

「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

H23 年度 実績報告

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

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. 研究実施体制

1) 産業技術総合研究所（産総研）グループ

① 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)

② 研究項目

・BDNF 機能障害の分子病態の解明と難治性うつ病の診断・治療法の創出

2) 広島大学（広大 A）グループ

①主たる共同研究者： 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) 国立精神・神経医療研究センター（神経セ）グループ

①主たる共同研究者： 功刀 浩((独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所、部長)

② 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（北里大）グループ

①主たる共同研究者： 高橋 正身(北里大学医学部、教授)

② 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) 東京理科大学－理化学研究所（東理大－理研）グループ

①主たる共同研究者： 古市 貞一(東京理科大学理工学部、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

6) 広島大学（広大 B）グループ

①主たる共同研究者： 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

- ・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) 自然科学研究機構 生理学研究所 –京都大学 (生理研–京大) グループ

- ①主たる共同研究者： 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、特任准教授)

② 研究項目

- ・難治性うつ病モデルマウスの行動学的解析

§ 2. 研究実施内容

§ 2-1. 研究実施内容 チーム全体概要

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難治化を引き起こすと考え、基礎研究者と精神科医の連携チームが難治化うつ病の分子病態の解明とその診断技術と治療法の開発を目指している。うつ病における BDNF 仮説は、1995年のNibuyaらの報告以来、重要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、臨床症状を反映する病態モデル動物、臨床研究と基礎研究との融合が十分ではないため、創薬や診断技術の創出には至っていない。平成23年度は、このような問題の解決を重視し研究を推進してきた。

研究代表者のグループは、平成22年度までの結果に加えて、BDNF プロセッシング障害マウスの抗うつ薬抵抗性、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、BDNF mRNA 発現の異常などを見出し、モデルマウスとしての妥当性、proBDNF/p75 シグナリングとうつ様行動との関係、そしてBDNF に関するうつ病仮説に新たな分子細胞マーカーを見出した。また、BDNF pro-peptide という第3の BDNF 分子種の生理活性、一塩基多型に起因する配列中のアミノ酸置換の意義を見出した。開発的研究では、proBDNF 抗体類の整備が進み、バイオセンシング技術との融合から新しい診断技術の開発を進めた。分担研究グループからも重要な知見が見出された。BDNF 分泌制御因子 CAPS2 の研究では、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こと、興味深い事に CAPS2 欠損マウスではこの BDNF 量の日内変動が消失していることが明らかになった。

臨床研究からは、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)アルルがリスクを与えることを明らかにし、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ルルは、うつ病のリスクとなることを見出した。抗うつ薬治療に抵抗性で電気けいれん治療を必要とした難治性うつ病 15 例を対象に BDNF 遺伝子エクソン 1 プロモーター領域の DNA メチル化を解析した結果、未治療うつ病 20 例と異なるメチル化プロファイルを見出した。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。

基礎研究からは、うつ病に関する分子細胞病態の解明、これらの計測技術の開発を推進し、臨床研究からは BDNF 遺伝子上の DNA メチル化プロファイルを含む分子マーカーの開発、うつ病に重要とされる脳領域に対応した脳賦活課題の作成などを行った。proBDNF 測定技術を含めた新たな生物学的手法を組み合わせることにより、うつ病の治療と診断の確度向上を目指し今後のクレスト研究を加速させる。

§ 2-2. 研究実施内容 グループ別

産業技術総合研究所（産総研）小島グループ

【BDNF プロセッシング障害マウスの解析(図1)】

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、副腎肥大、BDNF mRNA 発現の異常などを定量的にデータ化した。これらの結果は、本モデルマウスの新規性、proBDNF/p75 シグナリングとうつ様行動とストレスとの関係、そしてうつ病仮説に新たな分子細胞マーカーproBDNF を提唱しうることが示唆された(A-1)。

【BDNF pro-peptide の生理機能の解析】

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-2)。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(A-3)。

