

「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」

平成 19 年度採択研究代表者

貝淵 弘三

名古屋大学大学院医学系研究科・教授

神経発達関連因子を標的とした統合失調症の分子病態解明

§ 1. 研究実施の概要

私共のグループは、神経発達に関連する統合失調症発症脆弱性因子 (DISC1、Dysbindin、Neuregulin-1、CRMP-2 など) に焦点を当て、その生理機能や分子間ネットワークを解明することにより、統合失調症の分子病態を明らかにすることを試みている。また、発症脆弱性因子の結合分子を対象とした遺伝学的解析を進めると共に、全ゲノム領域対象の関連解析 (GWAS) を推進し、新規の発症脆弱性因子を同定することを目指している。現在までの本研究では、DISC1 結合蛋白質として 122 種類の分子、発症脆弱性因子として 14-3-3 ε 遺伝子などを同定した。本年度はこれらの分子に着目し、機能解析を行った。DISC1 ノックアウト (KO) マウスを作製し解析を行ったところ、DISC1 はゴルジ体に多く存在し、様々な分子の細胞内輸送を制御する可能性が示唆された。また、行動学的解析より、DISC1 が不安や感覚情報処理に関与することを見出した。これらの結果は、DISC1 が神経細胞での細胞内輸送を制御することにより、神経細胞の発達、成熟を調節し、神経回路形成や行動に関与することを示唆している。今後、さらにこれらの発症脆弱性因子の病態生理機能を解析すると共に、変異マウスの生理学的、行動学的、神経化学的、病理学的解析を行い、統合的に分子病態の解明を進め、新たな予防法・治療法の創出へと繋げたいと考えている。

§ 2. 研究実施体制

(1) 「名古屋大学」グループ

① 研究分担グループ長: 貝淵 弘三 (名古屋大学大学院医学系研究科・教授)

② 研究項目

(研究項目1) 既知の発症脆弱性因子の結合蛋白質の同定と機能解析

統合失調症発症脆弱性因子およびその結合蛋白質の生理機能や病態への関与を、生化学

学、分子生物学、細胞生物学、マウス発生工学の手法を用いて解析する。

(研究項目3)新規脆弱性因子の同定

既知の発症脆弱性因子の結合蛋白分子の中から、神経発達に関与する遺伝子を候補として、統合失調症患者から得たゲノムを用いて関連解析を行う。

また、藤田保健衛生大学の岩田らと共同して行った全ゲノム領域を対象とした関連解析から、新たな発症脆弱性因子の候補を抽出し、リシーケンスを行い統合失調症との関連を確認する。

(研究項目4)中間表現型の解析

モデル動物においても共通の表現型として検討可能な認知機能、リンパ球での遺伝子発現および蛋白質発現といった中間表現型の解析を行う。

(研究項目5)死後脳の解析

統合失調症との関連が示された遺伝子産物の発現レベルや活性を死後脳サンプルより解析する。

(研究項目6)モデルマウスの作製

統合失調症発症脆弱性因子、またはその関連が示唆された遺伝子のトランスジェニック(TG)マウスあるいはKOマウスを作成する。研究には早稲田大学の尾崎美和子も参加する。

(研究項目7)モデルマウスの解析

入手・作製したモデルマウスの行動を系統的に解析し、統合失調症様行動異常あるいは認知機能障害の有無を検討する。研究には早稲田大学の尾崎美和子も参加する。

(研究項目8)統合失調症の分子病態の解明・診断治療法の開発

既知の統合失調症発症脆弱性因子から結合分子・関連分子を網羅的に同定・解析することで分子間ネットワークを構築し、新しい統合失調症の疾患概念や病型分類を提案する。遺伝子診断により発症リスクや予後を予測するシステムを構築する。

(2)「藤田保健衛生大学」グループ

①研究分担グループ長:岩田 仲生(藤田保健衛生大医学部、教授)

②研究項目

(研究項目3)新規脆弱性因子の同定

全ゲノム領域を対象とした関連解析を行う。新たな脆弱性遺伝子座位を事前の仮説なく検出する。

(3)「富山大学」グループ

①研究分担グループ長:高橋 努(富山大学大学院医学薬学研究部、助教)

②研究項目

(研究項目4)中間表現型の解析

統合失調症患者のMRI画像と事象関連電位による中間表現型解析を行う。すなわち、統

合失調症患者と健常者において、MRI 画像から関心領域法および voxel-based morphometry により体積を測定し、聴覚性 odd-ball 課題遂行時の事象関連電位の振幅や潜時の測定および電流源分布の機能画像による解析をおこない、統合失調症関連候補遺伝子の一塩基多型 (SNP) による影響を検討する。

(4)「大阪大学」グループ

①研究分担グループ長:橋本 亮太(大阪大学大学院医学系研究科、特任准教授)

②研究項目

(研究項目1)統合失調症発症脆弱性因子 Dysbindin の機能解析

Dysbindin の生理機能や病態への関与を、細胞生物学、マウス発生工学の手法を用いて解析する。

(研究項目4)中間表現型の解析

モデル動物においても確認可能な表現型である認知機能との関連を検討する。

§ 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

(研究項目1)既知の発症脆弱性因子の結合蛋白質の同定と機能解析

(担当: 貝淵、山田)(橋本、尾崎美和子らも参加)

当研究代表者らは統合失調症発症脆弱性因子である DISC1 の結合蛋白質を網羅的に解析し、Kinesin-1、Nudel 複合体、Grb2 などを含む 122 種類の結合蛋白質をすでに同定している。これらの結合蛋白質の生理機能や病態への関与を、生化学、分子生物学、細胞生物学(培養神経細胞、分子イメージング)、マウス発生工学(子宮内遺伝子導入)の手法を用いて解析する。

また、DISC1 以外の発症脆弱性因子の 14-3-3 ϵ^1 、Dysbindin、Neuregulin-1^{2, 3, 4}、CRMP-2^{5, 6} についてもその結合蛋白質の同定を進める。他のグループと協力しながら、個々の発症脆弱性因子の病態生理機能を解析すると共に、分子間ネットワークの解析を推進する。

DISC1 と mRNA 蛋白質複合体(mRNP 複合体)構成蛋白質

DISC1 結合蛋白質として RNA 結合タンパク質を多数同定している。CaMKII α 、PSD-95 などの mRNA が、mRNP 複合体を介して樹状突起のポストシナプス領域に輸送され、局所的に蛋白質合成されることがシナプス可塑性発現に必須と考えられている。H21 年度までに、DISC1 が Kinesin-1 モーター複合体を介して 1 型 IP3 受容体 (IP3R1) の mRNA を輸送制御していることを見出した。そして、DISC1 の IP3R1 mRNA への結合は局所タンパク質翻訳制御に関与していることを見出した。H22 年度は DISC1 と結合する mRNA を網羅的に同定するため、抗 DISC1 抗体を用いた RNA 免疫沈降実験を行い、DISC1 と共沈降した mRNA を解析した。その結果、幾つかの電位依存性チャネルをコードする mRNA が DISC1 と共に、共沈してくることが分かった。

