

特集 当事者に届く生物学的精神医学研究：バイオマーカーを用いた精神疾患の客観的補助診断法の開発

## 気分障害のバイオマーカー開発，とくに白血球での遺伝子発現からみた 気分障害の状態診断，亜型分類

渡辺 義文，内田 周作，大拙 孝治，山形 弘隆，芳原 輝之，  
阿部 尚子，樋口 文宏，綿貫 俊夫，松原 敏郎

客観的な診断指標の確立を目指し，気分障害患者のうつ状態ならびに寛解状態での末梢白血球における遺伝子発現パターンを健常者と比較することを試みた。検討の対象とした遺伝子群は気分障害の病態との関連が示唆されているグルココルチコイド受容体，神経栄養因子群，細胞接着因子群，スプライシング調節機構に関連するSR蛋白，転写調節因子ならびにエピジェネティクス関連因子群〔ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC, SIRT)，DNAメチル化酵素 (DNMT)〕などである。解析の結果，①単極性，双極性各々のうつ状態で特異的に遺伝子発現が変動するstate marker，②状態に関連せず一貫した発現変動を示し，遺伝素因的発症脆弱性に関連すると思われるtrait marker，③薬物治療抵抗性のmarkerの3種類を見出した。State markerとtrait markerを組み合わせることにより，単極性うつ病と双極性うつ病との鑑別，さらには内因性の気分障害と神経症性抑うつとの鑑別が可能となる。また，薬物治療抵抗性markerを用いることで早期に電気けいれん療法の導入を考慮することが可能になることが期待される。

〈索引用語：気分障害，末梢白血球，遺伝子発現，生物学的指標〉

### 1. はじめに

うつ病は遺伝規定性の発症脆弱性が基盤にあり，ストレス負荷によって発症すると考えられている。発症病態についてはストレス脆弱性に加え神経可塑性の異常が想定され，視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 系や神経栄養因子群などの異常が報告されている<sup>20)</sup>。しかし，いまだうつ病の生物学的実態は明らかにされておらず，うつ病診断も症候学に依拠せざるを得ない状態であり，①「軽症うつ病」にみられるうつ病概念の拡散化，②発症時における単極性うつ病 (MDD) と双極性うつ病 (BPD) の鑑別の困難性，③治療反応性予測の困難性が問題となっている。しかし，気分障害の補助診断指標として有効なエビデンスに基づいた生物学的指標はいまだ確立されていないのが現状である。

うつ病の病態解明や診断の客観的指標を求めて，神経画像研究ならびに死後脳や血液・髄液サンプルを用いた生化学的検索が精力的に行われている。世界生物学的精神医学会の検討によれば，一定の確度を持った所見として血小板セロトニン・トランスポーターの減少，死後脳でのセロトニン1A受容体の減少，血漿でのsIL-2RやIL-6の増加ならびにBDNF (brain-derived neurotrophic factor) やFGF (fibroblast growth factor) -1の減少，低コレステロール血症，低葉酸値，高コラーゲン血症，デキサメサゾン非抑制が挙げられているが，現在のところ世界的にコンセンサスの得られる確たる所見は得られていない<sup>19)</sup>。遺伝子レベルの検討も盛んに行われているが，これについてもやはり確度の高い所見は得られてはいない<sup>4)</sup>。死後脳での遺伝子発現変化の検討と並んで，

表1 気分障害のバイオマーカー候補遺伝子群

遺伝子名		単極性うつ病		双極性うつ病		文献
		うつ病相	寛解期	うつ病相	寛解期	
グルココルチコイド受容体	GR $\alpha$ *	↓	↓	↓	↓	Matsubara, T., et al., 2006 <sup>17)</sup>
スプライシング関連因子群	SRp20*			↑	↑	Watanuki, T., et al., 2008 <sup>38)</sup>
細胞接着因子群	NCAM-140			↓		Wakabayashi, Y., et al., 2008 <sup>36)</sup>
	CAM-L1			↑		
スプライシング関連因子群	NT-3	↓				Otsuki, K., et al., 2008 <sup>21)</sup>
	GDNF	↓				
	ARTN	↓				
REST と標的遺伝子群	REST	↓				Otsuki, K., et al., 2010 <sup>22)</sup>
	CRH	↑				
	Adcy5	↑				
	Tnfsf12-13	↑				

GR $\alpha$ : glucocorticoid receptor $\alpha$ , SRp20: SR protein splicing factor 20, NCAM-140: neural cell adhesion molecule, CAM-L1: cell adhesion molecule L-1, NT-3: neurotrophin-3, GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor, ARTN: artemin, REST: repressor element-1 silencing transcription factor, CRH: corticotropin releasing hormone, Adcy5: adenylate cyclase 5, Tnfsf12-13:

