

「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20年度採択研究代表者

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

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

§ 1. 研究実施の概要

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および分泌障害がうつ病の難治化を引き起こすと仮定し、その分子細胞病態の解明を目指すとともに、基礎研究者と精神科医の連携により難治性うつ病の診断技術と治療法の開発に資する。うつ病における BDNF 仮説は、1995年の一連の報告以来、重要な仮説として検証が続いている。しかし、BDNF 自身の検出技術、臨床症状を反映する病態モデル動物の開発などが十分ではないこともあり、BDNF に注目した画期的な創薬や診断技術の開発を目指すためには、このような技術的問題の解決を含めた BDNF の基礎研究が重要と考えられる。

研究代表者のグループは、BDNF プロセッシング障害マウスが抗うつ薬抵抗性モデル動物であること、モデルマウスの分子細胞病態の多くは臨床研究が示唆する病態を反映していることなどを見出した。また、BDNF pro-peptide という第3の BDNF 分子種の細胞機能を解析した。開発研究では、BDNF 抗体類の整備が進み、バイオセンシング技術との融合研究も開始した。分担研究グループからは、BDNF 分泌制御因子 CAPS2 ノックアウトマウスの解析から、この制御分子と気分障害の関係が示唆された。臨床研究からは、HPA 系の過剰抑制(ストレスホルモンであるグルココルチコイドの過剰抑制)者では不安症状や対人過敏などのストレス症状スコアが高く「逃避」などの非適応的なストレス対処法を用いること、抗うつ薬抵抗性うつ病においては海馬と前帯状回の体積が有意に減少していること、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などが見出された。

今後は、proBDNFをはじめとするBDNF分子種の標的分子マーカーとしての動態、HPA系を指標にしたストレス対処反応、ネガティブ/ポジティブな情動価を持つ課題に対する脳画像解

析などを組み合わせることにより、うつ病診断の確度を上げるべく生物学的手法の確立を目指す。

§ 2. 研究実施体制

(1)「独立行政法人 産業技術総合研究所（産総研）」グループ

① 研究分担グループ長：小島正己（独立行政法人 産業技術総合研究所、研究グループ長）

② 研究項目

- ・難知性うつモデル BDNF プロセッシング障害マウスの病態解析
- ・新しい BDNF サブタイプ：BDNF pro-peptide の役割
- ・バイオマーカー創出を目指した研究
- ・*In silico* 解析から一塩基多型 Val66Met の新しい分子病態を予測/解明

(2)「広島大学 大学院医歯薬学総合研究科（広大 A）」グループ

① 研究分担グループ長：山脇成人（広島大学・大学院医歯薬学総合研究科、教授）

② 研究項目

- ・難治性うつ病の危険因子と BDNF の相互作用の研究
- ・難治性うつ病血液診断用血中バイオマーカーの検索と有効性検証

(3)「独立行政法人 国立精神・神経センター神経研究所（神経センター）」グループ

① 研究分担グループ長：功刀浩（国立精神・神経センター神経研究所、部長）

② 研究項目

- ・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
- ・グルココルチコイド過剰による神経細胞死と BDNF 機能に関する研究
- ・うつ病動物モデル研究

(4)「北里大学医学部（北里大）」グループ

① 研究分担グループ長：高橋正身（北里大学医学部、教授）

② 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

(5)「独立行政法人 理化学研究所（理研）」グループ

① 研究分担グループ長：古市貞一（独立行政法人理化学研究所、チームリーダー）

② 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 大学院医歯薬学総合研究科 (広大 B)」グループ

① 研究分担グループ長:岡本泰昌(広島大学大学院歯薬学総合研究科、講師)

② 研究項目

- ・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

(7)「京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット(京大)」グループ

① 研究分担グループ長:高雄啓三(京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット、講師)

② 研究項目

- ・難治性うつ病モデルマウスの網羅的行動テストバッテリーのセットアップ
- ・BDNF プロセッシング障害モデルマウスの行動解析

§ 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)