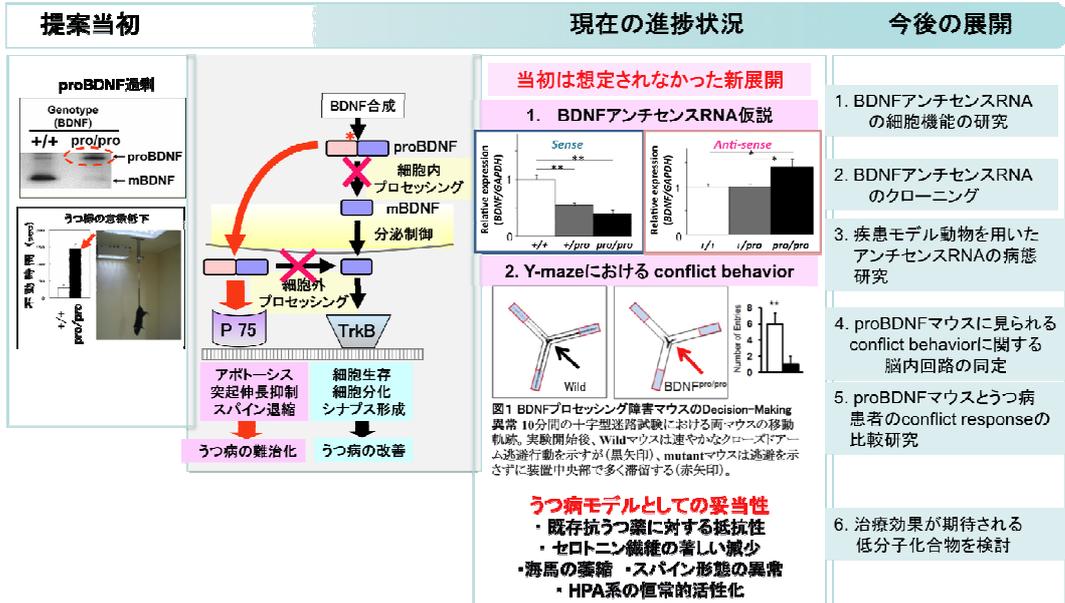
【BDNF 迅速測定機器の開発:震災復興技術イノベーション創出実証研究事業】

BDNF pro-peptide に注目したバイオセンサーチップの開発については、学会における成果発表に加え、震災復興技術イノベーション創出実証研究事業(経産省)によりBDNFの迅速測定機器の開発を開始した(東北大学との共同開発)。

【BDNF anti-sense RNA の発見】

上記モデル動物の研究の中で、BDNF アンチセンス RNA 遺伝子クローニングおよび機能解析が進んだ。しかし、23年度3月にアメリカのグループがアンチセンス RNA クローニングの先行論文を発表した(Modarresi et al., Nature biotechnology, 2003)。一致データも多数見られ、今後は本CREST 課題の中で本研究を進めていきたい。

図1 BDNFプロセッシング障害マウス研究の進捗と今後

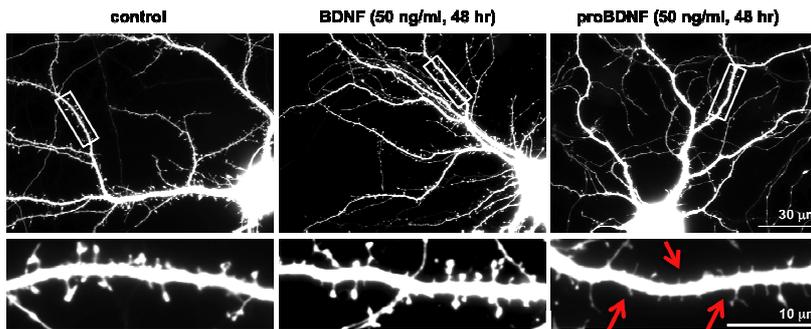


【BDNF 分子種に対する抗体と定量技術の開発】

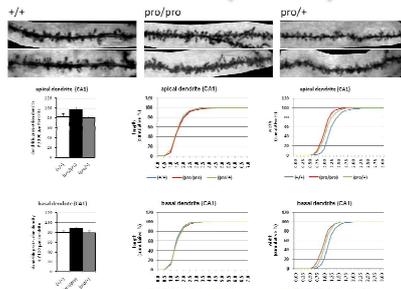
成熟型 BDNF のモノクローナル抗体の作成を行い、4クローン(2A1、2B3、2H4、3E12)を得た。2B3 については大量培養した無血清培地から硫酸沈殿で精製抗体を調整した(北里大学のグループと共同研究)。平成 21 年度に作製した BDNF プロドメインに対する抗体は、内在性 BDNF pro-peptide を特異的に検出する抗体であった(A-2、A-4)。プロドメイン特異抗体の作成では、繰り返しフュージョンを行ってモノクローナル抗体の作成を試みている。モノクローナル抗体は(#1、