DISC1 と細胞内輸送

H21 年度までに、アフィニティーカラムクロマトグラフィと LC-MS/MS⁷を用いた DISC1 結合分子の網羅的解析を行った。H22 年度の解析より、DISC1 結合蛋白質として新たに AP-1、AP-3、ARFGEF2 や PACS-1 を同定した。AP-1 と AP-3 はアダプター蛋白質としてゴルジ体あるいは Trans-Golgi Network (TGN)からの輸送小胞の選択的な出芽を制御していることがよく知られている。ARFGEF2 は GDP 型の不活性型の ARF を GTP 型の活性型に変換する因子である。活性化された ARF は AP-1 や AP-3 をゴルジ膜に引き寄せるアンカー蛋白質として輸送小胞の出芽を制御する。PACS-1 は IGF2 受容体などの細胞質領域の acid cluster に結合して AP-1 や AP-3 に繋ぐ scaffold 蛋白質として働き IGF2 受容体の TGN と late endosome 間の輸送を制御している。さらに、DISC1 が TGN 領域に強く濃縮していることを明らかにした。以上より、DISC1 はこれらの蛋白質と相互作用することにより TGN や late endosome で輸送小胞の出芽や輸送を制御している可能性が提示された。今後は、DISC1 による細胞内輸送機構の制御機構を詳細に解析してゆくとともに、DISC1 がどのような分子の細胞内輸送を制御しているのかを明らかにする予定である。

Dysbindin

DISC1 と同様に統合失調症発症脆弱性因子として有力である Dysbindin 遺伝子について、機能解

析、中間表現型解析、モデルマウスの作製、および行動解析等を行い、Dysbindin 遺伝子について包括的な研究を行っている。H21 年度までに Dysbindin が c-Jun N-terminal kinase の活性化に関与することを見出した。H22 年度は、Dysbindin が核内に移行して転写因子である NF-YB を介して myristoylated alanine-rich protein kinase C (MARCKS) の発現を制御していることを明らかにした。

(研究項目3)新規脆弱性因子の同定

(担当:尾崎紀夫、岩田仲生)(貝淵、橋本らも参加)

遺伝疫学的研究から、統合失調症の発症リスクは、遺伝的要因が大きく関与していることが指摘されている。しかし、そのリスクとなりうる遺伝子同定を試みた多くの遺伝子研究は、確証的な遺伝子の同定に至っていない。一つの理由は、候補遺伝子の選出方法が、生物学的な知見に偏りすぎている可能性があげられる。本研究は、統合失調症のリスクとなりうる遺伝子を、全ゲノムを対象とした遺伝子多型を用いることで、網羅的かつ、生物学的仮説なしに解析することを目的として行われた。このような手法は、全ゲノム関連研究 (Genome-Wide Association Study: GWAS) と呼ばれる方法論であるが、頻度の高い遺伝子多型 (一塩基多型: SNP) に加え、遺伝子の数の違いである Copy Number Variant (CNV) も同定することが可能となる^{8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20}。

既知の脆弱性因子結合分子・関連分子の SNP 解析

H21 年度までに日本人統合失調症の全ゲノム関連解析 (GWAS) を実施したが、個々の SNP 解析の結果によるとゲノムワイドに有意な関連は確認できなかった。そこで、検出力を上げるため、H22 年度は日本人データに英国人 GWAS データを加えて解析を実施した^{9, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27}。その結果、再びゲノムワイドに有意な関連は見いだせなかったが、*SULT6B1* 上に位置する rs11895771 ($p_{\text{meta}}=3.7 \times 10^{-5}$) がメタ解析のトップとして同定され、機能的にも統合失調症との関連が予測された。また、既報の候補領域の中では *NOTCH4* の関連を支持する所見が得られたが (rs2071287: $p_{\text{meta}}=5.1 \times 10^{-5}$)、同領域は Caucasian を対象とした GWAS でゲノムワイドに有意な関連が報告されており、人種間共通の所見として注目される。さらに、個々の SNP が発症に与える影響が小さい点を考慮して、複数の SNP をまとめて解析する polygenic component 解析を行った。その結果、日本人統合失調症の遺伝的要因に多数の SNP からなる polygenic component が関与すること、また日本人及び英国人に共通の遺伝的要因として多数の SNP からなる polygenic component が関与することを明らかにした²¹。

一方、統合失調症の遺伝的要因として頻度の低い稀な変異 (rare variant) の重要性が認識され始めた。そこで、第一に、本疾患の発症に強い影響を及ぼす稀なゲノムコピー数変異 (CNV) が同定されたことから、上述の SNP アレイデータを再解析し、CNV の探索を行った。その結果、稀な CNV は患者群に多い傾向があることを確認した ($p=0.087$)。さらに既報で関連が報告された CNV 領域の中で、1q21.1 と *NRXN1* の欠失、16p13.1 の重複を日本人統合失調症サンプルで同定した。今後は、さらなる追試を行うことで、確定的と言える有意水準を目指す。また、候補領域の塩基配列

を決定し、病態と関連する機能的な変異を同定することを行うことで、統合失調症の「真のリスク」の同定を確定させていきたい。

候補遺伝子座位のリシーケンシング

第二に実施した rare variant の検討としては、稀なミスセンス変異に着目し、以下の解析を実施した。すなわち、H21年度までに得られた我々の日本人 GWAS の結果と、神経発達に關与する遺伝子という機能的知見に基づき、4つの遺伝子 (*KALRN*, *EPHB1*, *VAV3*, *PCNT*) を選択し、H22年度はそれらの遺伝子のエクソン・リシーケンシングを行った。Platformとして Affymetrix resequencing array を用いて統合失調症患者 320名を解析し、合計で40個以上の稀 (<1%) なミスセンス変異を同定した。その後、大規模なケース・コントロールサンプルを対象として統合失調症との関連を検討した結果、*KALRN* のミスセンス変異の1つ、P2255T が有意な関連を示した (OR=2.09, corrected p=0.048)。また、複数の変異を合わせて解析する combined association analysis でも *KALRN* のミスセンス変異の統合失調症との関連を確認した。これら *KALRN* のミスセンス変異は *in silico* 解析でも機能的な意義が確認された。*KALRN* は RhoGEF の1つで、DISC1 結合分子であり、軸索伸長、樹状突起形成、スパイン形成を制御するなど神経発達において重要な働きを果たすことが明らかになっている。本研究により、*KALRN* の複数の稀なミスセンス変異が統合失調症発症の遺伝的要因の一つである可能性を示した²⁸。

Dysbindin

H21年度までに転写因子である TATA Box-Binding Protein (TBP) 遺伝子が統合失調症と関連し、しかも神経生理学的な中間表現型の一つである NIRS による前頭葉課題時の賦活とも関連することを見出した。H22年度は免疫系の保護的因子である Chitinase 3-Like 1 (CH3L1) 遺伝子が統合失調症と関連することを見出した。一方、統合失調症のリスク遺伝子として報告されている G72 遺伝子、アポトーシスに關与する Bcl2-interacting killer (BIK) 遺伝子と統合失調症との関連を検討したが、否定的であった。