(1) 産総研 グループ

1) 難知性うつモデル BDNF プロセッシング障害マウスの病態解析

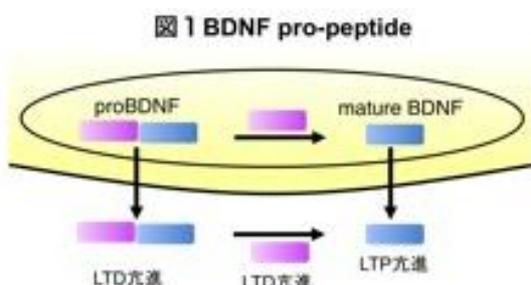
研究1: 抗うつ薬抵抗性に関する病態

前年度は、BDNF プロセッシング障害マウス(BDNF^{pro/pro})に、顕著な抑うつ行動、セロトニン繊維密度の低下など、難治性うつ病モデルを示唆する重要な表現型を見出した。本年度は、抗うつ薬を用いた行動薬理の研究を行い、モデルマウスの抗うつ薬抵抗性の可能性を検討した。実験では、抗うつ薬単回投与後、あるいは連続投与後に尾懸垂試験、強制水泳試験を行った。その結果、ヘテロ接合体が抗うつ薬反応性を示したが、ホモ接合体が抵抗性であった。これらの結果から、前年度に報告したモデルマウスの抑うつ行動やセロトニン繊維密度の低下の結果との関連を考察し論文を準備中である。

研究2) proBDNF によるうつ病難治化の細胞メカニズム

研究グループは、proBDNF がスパインのアクチン骨格を不安定化させることがうつ病難治化の重要な細胞病態であることを提唱したが(Koshimizu et al., 2009)、本年度はその詳細の解析を上記モデルマウスで行った。スパイン形態をゴルジ染色法を用いて定量解析した結果、スパインヘッドの形態の異常が見出された。proBDNF 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た¹⁾。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²⁾。さらには、proBDNF に対して成熟型 BDNF を強化する手法の開発も行った。つまり、神経細胞における TrkB シグナルの活性化を NGF により誘導しうる新しい発現ベクターを開発した³⁾。

2) 新しい BDNF サブタイプの研究



proBDNF→mBDNF のプロセッシング後に切り出される BDNF pro-peptide (図1:ピンク)の機能を解析した。本研究では、BDNF pro-peptide 組換え蛋白質および認識抗体を作製し、BDNF pro-peptide について解析した。(1)BDNF pro-peptide は BDNF を捕捉しうること、(2)BDNF

pro-peptide 自身がシナプス伝達の調節を行うこと、(3)これらの分子メカニズムが存在することを解明した⁴⁾。さらには、BDNF pro-peptide の LTD には p75 受容体が必須であること、BDNF pro-peptide が GluA1 の endocytosis を促進することから、BDNF pro-peptide が proBDNF に近い役割を行う可能性が示唆された。

次項3)において開発した BDNF pro-domain に対する抗体の中で、内在性の BDNF

pro-peptide を効率よく免疫沈降できる抗体を見出した。この抗体を用いた研究から脳組織において BDNF pro-peptide が存在することが確認された⁵⁾。

3) バイオマーカー創出を目指した研究

研究1: proBDNF 抗体の作製

ヒト BDNF pro-domain 配列を抗原としたモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体の作製を行い、proBDNF および BDNF pro-peptide の測定系などが構築された。今後は、臨床研究グループとの共同研究により抗体の有用性を検証する。

研究2: 迅速バイオマーカー診断新技術の開発

産総研グループが有するバイオセンシング技術を用いた BDNF 測定技術の開発研究を行い、迅速高感度に BDNF 濃度を決定する条件を決定した(高分子学会年次大会、横田ら、2011.5.26、大阪)。今後はうつ病診断への応用に向けた研究を進める。

4) *In silico* 解析から一塩基多型 Val66Met の新しい分子病態を予測/解明

クレスト研究の実験情報で確認される分子間相互作用のデータと計算機上でのシミュレーションを融合させた分子基盤解析技術を確立し、BDNF プロドメインと BDNF との相互作用に対する Val66Met polymorphism の影響をシミュレーションした。その予測実験に基づいて、Val66Met 変異が BDNF 機能に影響する新しいメカニズムを見出した⁴⁾。

(2) 広大 A グループ

1) 難治性うつ病の危険因子と BDNF の相互作用の研究

難治性うつ病モデルである母子分離+学習性無力(LH)試験負荷ラット海馬を用いて、a) proBDNF 発現の増大、b) 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。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。さらには、モデル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⁶⁾⁷⁾。

