

研究課題別中間評価結果

1. 研究課題名： 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. 研究代表者： 小島 正己 ((独)産業技術総合研究所健康工学研究部門 研究グループ長)

3. 研究概要

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。

研究代表者は、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。今後は、モデルマウスの分子細胞病態に注目した創薬研究への応用を目指し、BDNF 分子種に対する抗体、BDNF ゲノムのメチル化、BDNF 迅速高感度チップ等の診断要素のうつ病診断への応用、HPA 系を指標にしたストレス対処反応、脳画像解析との融合を行うことにより、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ている。

proBDNF 高発現マウスの分子細胞病態を明らかにし創薬研究に応用した。作製した BDNF 分子種に対する抗体を用いることにより、新たな生理活性をもつ BDNF 分子種を発見した。さらには BDNF 血中濃度を 10 分以内に決定するセンサーチップを開発した。

4. 中間評価結果

4-1. 研究の進捗状況及び研究成果の現状

(1) 研究の進捗状況

- ① 産総研グループは BDNF プロセッシング障害マウスを作成し、このマウスが動物モデルで見られる行動特徴を示すことを示した上で、行動試験を用いて抗うつ薬抵抗性であること、セロトニン繊維の著しい減少、海馬の萎縮、スパイン形態の異常、HPA 系の恒常的活性化など、これまでにヒトおよびモデル動物で報告されたうつ病の病態を見出した。研究計画の一部に遅れが見られる(難治性うつ病の診断評価系の提示)ものの、全体としては、ほぼ順調に進捗していると思われる。
- ② 抗体の作成や BDNF 血中濃度検定のセンサーチップの開発など、臨床応用に向けてのイノベーション

は評価できる。

- ③ うつ病と BDNF プロセッシングとの因果関係を明らかにすることが本研究課題の鍵であるが、両者の関係についての理解の進展は、現状では十分とは言えない。
- ④ BDNF センスRNAについては、うつ病モデル動物や死後脳ですでに報告があった。研究者は、BDNF プロセッシング障害マウスでは、BDNF のセンス RNA と同時に BDNF アンチセンスRNAが誘導されることを見出し、うつ病の細胞病態として BDNF アンチセンス RNA が BDNF の発現を抑制するネガティブフィードバックのメカニズムが存在するという仮説を提唱した。
- ⑤ 産総研グループは proBDNF から mBDNF が生成される過程で生じる pro-peptide が内在し、生理活性を有することを見出した。また、一塩基多型 Val66Met は BDNF pro-peptide の構造に影響することを予測した。
- ⑥ 広島大グループはうつ病診断の新規バイオマーカー候補として BDNF 遺伝子メチル化クラスターを発見した。
- ⑦ 産総研グループでは BDNF 濃度を10分以内、数百 fM の高感度に BDNF 濃度を決定するセンサーを完成させた。
- ⑧ うつ病診断の生物学的バイオマーカー研究は全世界レベルでしのぎを削って行われており、これまでに遺伝子マーカー、RNAレベル、オミックス、免疫系マーカー、脳画像レベルなどを含む多くの研究が報告されてきたが、まだ決定的(臨床応用できる)なものはない。今回の BDNF 遺伝子メチル化クラスターの発見は対照との重なりがないという点から重要な発見と言えるが、まだ例数が少ないため、例数を増した結果が待たれる。また、メチル化が生じる時期とうつ病発症の時期の関係について考察が必要である。
- ⑨ 一方、BDNF pro-peptide が生理活性を有し、LTDの促進、突起進展の促進を行うことを発見したが、この発見はBDNF の研究に新たな分子種を加えたという意味で大きな発見と言えよう。
- ⑩ BDNF プロセッシング障害マウスの作成はこの研究の仮説である proBDNF から BDNF へのプロセッシング障害を検証する上で極めて重要である。
- ⑪ モデルマウスに関しては、BDNFの定量法の開発、proBDNF 組み換え蛋白質、抗体類の実用化が始まっており、さらに創薬研究における実用化に向けての検討も製薬メーカーで開始されている。現時点ではまだ最終評価できる段階ではないが、BDNF 遺伝子メチル化クラスターが診断マーカーとして確立された場合には、うつ病の客観診断が可能になり、大きな社会的貢献ができることになる。

