

## 平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

## 1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名	脳科学研究戦略推進プログラム	
研究開発課題名	うつ病の異種性に対応したストレス脆弱性バイオマーカーの同定と分子病態生理の解明	
機関名	国立大学法人群馬大学	
研究開発 担当者	所属 役職	大学院医学系研究科神経精神医学分野 教授
	氏名	福田 正人

## 2. 研究開発成果の内容

①第2コホートサンプルを用いた中高年発症うつ病のうつ状態依存的マーカーならびにうつ状態非依存的マーカーの疾患特異性の検証

- 1) 中高年齢の大うつ病性障害患者 12 名、双極性障害患者 9 名、統合失調症患者 6 名、認知症患者 1 名がリクルート条件に適合したため、同意を得て採血を行った。適応障害患者からは本研究への参加について同意を得ることができず、解析できなかった。
- 2) 平成 26 年度までに我々が同定したうつ状態依存的マーカーならびにうつ病態反映性マーカーについて、第 2 コホートサンプルを用いて妥当性の検証を行った。定量的リアルタイム PCR 法および ELISA 法により、うつ状態依存的マーカーの再現性が確認されたが、疾患特異性には乏しいことが明らかとなった。また、うつ病態反映性マーカーについて解析したが、解析症例数の問題から、統計学的有意差を得ることができなかった。
- 3) うつ状態依存的マーカーによる補助診断技術としての判別性能について、学会および国際誌にて発表した。また、成果についてプレスリリースを行った。

②中高年発症単極性うつ病患者の臨床マーカーのマルチモーダル解析

- 1) ①と同様に、大うつ病性障害、双極性障害、統合失調症、認知症、適応障害と診断された患者のうち、抑うつ症状を呈する症例についてリクルートを開始した。大うつ病性障害および双極性障害患者についてはほぼ目標数を達成できたが、統合失調症ならびに認知症については年度内での目標数達成には至らなかった。適応障害患者については、本研究への参加について同意を得ることができなかった。
- 2) 第 2 コホート群について、対面式の認知機能テスト Mini-Mental State Examination (MMSE)、ウェクスラー記憶テスト、JART を用いた知的機能の検査を行い、中高年発症うつ病と認知症初期の健常者について明らかな差を認めないことを確認した。そのうえで両群を比較し、脳画像所見 (SPECT、MRI、NIRS) に差を認めないことを明らかにした。また、白血球バイオマーカー遺伝子の定量解析によっても、両群間に明確な違いは見出せなかった。この第 2 コホート群が、認知機能と脳画像解析において第 1 コホート群との間に差を認めないことは確認した。国立大学法人群馬大学の第 2 コホート群におけるこれらの結果は、より症例数を増やすことで差が有意水準に達する可能性が考えられるが、効果量にもとづいて検出力を検討すると脳プロうつ病チーム内でのデータ共有によっても有意に

は至らない結果であった。

### ③バイオマーカー遺伝子情報を基盤とした中高年発症うつ病の病態生理の解明

- 1) 抗 SLC36A1 抗体および抗 CIDEA 抗体を用いてウエスタンブロットを行ったが、いずれの抗体でも解析に要する反応性を得られず、さらに特異性の高い抗体が必要であることが明らかとなった。
- 2) バイオマーカータンパク質を特異的に認識する抗体作製を上記の通り試みたが、組織局在性ならびに発現量の解析に要する反応性を有した抗体を得ることができなかった。
- 3) Pathway 解析および Gene Ontology 解析により、うつ状態と関連の深いシグナルカスケード (protein kinase, neurotrophin, Fas シグナルなど) を同定することができた。特に、Fas シグナルと白血球バイオマーカーとの関連性について培養細胞系で検証した結果、Fas シグナルが活性化することでうつ状態依存的マーカー遺伝子が発現上昇することを明らかにした。

### ④培養細胞系を用いたうつ病の分子病態生理の解析ならびに分子病態の改善、発症・再発予防法に寄与する分子群の解明

- 1) SLC36A1 発現細胞の dendritic protrusion の長さ及び幅をコントロール細胞と比較したが、どちらも統計的な有意な差は検出されなかった。また、機能的シナプスの指標としてポストシナプス集積タンパク質である drebrin の集積度も比較したが、コントロール細胞と統計的な有意な差は検出されなかった。
- 2) エンドセリン誘発性のラット白質虚血梗塞巣に脳微小血管内皮細胞を定位的に移植し、梗塞巣の体積、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPCs) の増殖、細胞死を対照群と経時的に比較検討したところ、内皮細胞移植群では梗塞巣が有意に縮小し、OPCs の増殖は対照群と有意差は認められなかったものの、その細胞死は有意に抑制されていることが明らかになった。また脳微小血管内皮細胞の培養上清を幼弱ラット大脳から調製した OPCs の培養系に添加したところ、その細胞死が有意に抑制されることが明らかになった。さらに脳微小血管内皮細胞の培養上清から調製したエクソソームを OPCs 培養系に添加したところ、その増殖・生存・運動能を有意に促進することが明らかになった。平成 27 年度研究計画のうち、MVEC 移植による白質梗塞内脱髄軸索の再髄鞘化促進効果が OPCs の細胞死抑制を介するものであることを in vivo の動物モデルで実証するマイルストーン、MVEC 由来エクソソームが OPCs の生存・増殖を促進することを in vitro の培養系で実証するマイルストーンは達成されたが、その分子基盤を解明するというマイルストーンは達成できていない。

### ⑤プロジェクトの総合的推進

国立大学法人群馬大学グループが一堂に会する全体会議を 2 回開催した。また、課題 F 内での情報交換を行い、脳プロうつ病研究拠点間での共同研究について立案し、協議した。複数の論文発表および学会発表を行い、うつ病の異種性に対応したストレス脆弱性や病態生理のクリティカル・バイオロジカル・パスを提唱した。