2) 難治性うつ病血液診断用血中バイオマーカーの検索と有効性検証

ラット末梢血からの血清及び血漿を材料に、免疫沈降法と Western blot 法を用いて、BDNF 及び proBDNF 量の計測方法を開発した。BDNF, proBDNF とも血清中に比べて血漿中の量は顕著に少なく、バイオマーカーの解析には血清 BDNF, proBDNF が適しているとわかった。今後はクレストチームで開発した抗体類を用いた血清の解析を進める。

(3) 神経センター グループ

1) 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、ストレス症状やストレス対処法との関連をみた結果(N=121)、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コルチコイドの過剰抑制)は、不安症状や対人過敏などのストレス症状スコアが高く、「逃避」などの非適応的なストレス対処法を用いていることを見出した¹⁰⁾。しかし、グルココルチコイドの過剰抑制者は、統合失調症型人格傾向と関連があること¹¹⁾、睡眠不足と DEX/CRH 関係も明らかにした¹³⁾。以上の結果は、逃避型うつ病やシゾイドうつ病などの難治性うつ病がグルコ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。Cloninger の試験(Temperament and Character Inventory)を用いて、うつ病に関連する気質と性格の解析を行った¹²⁾。

うつ病患者の末梢血を用いて、BDNF 以外の重要な栄養因子として注目されている VEGF と FGF-2 濃度を測定した結果、うつ病患者、特に遺伝負因のある者の血中 VEGF 濃度は健常者と比較して高いことを見出した。FGF-2 では患者—健常者間で差は見られなかった⁸⁾。

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を見出した。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 のスプライスバリエント 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。遺伝子解析研究により、うつ病関連遺伝子を複数候補見出した。

2)グルココルチコイド過剰による神経細胞死と BDNF 機能に関する研究

グルココルチコイドによる BDNF 機能の抑制が、FGF-2 によって機能回復することを細胞生物学的に解析している。

3)うつ病動物モデル研究

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⁹⁾。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。今後は、産総研が見出した BDNF 分子種等との関係についてモデル動物の解析を進める。

(4)北里大 グループ

1)難治性うつ病の分子/細胞病態の解明

SNAP-25 変異マウスの脳では 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。このような多様な変化が、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。

てんかん発作がどのような機序で不安様行動を誘発するかを明らかにするため、ピロカルピン投与によるてんかん重積の時間を1.5時間および4.5時間にしたところ、どちらの場合も不安様行動が誘発されたが、重積の持続が1.5時間の場合にはその発現は一過的で、処理後2週間ほどで正常に戻るのに対し、4.5時間の場合には不可逆的で、1年以上も強固に保持されることが明らかとなった。何れの場合でも重積後数日で脳内のBDNF発現が高まっていたが、重積時間が4.5時間の場合のみ、Gluレセプターのダウンレギュレーションなどが起こっていた。

以上の結果から不安様行動の発現には、可逆的および不可逆的な少なくとも2つの機構が存在し、不可逆的な不安様行動の発現には、脳内構造に大きな変化が生じていることが示唆された。

2)BDNF 作用メカニズムの研究

SNAP-25 変異マウスの脳では、BDNF を高発現する活性化アストロサイトが出現する。アストロサイトからのBDNFなどのタンパク性因子の分泌制御機構を明らかにするため、培養アストロサイトやグリオーマ細胞からのPKCによる分泌制御機構を検討し、神経細胞とは逆に分泌がPKCによるリン酸化で抑制的に制御されていることを論文として発表した¹⁴⁾。抑制的な制御に関わるリン酸化部位を特定するため、SNAP-23のリン酸化部位のSerをAlaに置換した変異遺伝子を培養アストロサイトに導入し分泌機能への影響を調べているが、必須リン酸化部位の特定には至っていない。このようなSNAP-25の動態解析に有用なSNAP-25抗体を作製し論文発表した¹⁵⁾。

3) 難治性うつ病のバイオマーカーの検索と有効性の検証

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。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。他の研究グループの有するモデル動物やヒト試料での反応性を今後は検証していく。