#3、#10)の3種を単離し各抗体の使用目的を決定した。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。

図2 proBDNFによるdendritic spineの形態への影響



培養海馬神経細胞に対しては、proBDNFはスパインの不安定化をもたらした(上:赤)。しかし、BDNFプロセッシング障害マウスの海馬錐体細胞については、spine headのwidthが短くなったものが増加した(右)。



【proBDNF とスパイン退縮】

うつ病における神経可塑性仮説が提唱されている。産総研は proBDNF が培養海馬神経細胞のスパイン密度を顕著に低下させることを報告した(図2)。シナプス形態の time-lapse imaging 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だし(Mizui et al., 論文準備中)、この結果はさらに支持された。産総研は、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示したが(Koshimizu et al., 2009)、さらに BDNF プロセッシング障害マウスを用いたスパインの形態解析も行った。ゴルジ染色法を用いて定量解析の結果、スパインヘッド幅の減少が見出された。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が(A-5)、DNA チップの結果も同様の pathway の活性化を示唆していた。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-6)、BDNF と proBDNF の関係について総説にまとめた(A-7)。

広島大学大学院(広大 A) 山脇グループ

【末梢血由来 DNA メチル化解析】

抗うつ薬治療に抵抗性で電気けいれん治療を必要とした難治性うつ病 15 例を対象に、BDNF 遺伝子エクソン 1 のプロモーター領域の DNA メチル化を MassARRAY (SEQUENOM 社)を用いて計測し、未治療うつ病 20 例とはメチル化のプロフィールが異なることを発見した。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 メチル化を同様の方法で計測するために、健康者の末梢血由来 DNA を対象として、この領域を 3 領域に分割する PCR primer を設計し計測する方法を開発した(B-1)。

【モデル動物を用いた電気けいれん療法作用等メカニズム解析】

当グループはうつモデル動物の作製し、分子生物学、行動薬理学の手法を用いて解析を進めてきた。HDAC inhibitor のひとつ sodium butyrate の抗うつ薬効果および BDNF シグナルへの影響を発表した(B-2)。成獣雄ラットに難治性うつ病の治療法である電気けいれん処置を施した。電気けいれん単回処置により海馬 BDNF mRNA が急速に増加し、その後速やかに pro-BDNF が作られ、シナプス末端に運ばれることを見出した。さらに、pro-BDNF の細胞外切断酵素である t-PA もまた増加し、シナプス末端に運ばれたことから、t-PA が細胞外で分泌 pro-BDNF を切断することが示唆された。電気けいれん複数回処置後には pro-BDNF 切断産物 mBDNF の増加が確認された。一方、抗うつ薬イミプラミン投与ではこれらの現象は見られなかった(B-3)。以上の結果は、電気けいれんにより抗うつ作用を担う mBDNF が速やかに増加するメカニズムと考えられ、難治性うつ病の新たな治療法開発につながるであろう。

国立精神・神経医療研究センター(神経セ) 功刀グループ

【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-1)。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-18の遺伝子多型と関連することを明らかにした(C-2)。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-18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-4)。

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-12)。

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-13)。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-3)。

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)アリルがリスクを与えることを明らかにし(C-10)、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リルは、うつ病のリスクとなることを見出した(C-17)。

【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】

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、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BDNF受容体のTrkBとの結合の低下を原因とすることを発見した(C-8)。我々は既に、BDNFによるmiR132の発現増加と、それによるシナプス蛋白質増強を報告しているが、今回、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。そして塩基性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-11)。さらに、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明らかにしている。

【うつ病動物モデル研究】

拘束ストレスを与えたラットの解析により、グルコ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(Chiba et al, 内藤カンファレンスポスター賞)。

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的解析は現在進行中である。

【難治性うつ病の分子/細胞病態の解明】

長期のストレスによる不安感の持続はうつ病の発症に深く関わっていると考えられる。本年度は当グループが CREST 研究において標的分子として注目している SNAP-25 の特異的抗体の作製とその発現分布の決定した(D-1)。SNAP-25 ノックインマウスは顕著な不安様行動を示すが(D-2)、昨年度までの研究から生後 3 週頃に多発するてんかん発作が不安様行動の発症原因であることが明らかとなった。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。SNAP-25 ノックインマウスでは様々なフェのタイプが現れており不安様行動の発症機序を明らかにすることが困難なため、本年度からはピロカルピン投与マウスで解析を行うこととした。

