者・製薬メーカーをはじめとする産業界とのネットワーク形成を行い、下記のような展開を行った。

- 産総研の抗うつ薬抵抗性 proBDNF ノックインマウス(特許査定済み 2013/11/05)は、民間企業1社がすでに使用されている。民間企業に向けての実施権許諾は1件、現在交渉中が1件となっている。
- 産総研が注目する proBDNF (特許 4457216 号)について、民間企業に向けての実施権許諾を1件行った。
- クレストでは、BDNF の検出系、シグナリングの解析系、うつ様モデル動物の作製などが大きく進捗した。産総研はとこれらを用いた企業との新たな共同研究は、企業が4社、研究機関が10(国内5、国外5)であった。
- クレスト研究では、BDNF 蛋白質以外の分子細胞病態も多数見だし、産総研は、これらに関する研究機関(2)と企業(1)との共同研究もスタートした。
- 経済産業省の「震災復興技術イノベーション創出実証研究事業」事業に採択され、課題名「うつ病マーカー簡易測定機器の実用化研究開発」(H21～H22)において、うつ病の小型診断機器のプロトタイプの開発と実証研究をタツタ電線(株)と東北大学と共同で行った。
- 広島大学は臨床試料を用いて神経栄養因子 BDNF の遺伝子上流域のメチル化状態を測定し、その結果、エクソン1のプロモーターにうつ病の発症に特異的なメチル化部位が存在するを見いだした。その成果は多くの新聞にも取り上げられ、アメリカのベンチャー企業がその特異的プライマーに注目した。
- BDNF 分子種に対する抗体作製は世界的に遅れていた。クレストチームはこの問題の解消に取り組み、国内外の研究機関(4)および企業(2)との共同研究を行った。
 - 1、BDNF 発見者の Yves Barde との共同研究では、新種の BDNF pro-peptide と BDNF がシナプス前部に局在していることを報告した(Journal of Cell Biology, 2013)。
 - 2、うつ病の小型診断機器の開発研究では、タツタ電線(株)が、診断により最適な抗体をスクリーニングし、うつ病診断機器に最適な抗体を選出した。
 - 3、北里大学が作製した抗体を用いた血中 proBDNF の高感度なアッセイによる血中 proBDNF の測定を25年度に精力的に進め、創薬開発に向けたフィジビリティ試験を本格化した。
- 産総研研究者は、セミナーや見学者対応に加え、シナプスの可視化と定量化を可能にする低密度神経細胞培養技術などを研究機関や企業の研究者に対して紹介・指導した。
- 研究代表者のところには国内外の数多くの企業(製造業、住宅関係など20社以上)の訪問が

あり、うつ病およびその治療診断技術に対する関心の高さを反映した。このような理由から、うつ病の問題点をわかりやすく紹介する講演会も主催した。

②社会還元的な展開活動

- うつ病の生物学を3大学で講義した。
- 抗うつ薬抵抗性 proBDNF ノックインマウスについて、バイオジャパンという展示会に出展し、観客30名ほどを集めた(2009年、横浜)。
- インドで開催されたアジア神経科学会 (FAONS) にて成果発表と研究者との議論を行った。
- 本研究成果と考え方を JST News (URL; <http://www.jst.go.jp/pr/jst-news/backnumber1309.html>) に紹介し、多くの意見を頂いた。

§ 5 研究期間中の活動

主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成21年10月7日	ポスター展示	バイオジャパン 2009	30人	小島正己「神経栄養因子サブタイプ(前駆体BDNF)をターゲットとした精神神経疾患分子研究」
平成24年3月29日	「うつ病の発症・治療・診断 -治療診断に必要な技術と本質的課題とは-」	産業技術総合研究所 関西センター (池田市)	100人	うつ病医療に関する研究会
平成25年11月15日	うつ病の生物学	同志社大学	30人	うつ病の生物学的側面を学部生に講義
平成25年11月22日	うつ病の生物学	同志社大学	30人	生物学としてのうつ病を学部生に講義
平成25年11月25日	うつ病の segmentation の分子神経生物学	大阪大学	60人	うつ病の多様な病態と生物学的研究の進展を大学院生に講義

§6 最後に

本研究課題では、BDNF の前駆体(proBDNF)から成熟体(mBDNF)へのプロセッシング障害、分泌障害といった BDNF の細胞メカニズムがうつ病の難治化やうつ病の特定の病態に関連するものと仮定し、その分子細胞病態の詳細解明、および、基礎研究者と精神科医の連携研究を行い、難治性うつ病の診断技術と治療法の開発を目指した。

研究代表者は、うつ病という多様な病態を有する脳疾患を、BDNF という一つの神経栄養因子だけで理解し、臨床現場に有用な治療診断技術を提供することは極めて困難であると研究当初に強く認識した。

そのため、BDNF のプロセッシング障害を介して起きる分子・細胞病態を追求し、BDNF につづくあるいはともなう病態を解明してきた。その解析結果からは、うつ病に関する臨床知見に近いものも多く見つかり、抗うつ薬抵抗性も見出された。つまり、BDNF プロセッシング障害マウスは難治性うつ病モデルとして妥当と判断している。

本研究課題のもう一つの重要な問題は、proBDNF のプロセッシング障害がヒトの難治性うつ病とどのように関連するかというものであり、本クレスト研究の成果を診断・治療法の創出につなげる上でクリティカルな課題であった。しかし、その測定方法の条件検討、臨床検体の十分な集積は研究代表者の想像を超える年月を要するものであり、最終年度の課題として取り組むことになった。この問題をしっかり回答することができたとき、うつ病の客観的評価技術の一步が出来上がることになり、研究分野への波及効果も期待している。

昨今、異分野研究者の連携によって展開する研究課題は増えた。しかし、各研究にはそれぞれの難しさがありその視点も異なる。そのため、プロジェクト運営では、まず各研究者の意見をよく聞くことを第一とし、その中から共有できる課題、問題点を克服することが重要であった。さらには、国内外の研究者や企業との連携を拡大し、本研究課題を加速することも重要であった。

うつ病は複雑な疾患のひとつであり、その的確な治療法の開発は重要である(下図)。本研究課題のようにうつ病に特化し、基礎研究者と臨床医の連携を行う大型プロジェクトはまだ少ない。そのため、プロジェクト外からも多くの意見を頂き、激励があった。

これらすべてが研究代表者には宝となり今後の研究につながる。分子神経生物学を専門とする研究代表者ではあるが、うつ病の生物学の確立、その知見に基づいた客観的治療診断技術の開発を自らの専門分野として今後も尽力していきたい。

最後に、研究総括の樋口輝彦先生((独)国立精神・神経医療研究センター理事長)、研究領域アドバイザーの先生、JST 関係者の皆様、そして本研究課題に従事された 105 名の研究者の皆様に謝辞を申し上げます。

うつ鬱

うつは、ひらがなで書くと簡単。

しかし、漢字で書くと、漢字検定でも一番画数の多い29画

文字どおり、複雑な疾患、難病といえる。