(5) 理研 グループ

CAPS2によるBDNF分泌制御の異常と難治性うつ病との関連性を明らかにするため、CAPS2KOマウスを用いて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。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なった¹⁷⁾。KOマウスの海馬では、BDNF量が減少して、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が見つかると、GABA 作動性の抑制性神経回路の異常が特徴付けられた。また、KO 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。さらに、CAPS が Arf 低分子 GTPase と相互作用してトランスゴルジ経路における有芯小胞の輸送にも関与することを明らかにした¹⁶⁾。環境ストレス負荷によるうつ様症状マウスの作出はまだ試行中であるが、明暗サイクルにおける BDNF の量的関連の解析系を確立した¹⁸⁾。

今後は、うつ様症状マウスの作出方法を確立して、正常マウスと KO マウスの間で生化学的、生理学的、行動学的な表現型について比較解析し、CAPS2-BDNF の分泌増強とうつ様症状の脆弱性との関連について研究する。さらには、BDNF 分泌制御と proBDNF プロセッシングの関連を調べる共同研究を進める。

(6) 広大 B グループ

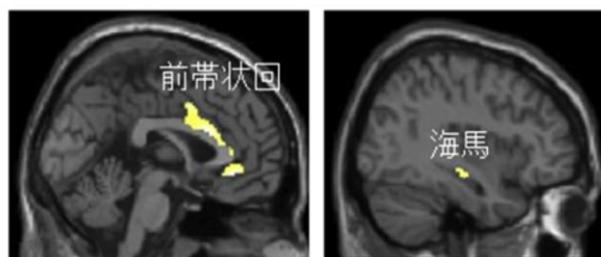
1) ヒト(健常者、うつ病)を対象とした脳構造画像および脳機能画像解析

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¹⁹⁾。

spontaneous BOLD fluctuation analysis を用いて、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²⁰⁾。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(図)、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。今後は、

図2 抗うつ薬抵抗性うつ病で体積が減少する領域



うつ病診断確度向上を目指し、画像データと BDNF 血中濃度の相関解析を計画する。

(7) 京大 グループ

1) BDNF プロセッシング障害モデルマウスの行動解析

BDNF プロセッシング障害マウスのヘテロ接合体について網羅的行動解析を行った。強制水泳試験におけるうつ様行動の亢進に加え、数種の行動試験についてコントロールマウスとの

スコアの有意差が見出し論文を準備中である。今後は、これらの表現型と proBDNF>mBDNF との関係を解析していく。

§ 4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

- 1) 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, 229-232, 2010 (doi:10.1016/j.neulet.2010.02.055).
- 2) 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 (doi: 10.1007/s10571-011-9655-8).
- 3) 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.*, in press.
- 4) Uegaki K., Ishikawa Y., Mizui T., Hirokawa T., Hara T., Suzuki S., Takahashi M., Shiosaka S., Itami C., Kumanogoh H., Kojima M., Biological roles of the BDNF pro-peptide in the nervous system. 投稿中
- 5) Dieni S., Matsumoto T., Dekkers M., Rauskolb S., Ionescu M., Deogracias R., Gundelfinger E., Kojima M., Nestel S., Frotscher M., Barde Y.-A., Presynaptic localization of BDNF and its cleaved pro-peptide in the hippocampus, 投稿中
- 6) 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 (doi: 10.4306/pi.2010.7.4.251).
- 7) 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*, in press.
- 8) 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 (doi: 10.1007/s00702-010-0452-1).
- 9) 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 (doi: 10.1007/s00213-010-1894-8).
- 10) 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 (doi:10.1016/j.jpsychires.2010.02.007).
 - 11) 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 (doi: 10.1159/000322146).
 - 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.*, in press (doi:10.1016/j.jad.2011.03.009).
 - 13) 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.*, in press (doi:10.1016/j.jpsychires.2011.04.001).
 - 14) 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).
 - 15) 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).
 - 16) 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).
 - 17) 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).
 - 18) Hamatake, M., Miyazaki, N., Sudo, K., Matsuda, M., Sadakata, T., Furuya, A., Ichisaka, S., Hata, Y., Nakagawa, C., Nagata, K., Furuichi, T., and Katoh-Semba, R. Phase advance of the light-dark cycle perturbs diurnal rhythms of brain-derived

neurotrophic factor and neurotrophin-3 levels, which reduces synaptophysin-positive presynaptic terminals in the cortex of juvenile rats, *J. Biol. Chem.* in press.

19) 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).

20) 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).

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 3件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3件)