(研究項目4) 統合失調症患者の中間表現型解析

(担当: 尾崎紀夫、山田、高橋、橋本)

当研究代表者らは、モデル動物においても確認可能な表現型である認知機能と統合失調症患者の中間表現型との関連を検討している^{29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38}。

統合失調症の記憶障害モデルマウスの同定

プレパルスインヒビション(PPI)の障害は、統合失調症の神経生理学的な中間表現型として知られ、モデル動物でも汎用されている重要な表現型である。H22年度は、本邦における統合失調症のPPI障害を検出する系の確立を行った。さらに、光トポグラフィー(NIRS)による前頭葉依存性課題時の前頭葉賦活を測定する神経生理学的な中間表現型について検討を行い、前頭葉賦活障害を検出する系の確立を行った。前述の脆弱性因子とその結合分子を候補遺伝子とした関連解析において統合失調症との関連を見出したTBP遺伝子において、NIRSを用いて測定した前頭葉実行機能課題であるハノイの塔課題時の前頭葉賦活との関連を見出した。記憶に関連することが白人サンプルで報告されているKIBRA遺伝子において、日本人サンプルにおいても記憶と関連することを報告した^{39, 40}。Dysbindinの遺伝子多型が、認知機能の中でも記憶と関連することを見出した(図1)。この所見は後に述べるDysbindin-KOマウスにおいて記憶障害が認められることと合わせて考えると非常に興味深いと思われる。

統合失調症の記憶障害モデルマウスの同定

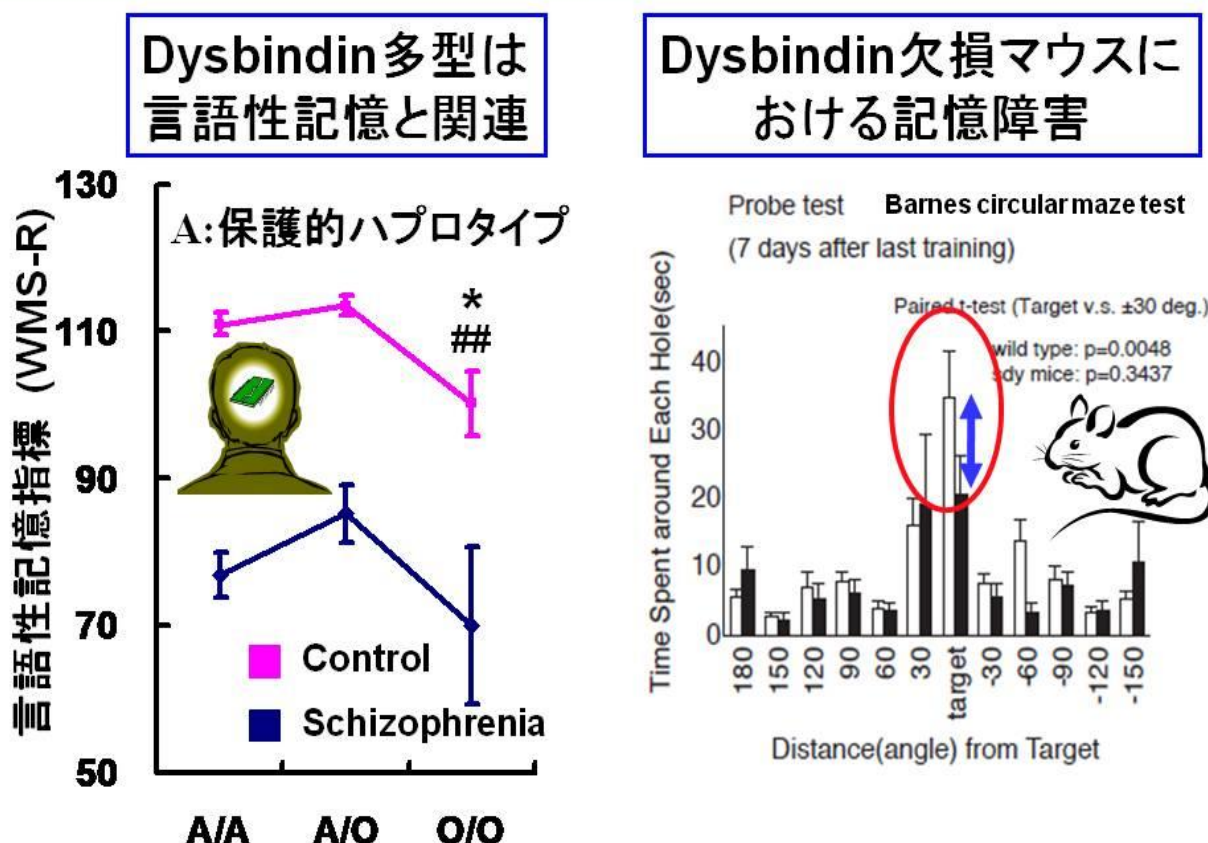


図1・統合失調症の記憶障害モデルマウスの同定

脳形態の中間表現型としての妥当性の検討

H21 年度に引き続き、統合失調症患者を対象に頭部 MRI 撮像および SNP 解析のための採血を行い症例蓄積中である^{41, 42, 43, 44}。また脳形態の中間表現型としての妥当性を検討するため、様々な神経精神疾患の各臨床病期における脳形態の特徴を比較した。その結果、境界性パーソナリティ障害や慢性期の双極性障害にも統合失調症と一部類似した脳形態変化がみられることが見出された⁴⁵。一方、統合失調症では初回エピソード中に上側頭回や下垂体⁴⁶に進行性の体積変化がみられ、その程度が臨床症状の改善不良と関連することが見出された。

事象関連電位

現在は症例蓄積中であり、また中間表現型としての妥当性を確立するため、統合失調症圏における事象関連電位の特徴およびそれに影響する臨床的要因に関する検討を行った。その結果、ミスマッチ陰性電位の振幅が統合失調症の顕在発症前後で変化すること、また治療により振幅低下が改善することが示された。

研究項目5) 統合失調症患者の死後脳を用いた解析

(担当: 尾崎紀夫) (岩田、橋本らも参加)

統合失調症の病態として神経発達障害仮説が幅広く支持されているが、神経発達の障害に基づいた神経細胞の脆弱性が統合失調症脳において存在するならば、加齢に対する影響は統合失調症脳においてより強く現れる可能性がある。そこで H22 年度は、脳病理標本を用いて統合失調症脳に関心領域の一つである Heschl 回、上側頭回の灰白質の断面積を測定し、加齢による脳形態変化について正常対照と比較検討を行った。対象は統合失調症と診断された死亡時年齢、30-54 歳 (younger group) および、65-84 歳 (older group) の病理剖検脳から作成された脳標本を使用した。正常対照例は統合失調症例と年齢、性別を一致させた精神神経疾患の既往のない脳標本を用いた。海馬一視床下核を通る冠状断の KB 染色、HE 染色組織標本を用いて、左側の Heschl 回、上側頭回の灰白質の断面積を計測、同標本上の脳表長にて標準化し、加齢における変化を評価・検討した。左側上側頭回では灰白質と白質の断面積比に関しても評価を行った。その結果、younger group と older group を比較して灰白質断面積に対する加齢による影響は、対照と比較し有意な差は認められなかった。一方、灰白質と白質の断面積比に対して、加齢による影響に対照と有意な差が認められた。灰白質の断面積は加齢によって減少したが、これらの変化は統合失調症と正常対照とで差異は無く、灰白質の加齢性の委縮が、正常対照と統合失調症で差異の無いことが示唆された。一方、白質において、加齢による影響に差異がある可能性が示唆された。