BDNF の発現亢進が不安様行動の表出に関わるか否かを明らかにするため、BDNF の発現量が野生型の半分となる BDNF ノックアウトマウスのヘテロ接合体や、小島らが作成した BDNF プロセッシング異常マウス、p75 ノックアウトマウスでのピロカルピンてんかん重積モデルの作成を試みた。その結果これまで用いていた C57BL/6N マウスとは異なり、C57BL/6J マウスではピロカルピン投与後の生存率が著しく低く実験が困難であることが明らかとなった。このためこれらの変異マウスの C57BL/6N へのバッククロスを行っている(D-1)。

【BDNF 作用メカニズムの研究】

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 COS 細胞や初代培養アストロサイト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。

抗 panBDNF モノクローナル抗体や抗プロドメインモノクローナル抗体(6D2) ではトランスフェクション依存的な細胞染色は現在までのところ得られていない。

【難治性うつ病のバイオマーカーの検索と有効性の検証】

げっ歯類動物組織標本を用いた抗体評価系を構築し、昨年度までに樹立した抗成熟型 BDNF モノクローナル抗体および抗 panBDNF モノクローナル抗体に加え、抗プロドメインモノクローナル抗体(6D2) を樹立した。精製抗体を用いて様々な条件で免疫組織化学を行い、染色の特異性を検討した。得られた抗体は全てパラフィン切片では有意な染色性を示さなかったが、凍結切片をプロテイナーゼ K で抗原不活化をすると陽性反応が得られた。

3種の抗体は異なる配列の合成ペプチドを抗原として作られているためエピトープが異なるが、基本的には海馬でよく似た染色性を示し、CA2の錐体細胞体の周囲に強い陽性反応が見られ、歯状回の分子層やCA3の多形細胞層でも有意な染色が見られた。さらにBDNFの発現が亢進しているSNAP-25ノックインマウスでは全ての抗体で陽性反応が著しく増強していた。以上の結果からこれらの抗体で得られる染色はBDNF由来のものであると結論した。

PFAに加え、グルタルアルデヒドを固定液に加えると6D2抗体で苔状線維が強く染色されるようになったが、その染色性は固定後次第に減弱していくことも明らかになり、BDNFの局在性を確かなものとするためには、固定や染色の至適条件をさらに検討する必要があると考えられた。

3種の抗体の染色性を詳細に比較すると、よく似た領域と同時に染色性に違いがある部位も存在することが明らかとなった。今後は各抗体で特異的な染色像を得る至適条件を確立し、BDNFのプロセッシング過程を様々な変異マウスで解析していく予定である。

東京理科大学－理化学研究所（東理大－理研）古市グループ

東理大グループは、有芯小胞の分泌を調節する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ている。H23年度は、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すが、CAPS2欠損マウスではこのBDNF量の日内変動が消失していることを明らかにした(E-1)。このことから、CAPS2が正しい神経回路の形成に必須なBDNFの脳発達期の日内リズムに影響することが示唆される。また、北里大学・高橋グループの協力を得て、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-2)。H24年度は、CAPS2 KOマウスとCAPS1コンディショナル KOマウスにおけるBDNF分泌活性のより詳細な解析を行う。また、カテコールアミンの分泌障害が相乗的に作用してうつ病の難治化にはたらく可能性が無いかCAPS2による生体アミン系神経伝達物質の分泌への促進作用について解析する。小島グループと共同して、CAPS2によるproBDNFとmature BDNFの分泌動態のイメージング解析をすすめる。

広島大学大学院（広大B）岡本グループ

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。平成23年度は基礎的検討として、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-1,2)。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-3)。さらに、同様の課題を用いた機能的脳画像研究をうつ病患者を対象として行い、その結果の一部を国際学会で発表した。これらの検討を踏まえ、今後は、うつ病を対象としてBDNF、proBDNF測定するとともに多次元の脳画像解析を行い、両データの関連性を検証する。

生理学研究所 ー京都大学 (生理研ー京大) 高雄グループ

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様行動の実験系およびストレス負荷に関する実験系を確立した。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