(2) 研究実施体制について

産総研におけるモデルマウスの作製とモデルとしての妥当性評価研究、生理研－京大グループによる網羅的行動解析が本研究の仮説すなわち BDNF のプロセッシング障害仮説を検証する基礎的(動物モデルによる)研究として中心に取り組まれ、研究代表者自らこの研究をけん引している。さらに産総研において 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を行い、関連遺伝子の同定を進めており、研究チームとしてのまとめ、研究の進展は順調であると思われる。

また、うつ病診断のバイオマーカー候補として広島大学グループが BDNF 遺伝子メチル化クラスターを発見したが、当初想定されていなかった結果とは言え、難治性うつ病を客観的指標により診断する上で大きな進歩につながるものと期待される。

このように、基礎的研究を中心におきつつ、常に人を対象に検証しようとする意図と、これを研究チームの体制を整備して実行させており、研究代表者のリーダーシップは十分発揮されている。

一方で、本研究課題の主目的である BDNF のプロセッシング異常とうつ病の難治化の因果関係を明らか

にすること以外に BDNF プロモーターのメチル化、BDNF antisense RNA、BDNF pro-peptide の機能などプロセッシング以外に分散してきている点を危惧する意見もあり、研究チームの体制を本来の目的達成のために集中する努力がリーダーに求められるとするコメントもあった。

4-2. 今後の研究に向けて

BDNF プロセッシング障害マウスを対象とした基礎研究と臨床におけるBDNFの果たす役割の検証を残る研究期間の研究の中心に充てることが重要である。難治化に BDNF のプロセッシング障害がどのように関与しているのか、BDNF 低値、proBDNF 高値で難治性と非難治性が説明できるのか、BDNF 遺伝子メチル化クラスターはこれとどのように関係するかにフォーカスをあてて研究を促進すべきである。

一方、たとえば SNAP-25 変異マウスについて言えば、表現型からみてもただちにうつ病のモデルと言い難く、これを追求する意味は必ずしもあるとは言えない。

また、アンチセンス RNA など新たに得られた研究成果をこの CREST 期間内にどこまで発展させるかについては慎重に判断する必要がある。

また、proBDNF 仮説が収束するのではなく分散しつつあるので、原点に戻って研究を進められたい。

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、本研究の成果を評価する上でクリティカルである。これを検証した結果が得られつつあるので、さらにこれを促進して行くことが重要である。

新たなバイオマーカーの開発と客観的な診断基準の設定が期待されており、バイオマーカーがヒト症例に有用であることが確定できれば、仮説自体強固なものになり、社会的インパクトも大きくなるであろう。

4-3. 総合的評価

これまでの研究において BDNF 分子群に対する抗体の整備、BDNF プロセッシング障害マウスの分子病態がかなり明らかにされた。基礎研究としては成果をあげており、研究のレベルも高いものである。今後は本研究課題の目的である難治性うつ病における BDNF プロセッシング障害仮説の検証と診断・治療に向けた新技術の創出に焦点を絞り、難治性うつ病における proBDNF/BDNF の果たす役割を明らかにしてほしい。

現状では、BDNF を中心の分子に据えているが、それぞれの研究グループの方向が拡散傾向にある点は修正が必要である。この研究の過程で、BDNF pro-peptide が生理作用を有することが発見され、BDNF antisense RNA を同定したこと、プラズモニクチップを用いた迅速診断技術の開発など、それ自体の意義は十分評価できるが、これらについては、本 CREST 研究で扱うよりも、新たな研究課題とすべきかも知れない。