(研究項目6) モデルマウス(KO、TG)の作製

(担当: 貝淵、山田、尾崎美和子) (橋本らも参加)

モデルマウスの作成

H21 年度までに、DISC1-KO マウスを作成し、目的のエクソンを欠失していることを確認した。また、これまでに 14-3-3 ε -KO マウスおよび Dysbindin-KO マウスを入手している。H22 年度は、これらのマウスについて、より精密な解析ができるよう、戻し交配を行い遺伝的背景を統一した。DISC1-KO については、戻し交配が完了したため、現在、解析を行っている。さらに DISC1 結合分子である Girdin と FEZ1 について、Girdin-KO マウスを名古屋大学大学院医学系研究科の高橋教授から、FEZ1-KO マウスを九州大学生体防御医学研究所の中山教授から新たに入手した。これらについては、現在戻し交配を行っている。また統合失調症発症脆弱性因子である CRMP-2⁵ について解析を行うため、コンディショナルノックアウト (CKO) マウスを現在作製している。

(研究項目7) 統合失調症モデルマウスの解析

(担当: 貝淵、尾崎紀夫、山田) (橋本らも参加)

DISC1-KO マウスの解析

H21 年度までに、当研究代表者らは様々なアプローチからモデルマウスの確立、及びマウスの認知機能を含む行動解析を行い、統合失調症様の認知機能障害および行動障害の有無を検討している。H22 年度は DISC1-KO マウスの遺伝学的解析、組織病理学的解析、細胞生物学的解析、行動薬理的解析を行った。DISC1-KO マウスは、メンデルの法則に従って生まれ、仔マウスは外見的に正常で、発育や体重も野生型と変わらなかった。これらのことから DISC1 は欠失しても個体の発生・成長に重大な影響を及ぼさない遺伝子であると考えられる。DISC1-KO マウスと、これまでの抗 DISC1 抗体を用いて、DISC1 蛋白質を評価したところ、DISC1 は組織内の含有量が 0.0005% と非常に少なく、抗体での検出が極めて難しい蛋白質であることがわかった。さらに市販の抗体は、感度が不足しており、内在性の DISC1 を検出できていないこと、我々がこれまで使用してきた抗体は内在性の DISC1 を検出できるものの、感度・特異度が不十分であることがわかった。そこで、再度抗体を作製し、KO マウスを用いて抗体のスクリーニングを行い、より感度・特異度の優れた 2 種類の抗体を得ることに成功した。この抗体を用いて生体内での DISC1 の局在を解析したところ、DISC1 は、これまで報告されてきた、核や中心体、ミトコンドリアと比べて、ゴルジ体に強く濃縮していることが判明した。現在、この抗体を用いてさらなる解析を行っている。これまでに、様々なグループが DISC1 の機能について報告している。しかし、上記のように、既存の抗体が内在性の DISC1 を十分に認識できていない可能性が示唆されたことから、これまでの抗 DISC1 抗体を用いた解析結果について、我々の抗体と KO マウスを用いた再評価が必要であると考えられる。さらに、DISC1 の機能を *in vivo* 解析するために、DISC1-KO マウスの精神機能を行動薬理的に解析した。統合失調症は主に 10 代後半以降に発症することから、行動解析は 4 週齢と 12 週齢のマウスを用いて行った。4 週齢において DISC1-KO マウスは顕著な行動変化を示さなかった (表 1)。一方、12 週齢の DISC1-KO マウスでは、高架式十字迷路におけるオープンアームにおける滞在時間の増加およびエントリー回数の増加、断崖回避試験における飛び降り回数の増加、ソーシャルインタラクション試験における社会性行動の増加、恐怖条件付け試験における文脈依存的記憶の増加が認められた (表 1)。さらに、プレパルス抑制の障害およびメタンフェタミンに対する感受性

の亢進が雌性 DISC1-KO マウスに認められた(表 1)。高架式十字迷路や断崖回避試験の結果から、DISC1-KO マウスでは不安の低下、あるいは衝動性の亢進が示唆された。記憶について、一部の試験で増強するという結果が得られたが、その他全ての試験で記憶関連行動に変化はなく、DISC1 と学習記憶との関連は少ないと考えられる。一部の試験については結果に雌雄差が認められ、DISC1 の高次機能での役割には性差があることが示唆された。一方、DISC1-KO マウスの脳内モノアミン含量を測定した結果、有意な変化は認められなかった。現在、DISC1-KO マウスで認められる行動変化が抗精神病薬で改善されるかどうかを検討している。また、マイクロダイアリス法を用いてメμφェタミン誘発性ドーパミン遊離についても解析を行っている。

表 1. DISC1-KOマウスの行動解析

試験名	精神機能	4週齢	12週齢
		雌雄(雄、雌)	雌雄(雄、雌)
運動量	運動機能	=	=
MK801誘発性運動亢進	薬物反応性	ND	=
メタンフェタミン誘発性運動亢進	薬物反応性	ND	=(=、増加)
オープンフィールド試験	情動性	=	=
高架式十字迷路試験	不安	ND	低下(低下、低下)
断崖回避試験	衝動性、不安	ND	増加(=、増加)
強制水泳試験		ND	=
ソーシャルインタラクション試験	社会性	=	増加(増加傾向、増加傾向)
プレパルス抑制試験	感覚情報処理機構	ND	低下(=、低下)
潜在抑制試験	潜在抑制	ND	=
Y字型迷路試験	短期記憶	=	=
放射状迷路試験	空間記憶の獲得	ND	=
	作業記憶	ND	=
恐怖条件付け試験	海馬依存性記憶	ND	増強(亢進傾向、亢進傾向)
	海馬非依存性記憶	ND	=
物体認知記憶試験	認知記憶	=	=

=: no difference, ND: not determined.