産業技術総合研究所（産総研）小島グループ

- A-1.H. Kumanogoh, K. Katoh, M. Otsuka, T. Mizui, T. Hara, L. Bai, M. Kojima, proBDNF elicits depression-like behavior and dysfunction of BDNF in vivo, in submission.
- A-2.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*, vol. 196 no. 6 775-788. (DOI: 10.1083/jcb.201201038)
- A-3.K. Uegaki, Y. Ishikawa, T. Mizui, M. Nobuhara, T. Hirokawa, T. Hara, S. Suzuki, M. Takahashi, S. Shiosaka, C. Itami, H. Kumanogoh, M. Kojima, The BDNF pro-peptide is a novel facilitator of hippocampal LTD and the biological action is modulated by a common BDNF polymorphism Val66Met, in revision.
- A-4.Sortilin is a presynaptic regulator of hippocampal plasticity genetically linked to bipolar disorder and schizophrenia, U. Boicho^{1*}, S. Glerup, K. Inoue, F. Lin, M. Nyegaard, K. L. Evans, P. A. Thomson, D. J Porteous, J. R. Nyengaard, E. Füchtbauer, O. Mors, M. Kojima, B. L. Hempstead, A. Borglum, K. Jensen, A. Nykjaer, in submission.
- A-5.H.Koshimizu, S.Suzuki, T.Araki, M.Yamada, M.Kojima, H.Hatanaka,BIT/SHPS-1 promotes antiapoptotic effect of BDNF on low potassium-induced cell death of cultured cerebellar granule neurons. *Cell.Mol.Neurobiol.*, 31(7), 1027-1032 (2011) (DOI: 10.1007/s10571-011-9700-7)
- A-6.Y. Ishikawa, M. Kojima, The role of brain-derived neurotrophic factor as a modulator of synaptic plasticity, *Brain Aging, Therapeutic Interventions*, in press
- A-7.Y. Sato, S. Suzuki, M. Kitabatake,T. Hara, M. Kojima, Generation of TrkA/TrkB Chimeric Receptor Constructs Reveals Molecular Mechanisms underlying BDNF-Induced Dendritic Outgrowth in Hippocampal Neurons. *Cell. Mol. Neurobiol.*, 31(4), 605-614 (2011) (DOI: 10.1007/s10571-011-9655-8)

広島大学大学院（広大A）山脇グループ

- B-1. 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.

(doi:10.1371/journal.pone.0023881)

- B-2. 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. *World J. Biol. Psychiatry*. 2011 Aug 3. (DOI:10.3109/15622975.2011.585663)
- B-3. Masahiro Segawa, Shigeru Morinobu, Tomoya Matsumoto, Manabu Fuchikami, Shigeto Yamawaki, “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*, 2012, Feb 6:1-12. (DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S1461145712000053>)

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. 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-2. 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-3. 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-4. 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-1β 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-5. 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-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.* 2011 Aug;132(3):319-24. Epub 2011 Mar 24. PubMed PMID: 21439649.
- 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.* 2011 Sep;45(9):1257-63. Epub 2011 May 6. PubMed PMID: 21527190.
- C-8. 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-9. 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-10. 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-11. 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-12. 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-13. Hattori K, Tanaka H, Yamamoto N, Teraishi T, Hori H, Kinoshita Y, Matsuo J, Kawamoto Y, Kunugi H. Blood CADPS2 Δ Exon3 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-14. 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-15. 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-16. 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-17. 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)

北里大学（北里大）高橋グループ

- D-1. Yamamori S, Itakura M, Sugaya D, Katsumata O, Sakagami H, Takahashi M (2011) Differential Expression of SNAP-25 Family Proteins in the Mouse Brain. *J Comp Neurol*, 519: 916–932. (DOI: 10.1002/cne.22558)
- D-2. 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. (DOI:10.1371/journal.pone.0025158)

東京理科大学－理化学研究所（東理大－理研）古市グループ

- E-1. 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-2. 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.)

広島大学 (広大 B) 岡本グループ

F-1. 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.neulet.2011.01.067)

F-2. 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-3. 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)

(3-2) 知財出願 (国内出願件数のみ公開)

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3件)

(3-3) 報道等

広島大学大学院(広大 A) 山脇グループ

末梢血由来 DNA メチル化解析により難治性うつ病のバイオマーカー候補を見出した成果(論文B-1)に関して、以下の新聞等に掲載された。

朝日新聞、毎日新聞、産経新聞、読売新聞、中国新聞(2011年8月31日)

産業技術総合研究所 (産総研) 小島グループ

日刊工業新聞 「うつ病と神経栄養因子」(2011年9月29日)