Girdin-KO マウスの解析

当研究代表者らは Girdin-KO マウスの神経病理学的解析を行っている。統合失調症患者において減少していると報告されている PV 陽性介在神経などについて異常を認めている。

14-3-3 ϵ -KO マウスの解析

当研究代表者らは、これまでに、14-3-3 ϵ -KO マウスの行動解析を行い、統合失調症に関連する異常が認められるという報告を行っている。H22 年度は、14-3-3 ϵ ヘテロ KO マウスの組織病理学的解析を行い、このマウスの眼窩前頭皮質において、チロシン水酸化酵素 (TH) 陽性な神経突起が減少していることを見いだした¹。このことは、14-3-3 ϵ ヘテロ KO マウスの前頭前野において、神経伝達物質の機能障害が起きているためと考えられる。

Dysbindin-KO マウスの解析

当研究代表者らは Dysbindin 変異マウスの行動を系統的に解析し、統合失調症様行動異常あ

るいは認知機能障害の有無を検討している⁴⁷。

H22 年度には Dysbindin-KO マウスの行動解析を行い、新奇環境における探索意欲の減退や、不安の増強、社会的行動の異常を見出し、これらの異常行動には、KOマウスの大脳皮質、海馬、視床下部におけるドーパミン含量が関連しているという結果が得られた。その上、Dysbindin-KO マウスでは、ワーキングメモリーの障害や長期記憶の保持の障害などの認知機能障害があることを見出した(図7)。この結果は、ヒトの中間表現型解析において Dysbindin 遺伝子が記憶と関連していることと統合失調症脳にて Dysbindin の発現が低下していることと合わせて考えると、Dysbindin-KO マウスは統合失調症の記憶障害のモデルマウスとなることが示唆される。統合失調症の記憶障害などの認知機能障害に効果的な治療薬は未だ存在しないことから、その開発に必須である記憶障害のモデルマウスを確立したことは非常に重要な知見であると思われる。

また、Dysbindin の過剰発現マウスを作成し、オープンフィールド試験、プレパルス抑制テスト等の行動解析を開始した。

(研究項目8)統合失調症の分子病態の解明・診断治療法の開発

(担当:貝淵、尾崎紀夫、山田)

当研究代表者らは、既知の統合失調症発症脆弱性因子から結合分子・関連分子を網羅的に同定・解析することで分子間ネットワークを構築し、新しい統合失調症の疾患概念や病型分類を提案することを目標としている。H22年度は統合失調症のバイオマーカー探索を行った^{48, 49, 50, 51}。今後、得られた結果を元に、遺伝子診断により発症リスクや予後を予測するシステムを構築してゆく。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

● 論文詳細情

1. Sekiguchi, H., Iritani, S., Habuchi, C., Torii, Y., Kuroda, K., Kaibuchi, K. & Ozaki, N. Impairment of the tyrosine hydroxylase neuronal network in the orbitofrontal cortex of a genetically-modified mouse model of schizophrenia. *Brain Res* (2011) 10.1016/j.brainres.2011.03.058.
2. Kato, T., Abe, Y., Sotoyama, H., Kakita, A., Kominami, R., Hirokawa, S., Ozaki, M., Takahashi, H. & Nawa, H. Transient exposure of neonatal mice to neuregulin-1 results in hyperdopaminergic states in adulthood: implication in neurodevelopmental hypothesis for schizophrenia. *Mol Psychiatry* **16**, 307-20 (2011) 10.1038/mp.2010.10.
3. Kato, T., Kasai, A., Mizuno, M., Fengyi, L., Shintani, N., Maeda, S., Yokoyama, M.,

- Ozaki, M. & Nawa, H. Phenotypic characterization of transgenic mice overexpressing neuregulin-1. *PLoS One* **5**, e14185 (2010) 10.1371/journal.pone.0014185.
4. Shibuya, M., Komi, E., Wang, R., Kato, T., Watanabe, Y., Sakai, M., Ozaki, M., Someya, T. & Nawa, H. Measurement and comparison of serum neuregulin 1 immunoreactivity in control subjects and patients with schizophrenia: an influence of its genetic polymorphism. *J Neural Transm* **117**, 887-95 (2010) 10.1007/s00702-010-0418-3.
 5. Koide, T., Aleksic, B., Ito, Y., Usui, H., Yoshimi, A., Inada, T., Suzuki, M., Hashimoto, R., Takeda, M., Iwata, N. & Ozaki, N. A two-stage case-control association study of the dihydropyrimidinase-like 2 gene (DPYSL2) with schizophrenia in Japanese subjects. *J Hum Genet* **55**, 469-72 (2010) 10.1038/jhg.2010.38.
 6. Amano, M., Nakayama, M. & Kaibuchi, K. Rho-kinase/ROCK: A key regulator of the cytoskeleton and cell polarity. *Cytoskeleton (Hoboken)* **67**, 545-54 (2010) 10.1002/cm.20472.
 7. Itoh, N., Nakayama, M., Nishimura, T., Fujisue, S., Nishioka, T., Watanabe, T. & Kaibuchi, K. Identification of focal adhesion kinase (FAK) and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-kinase) as Par3 partners by proteomic analysis. *Cytoskeleton (Hoboken)* **67**, 297-308 (2010) 10.1002/cm.20444.
 8. Hashimoto, R., Ohi, K., Yasuda, Y., Fukumoto, M., Iwase, M., Iike, N., Azechi, M., Ikezawa, K., Takaya, M., Takahashi, H., Yamamori, H., Okochi, T., Tanimukai, H., Tagami, S., Morihara, T., Okochi, M., Tanaka, T., Kudo, T., Kazui, H., Iwata, N. & Takeda, M. The impact of a genome-wide supported psychosis variant in the ZNF804A gene on memory function in schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **153B**, 1459-64 (2010) 10.1002/ajmg.b.31123.
 9. Kishi, T., Fukuo, Y., Kitajima, T., Okochi, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Inada, T., Kunugi, H., Kato, T., Yoshikawa, T., Ujike, H., Ozaki, N. & Iwata, N. SIRT1 gene, schizophrenia and bipolar disorder in the Japanese population: an association study. *Genes Brain Behav* **10**, 257-263 (2011) 10.1111/j.1601-183X.2010.00661.x.
 10. Kishi, T., Fukuo, Y., Okochi, T., Kitajima, T., Kawashima, K., Naitoh, H., Ujike, H., Inada, T., Yamada, M., Uchimura, N., Sora, I., Iyo, M., Ozaki, N. & Iwata, N. Serotonin 6 receptor gene is associated with methamphetamine-induced psychosis in a Japanese population. *Drug Alcohol Depend* **113**, 1-7 (2011) 10.1016/j.drugalcdep.2010.06.021.
 11. Kishi, T., Fukuo, Y., Yoshimura, R., Okochi, T., Kitajima, T., Naitoh, H.,

- Umene-Nakano, W., Nakamura, J., Ozaki, N. & Iwata, N. Pharmacogenetic study of serotonin 6 receptor gene with antidepressant response in major depressive disorder in the Japanese population. *Hum Psychopharmacol* **25**, 481-6 (2010) 10.1002/hup.1142.
12. Kishi, T., Kitajima, T., Tsunoka, T., Okumura, T., Okochi, T., Kawashima, K., Inada, T., Ujike, H., Yamada, M., Uchimura, N., Sora, I., Iyo, M., Ozaki, N. & Iwata, N. PROKR2 is associated with methamphetamine dependence in the Japanese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**, 1033-6 (2010) 10.1016/j.pnpbp.2010.05.018.
 13. Kishi, T., Okochi, T., Tsunoka, T., Okumura, T., Kitajima, T., Kawashima, K., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Naitoh, H., Inada, T., Kunugi, H., Kato, T., Yoshikawa, T., Ujike, H., Ozaki, N. & Iwata, N. Serotonin 1A receptor gene, schizophrenia and bipolar disorder: an association study and meta-analysis. *Psychiatry Res* **185**, 20-6 (2011) 10.1016/j.psychres.2010.06.003.
 14. Kishi, T., Yoshimura, R., Kitajima, T., Okochi, T., Okumura, T., Tsunoka, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Fukuo, Y., Naitoh, H., Umene-Nakano, W., Inada, T., Nakamura, J., Ozaki, N. & Iwata, N. SIRT1 gene is associated with major depressive disorder in the Japanese population. *J Affect Disord* **126**, 167-73 (2010) 10.1016/j.jad.2010.04.003.
 15. Kobayashi, H., Ujike, H., Iwata, N., Inada, T., Yamada, M., Sekine, Y., Uchimura, N., Iyo, M., Ozaki, N., Itokawa, M. & Sora, I. The adenosine A2A receptor is associated with methamphetamine dependence/psychosis in the Japanese population. *Behav Brain Funct* **6**, 50 (2010) 10.1186/1744-9081-6-50.
 16. Munesue, T., Yokoyama, S., Nakamura, K., Anitha, A., Yamada, K., Hayashi, K., Asaka, T., Liu, H.X., Jin, D., Koizumi, K., Islam, M.S., Huang, J.J., Ma, W.J., Kim, U.H., Kim, S.J., Park, K., Kim, D., Kikuchi, M., Ono, Y., Nakatani, H., Suda, S., Miyachi, T., Hirai, H., Salmina, A., Pichugina, Y.A., Soumarokov, A.A., Takei, N., Mori, N., Tsujii, M., Sugiyama, T., Yagi, K., Yamagishi, M., Sasaki, T., Yamasue, H., Kato, N., Hashimoto, R., Taniike, M., Hayashi, Y., Hamada, J., Suzuki, S., Ooi, A., Noda, M., Kamiyama, Y., Kido, M.A., Lopatina, O., Hashii, M., Amina, S., Malavasi, F., Huang, E.J., Zhang, J., Shimizu, N., Yoshikawa, T., Matsushima, A., Minabe, Y. & Higashida, H. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res* **67**, 181-91 (2010) 10.1016/j.neures.2010.03.004.
 17. Nakamura, Y., Ito, Y., Aleksic, B., Kushima, I., Yasui-Furukori, N., Inada, T., Ono, Y. & Ozaki, N. Influence of HTR2A polymorphisms and parental rearing on personality traits in healthy Japanese subjects. *J Hum Genet* **55**, 838-41 (2010)

- 10.1038/jhg.2010.110.
18. Ogasawara, K., Nakamura, Y., Aleksic, B., Yoshida, K., Ando, K., Iwata, N., Kayukawa, Y. & Ozaki, N. Depression associated with alcohol intake and younger age in Japanese office workers: a case-control and a cohort study. *J Affect Disord* **128**, 33-40 (2011) 10.1016/j.jad.2010.06.015.
 19. Schulze, T.G., Alda, M., Adli, M., Akula, N., Arda, R., Bui, E.T., Chillotti, C., Cichon, S., Czerski, P., Del Zompo, M., Detera-Wadleigh, S.D., Grof, P., Gruber, O., Hashimoto, R., Hauser, J., Hoban, R., Iwata, N., Kassem, L., Kato, T., Kittel-Schneider, S., Kliwicky, S., Kelsoe, J.R., Kusumi, I., Laje, G., Leckband, S.G., Manchia, M., Macqueen, G., Masui, T., Ozaki, N., Perlis, R.H., Pfennig, A., Piccardi, P., Richardson, S., Rouleau, G., Reif, A., Rybakowski, J.K., Sasse, J., Schumacher, J., Severino, G., Smoller, J.W., Squassina, A., Turecki, G., Young, L.T., Yoshikawa, T., Bauer, M. & McMahon, F.J. The International Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen): an initiative by the NIMH and IGSLI to study the genetic basis of response to lithium treatment. *Neuropsychobiology* **62**, 72-8 (2010) 10.1159/000314708.
 20. Takata, A., Kim, S.H., Ozaki, N., Iwata, N., Kunugi, H., Inada, T., Ujike, H., Nakamura, K., Mori, N., Ahn, Y.M., Joo, E.J., Song, J.Y., Kanba, S., Yoshikawa, T., Kim, Y.S. & Kato, T. Association of ANK3 with bipolar disorder confirmed in East Asia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* **156**, 312-5 (2011) 10.1002/ajmg.b.31164.
 21. Ikeda, M., Aleksic, B., Kinoshita, Y., Okochi, T., Kawashima, K., Kushima, I., Ito, Y., Nakamura, Y., Kishi, T., Okumura, T., Fukuo, Y., Williams, H.J., Hamshere, M.L., Ivanov, D., Inada, T., Suzuki, M., Hashimoto, R., Ujike, H., Takeda, M., Craddock, N., Kaibuchi, K., Owen, M.J., Ozaki, N., O'Donovan, M.C. & Iwata, N. Genome-wide association study of schizophrenia in a Japanese population. *Biol Psychiatry* **69**, 472-8 (2011) 10.1016/j.biopsych.2010.07.010.
 22. Tsunoka, T., Kishi, T., Kitajima, T., Okochi, T., Okumura, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Naitoh, H., Inada, T., Ujike, H., Yamada, M., Uchimura, N., Sora, I., Iyo, M., Ozaki, N. & Iwata, N. Association analysis of GRM2 and HTR2A with methamphetamine-induced psychosis and schizophrenia in the Japanese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**, 639-44 (2010) 10.1016/j.pnpbp.2010.03.002.
 23. Yoshimi, A., Aleksic, B., Kawamura, Y., Takahashi, N., Yamada, S., Usui, H., Saito, S., Ito, Y., Iwata, N., Inada, T., Noda, Y., Yamada, K. & Ozaki, N. Gene-wide association study between the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR)

- and schizophrenia in the Japanese population, with an updated meta-analysis on currently available data. *Schizophr Res* **124**, 216-22 (2010) 10.1016/j.schres.2010.07.011.
24. Fukuo, Y., Kishi, T., Okochi, T., Kitajima, T., Tsunoka, T., Okumukura, T., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Yamanouchi, Y., Umene-Nakano, W., Naitoh, H., Inada, T., Yoshimura, R., Nakamura, J., Ozaki, N. & Iwata, N. Lack of association between MAGEL2 and schizophrenia and mood disorders in the Japanese population. *Neuromolecular Med* **12**, 285-91 (2010) 10.1007/s12017-010-8116-8.
 25. Fukuda, S., Hashimoto, R., Ohi, K., Yamaguti, K., Nakatomi, Y., Yasuda, Y., Kamino, K., Takeda, M., Tajima, S., Kuratsune, H., Nishizawa, Y. & Watanabe, Y. A functional polymorphism in the disrupted-in schizophrenia 1 gene is associated with chronic fatigue syndrome. *Life Sci* **86**, 722-5 (2010) 10.1016/j.lfs.2010.03.007.
 26. Fukuo, Y., Kishi, T., Yoshimura, R., Kitajima, T., Okochi, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Naitoh, H., Umene-Nakano, W., Inada, T., Kunugi, H., Kato, T., Yoshikawa, T., Ujike, H., Nakamura, J., Ozaki, N. & Iwata, N. Serotonin 6 receptor gene and mood disorders: case-control study and meta-analysis. *Neurosci Res* **67**, 250-5 (2010) 10.1016/j.neures.2010.04.003.
 27. Yazaki, S., Koga, M., Ishiguro, H., Inada, T., Ujike, H., Itokawa, M., Otowa, T., Watanabe, Y., Someya, T., Iwata, N., Kunugi, H., Ozaki, N. & Arinami, T. An association study between the dymeclin gene and schizophrenia in the Japanese population. *J Hum Genet* **55**, 631-4 (2010) 10.1038/jhg.2010.72.
 28. 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* (2010) 10.1093/schbul/sbq118.
 29. Delawary, M., Tezuka, T., Kiyama, Y., Yokoyama, K., Inoue, T., Hattori, S., Hashimoto, R., Umemori, H., Manabe, T., Yamamoto, T. & Nakazawa, T. NMDAR2B tyrosine phosphorylation regulates anxiety-like behavior and CRF expression in the amygdala. *Mol Brain* **3**, 37 (2010) 10.1186/1756-6606-3-37.
 30. Furukawa-Hibi, Y., Nitta, A., Fukumitsu, H., Somiya, H., Furukawa, S., Nabeshima, T. & Yamada, K. Overexpression of piccolo C2A domain induces depression-like behavior in mice. *Neuroreport* **21**, 1177-81 (2010) 10.1097/WNR.0b013e3283411685.
 31. Furukawa-Hibi, Y., Nitta, A., Ikeda, T., Morishita, K., Liu, W., Ibi, D., Alkam, T., Nabeshima, T. & Yamada, K. The hydrophobic dipeptide Leu-Ile inhibits immobility induced by repeated forced swimming via the induction of BDNF. *Behav Brain Res*

- 220**, 271-80 (2011) 10.1016/j.bbr.2011.02.003.
32. Habuchi, C., Iritani, S., Sekiguchi, H., Torii, Y., Ishihara, R., Arai, T., Hasegawa, M., Tsuchiya, K., Akiyama, H., Shibayama, H. & Ozaki, N. Clinicopathological study of diffuse neurofibrillary tangles with calcification With special reference to TDP-43 proteinopathy and alpha-synucleinopathy. *J Neurol Sci* **301**, 77-85 (2011) 10.1016/j.jns.2010.10.021.
 33. Miura, H., Ando, Y., Noda, Y., Isobe, K. & Ozaki, N. Long-lasting effects of inescapable-predator stress on brain tryptophan metabolism and the behavior of juvenile mice. *Stress* **14**, 262-72 (2011) 10.3109/10253890.2010.541539.
 34. Miyagawa, Y., Ejiri, M., Kuzuya, T., Osada, T., Ishiguro, N. & Yamada, K. Methylprednisolone reduces postoperative nausea in total knee and hip arthroplasty. *J Clin Pharm Ther* **35**, 679-84 (2010) 10.1111/j.1365-2710.2009.01141.x.
 35. Mizoguchi, H., Ibi, D., Takase, F., Nagai, T., Kamei, H., Toth, E., Sato, J., Takuma, K. & Yamada, K. Nicotine ameliorates impairment of working memory in methamphetamine-treated rats. *Behav Brain Res* **220**, 159-63 (2011) 10.1016/j.bbr.2011.01.036.
 36. Mizoguchi, H., Ibi, D., Takuma, K., Toth, E., Sato, J., Itohara, S., Nabeshima, T. & Yamada, K. Alterations of emotional and cognitive behaviors in matrix metalloproteinase-2 and -9-deficient mice. *Open Behav Sci J* **4**, 19-25 (2010) 10.2174/1874230001004010019.
 37. Yu, J., Nagai, T., Ibi, D., Kitahara, Y., Nabeshima, T. & Yamada, k. Nicotine Ameliorates Emotional and Cognitive Impairments Induced by Neonatal PolyI:C Treatment in Mice. *Open Behav Sci J* **4**, 9-18 (2010) 10.2174/1874230001004010009.
 38. Yun, J., Koike, H., Ibi, D., Toth, E., Mizoguchi, H., Nitta, A., Yoneyama, M., Ogita, K., Yoneda, Y., Nabeshima, T., Nagai, T. & Yamada, K. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4. *J Neurochem* **114**, 1840-51 (2010) 10.1111/j.1471-4159.2010.06893.x.
 39. Hayashi, N., Kazui, H., Kamino, K., Tokunaga, H., Takaya, M., Yokokoji, M., Kimura, R., Kito, Y., Wada, T., Nomura, K., Sugiyama, H., Yamamoto, D., Yoshida, T., Currais, A., Soriano, S., Hamasaki, T., Yamamoto, M., Yasuda, Y., Hashimoto, R., Tanimukai, H., Tagami, S., Okochi, M., Tanaka, T., Kudo, T., Morihara, T. & Takeda, M. KIBRA genetic polymorphism influences episodic memory in Alzheimer's disease, but does not show association with disease in a Japanese cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord* **30**, 302-8 (2010) 10.1159/000320482.
 40. Yasuda, Y., Hashimoto, R., Ohi, K., Fukumoto, M., Takamura, H., Iike, N., Yoshida,

- T., Hayashi, N., Takahashi, H., Yamamori, H., Morihara, T., Tagami, S., Okochi, M., Tanaka, T., Kudo, T., Kamino, K., Ishii, R., Iwase, M., Kazui, H. & Takeda, M. Association study of KIBRA gene with memory performance in a Japanese population. *World J Biol Psychiatry* **11**, 852-7 (2010) 10.3109/15622971003797258.
41. Takahashi, M., Iwamoto, K., Fukatsu, H., Naganawa, S., Iidaka, T. & Ozaki, N. White matter microstructure of the cingulum and cerebellar peduncle is related to sustained attention and working memory: a diffusion tensor imaging study. *Neurosci Lett* **477**, 72-6 (2010) 10.1016/j.neulet.2010.04.031.
 42. Takahashi, M., Iwamoto, K., Kawamura, Y., Nakamura, Y., Ishihara, R., Uchiyama, Y., Ebe, K., Noda, A., Noda, Y., Yoshida, K., Iidaka, T. & Ozaki, N. The effects of acute treatment with tandospirone, diazepam, and placebo on driving performance and cognitive function in healthy volunteers. *Hum Psychopharmacol* **25**, 260-7 (2010) 10.1002/hup.1105.
 43. Iidaka, T., Saito, D.N., Komeda, H., Mano, Y., Kanayama, N., Osumi, T., Ozaki, N. & Sadato, N. Transient neural activation in human amygdala involved in aversive conditioning of face and voice. *J Cogn Neurosci* **22**, 2074-85 (2010) 10.1162/jocn.2009.21347.
 44. Takayanagi, Y., Takahashi, T., Orikabe, L., Masuda, N., Mozue, Y., Nakamura, K., Kawasaki, Y., Itokawa, M., Sato, Y., Yamasue, H., Kasai, K., Okazaki, Y. & Suzuki, M. Volume reduction and altered sulco-gyral pattern of the orbitofrontal cortex in first-episode schizophrenia. *Schizophr Res* **121**, 55-65 (2010) 10.1016/j.schres.2010.05.006.
 45. Takahashi, T., Malhi, G.S., Wood, S.J., Yucel, M., Walterfang, M., Tanino, R., Suzuki, M. & Pantelis, C. Insular cortex volume in established bipolar affective disorder: a preliminary MRI study. *Psychiatry Res* **182**, 187-90 (2010) 10.1016/j.psychres.2010.01.006.
 46. Takahashi, T., Zhou, S.Y., Nakamura, K., Tanino, R., Furuichi, A., Kido, M., Kawasaki, Y., Noguchi, K., Seto, H., Kurachi, M. & Suzuki, M. Longitudinal volume changes of the pituitary gland in patients with schizotypal disorder and first-episode schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **35**, 177-83 (2011) 10.1016/j.pnpbp.2010.10.023.
 47. Nihonmatsu-Kikuchi, N., Hashimoto, R., Hattori, S., Matsuzaki, S., Shinozaki, T., Miura, H., Ohta, S., Tohyama, M., Takeda, M. & Tatebayashi, Y. Reduced rate of neural differentiation in the dentate gyrus of adult dysbindin null (sandy) mouse. *PLoS One* **6**, e15886 (2011) 10.1371/journal.pone.0015886.
 48. Alkam, T., Nitta, A., Furukawa-Hibi, Y., Niwa, M., Mizoguchi, H., Yamada, K. &

- Nabeshima, T. Oral supplementation with Leu-Ile, a hydrophobic dipeptide, prevents the impairment of memory induced by amyloid beta in mice via restraining the hyperphosphorylation of extracellular signal-regulated kinase. *Behav Brain Res* **210**, 184-90 (2010) 10.1016/j.bbr.2010.02.028.
49. Hamamura, M., Ozawa, H., Ozaki, M., Shimazoe, T., Terada, Y. & Fukumaki, Y. Repeated administration of methamphetamine blocked cholecystokinin-octapeptide injection-induced c-fos mRNA expression without change in capsaicin-induced junD mRNA expression in rat cerebellum. *J Neural Transm* **117**, 1041-53 (2010) 10.1007/s00702-010-0444-1.
50. Iritani, S., Sekiguchi, H., Habuchi, C., Hikita, T., Taya, S., Kaibuchi, K. & Ozaki, N. Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal region of genetic animal model of schizophrenia. *Synapse* **64**, 948-53 (2010) 10.1002/syn.20846.
51. Iritani, S., Sekiguchi, H., Habuchi, C., Torii, Y., Yamada, S., Waki, Y., Noda, Y., Furukawa, H., Nabeshima, T. & Ozaki, N. Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal formation of PCP-treated mice. *Neurosci Res* **68**, 125-30 (2010) 10.1016/j.neures.2010.06.005.
52. 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) 10.1007/s00702-010-0452-1.
53. Takeda, M., Hashimoto, R., Kudo, T., Okochi, M., Tagami, S., Morihara, T., Sadick, G. & Tanaka, T. Laughter and humor as complementary and alternative medicines for dementia patients. *BMC Complement Altern Med* **10**, 28 (2010) 10.1186/1472-6882-10-28.
54. Takeda, M., Martinez, R., Kudo, T., Tanaka, T., Okochi, M., Tagami, S., Morihara, T., Hashimoto, R. & Cacabelos, R. Apolipoprotein E and central nervous system disorders: reviews of clinical findings. *Psychiatry Clin Neurosci* **64**, 592-607 (2010) 10.1111/j.1440-1819.2010.02148.x.
55. Ukai, K., Matsuo, K., Nakamura, R., Sobue, G., Kosaka, K., Shibayama, H., Iritani, S., Ishihara, R. & Ozaki, N. A case of dementia with Lewy bodies that temporarily showed symptoms similar to Creutzfeldt-Jakob disease. *Psychogeriatrics* **10**, 201-5 (2010) 10.1111/j.1479-8301.2010.00336.x.
56. Wood, S.J., Cocchi, L., Proffitt, T.M., McConchie, M., Jackson, G.D., Takahashi, T., Pantelis, C., McGorry, P.D. & Berger, G.E. Neuroprotective effects of ethyl-eicosapentaenoic acid in first episode psychosis: a longitudinal T2 relaxometry

- pilot study. *Psychiatry Res* **182**, 180-2 (2010) 10.1016/j.psychres.2009.12.003.
57. Arai, S., Yoon, S.I., Murata, A., Takabayashi, M., Wu, X., Lu, Y., Takeoka, S. & Ozaki, M. Fluorescent "Turn-on" system utilizing a quencher-conjugated peptide for specific protein labeling of living cells. *Biochem Biophys Res Commun* **404**, 211-6 (2010) 10.1016/j.bbrc.2010.11.095.
58. Higuchi, Y., Sumiyoshi, T., Kawasaki, Y., Ito, T., Seo, T. & Suzuki, M. Effect of tandospirone on mismatch negativity and cognitive performance in schizophrenia: a case report. *J Clin Psychopharmacol* **30**, 732-4 (2010) 10.1097/JCP.0b013e3181faa57d.
59. Ito, M., Kimura, H., Yoshida, K., Kimura, Y., Ozaki, N. & Kurita, K. Effectiveness of milnacipran for the treatment of chronic pain in the orofacial region. *Clin Neuropharmacol* **33**, 79-83 (2010) 10.1097/WNF.0b013e3181cb5793.
60. Mori, K., Okochi, M., Tagami, S., Nakayama, T., Yanagida, K., Kodama, T.S., Tatsumi, S., Fujii, K., Tanimukai, H., Hashimoto, R., Morihara, T., Tanaka, T., Kudo, T., Funamoto, S., Ihara, Y. & Takeda, M. The production ratios of AICDepsilon51 and Abeta42 by intramembrane proteolysis of betaAPP do not always change in parallel. *Psychogeriatrics* **10**, 117-23 (2010) 10.1111/j.1479-8301.2010.00330.x.
61. Murata, A., Arai, S., Yoon, S.I., Takabayashi, M., Ozaki, M. & Takeoka, S. Construction of a 'turn-on' fluorescent probe system for His-tagged proteins. *Bioorg Med Chem Lett* **20**, 6905-8 (2010) 10.1016/j.bmcl.2010.10.011.
62. Okuda, A., Suzuki, T., Kishi, T., Yamanouchi, Y., Umeda, K., Haitoh, H., Hashimoto, S., Ozaki, N. & Iwata, N. Duration of untreated illness and antidepressant fluvoxamine response in major depressive disorder. *Psychiatry Clin Neurosci* **64**, 268-73 (2010) 10.1111/j.1440-1819.2010.02091.x.

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 1件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 1件)