\*: trait marker, その他の無印は state marker

近年、末梢白血球における遺伝子発現異常の検討が注目されつつある<sup>12,27)</sup>。それに根拠を与えたのは、脳と末梢血での遺伝子発現、特に細胞死や神経新生に関する遺伝子群では、ある程度の高い相関が認められるという研究結果である<sup>30)</sup>。末梢血を用いた遺伝子発現変化の検索は、①試料の採取が容易で患者への侵襲が少ない、②繰り返しの試料採取が可能で、状態依存的変化(うつ状態、寛解状態)の検討が可能、③臨床現場で実用可能な生物学的診断指標となり得る、という利点が考えられ、今後の研究の発展が期待される。

そこで、我々はうつ病の生物学的補助診断指標を確立することを目的とし、末梢白血球における遺伝子発現を単極性うつ病患者(MDD)、双極性うつ病患者(BPD)、健常者の3群で比較するとともに、うつ状態と寛解状態の2時点での遺伝子発現の変化も比較検討し、状態依存性指標(state marker)と遺伝規定性指標(trait marker)を峻別することを試みた。さらに、抗うつ薬治療抵抗性で電気けいれん療法によって寛解が得

られた「抗うつ薬治療抵抗群」を「抗うつ薬治療反応群」と比較し、「治療抵抗性」の指標を検索することも試みた。

## 2. グルココルチコイド受容体 (GR) の検討 (表1)

うつ病において高コルチゾール血症、デキサメサゾン/CRHテスト非抑制、髄液中のCRH濃度増加の所見からHPA系の機能異常が想定され、その要因としてGRの異常が示唆されている<sup>2,24,25)</sup>。GRはGRpre-mRNAがSRp30cを介して選択的スプライシングを受けGR $\alpha$ とGR $\beta$ となる<sup>41)</sup>。転写調節因子として重要な役割を果たしているのは発現量の多いGR $\alpha$ であり、発現量の少ないGR $\beta$ の機能はよく知られていない。

GR $\alpha$ ,  $\beta$ の発現量を検討したところ、GR $\alpha$ はMDD, BPD両群ともうつ状態ならびに寛解状態において健常群よりも低下しており、さらに家族群においても発現量が低下していたことからGR $\alpha$ 発現低下はMDD, BPD両者のtrait

marker と考えられた<sup>17)</sup>。また、GR $\alpha$  と GR $\beta$  の発現量の相関をみたところ健常群でのみ有意な負の相関がみられたことから<sup>17)</sup>、MDD と BPD では GR の選択的スプライシング調節機構に異常があることが示唆された。

### 3. 選択的スプライシング関連因子の検討 (表1)

GR の選択的スプライシング調節機構の異常が示唆されたため、選択的スプライシング調節機構の重要な因子である SR 蛋白質遺伝子 10 種類について検討を行った。その結果、SRp20 遺伝子のみ BPD のうつ状態ならびに寛解状態において発現が増加していた<sup>38)</sup>。この結果は、SRp20 発現増加が BPD の trait marker である可能性を示唆している。

GR の選択的スプライシングに関与する SRp30c の発現異常は認められなかったが、RG $\alpha$ ,  $\beta$  の発現量との関連を検討したところ健常群においてのみ有意な相関が確認できた<sup>38)</sup>。MDD, BPD 両群において GR $\alpha$ ,  $\beta$  と SRp30c に相関が認められなかったという所見は極めて重要な意味を持っており、気分障害においては GR が単純に SRp30c によってスプライシングが調節されていない異常が存在することを示唆している。

### 4. 転写調節因子, 神経可塑性関連因子の検討 (表1)

GR $\alpha$  の発現低下が気分障害の trait marker であるとすれば、その病態に RG $\alpha$  による転写調節異常の存在が想定される。実際、転写調節因子としても GR のほか CREB (cAMP-responsive element binding protein) の発現異常が気分障害において報告され<sup>5,6,16,40)</sup>、遺伝子発現異常が気分障害の病態に関連することが想定されている<sup>7)</sup>。さらに、ストレス適応破綻から神経可塑性異常が引き起こされるという発見<sup>37)</sup>に引き続いて、神経画像学的研究や死後脳研究の成果から気分障害の病態に神経可塑性異常が関与するという考えが定着してきている。そこで、神経可塑性に関与し

CRH, BDNF, 5HT-1 受容体などの転写調節因子である REST (repressor element-1 silencing transcription factor)<sup>23,28)</sup>ならびにその標的遺伝子群, さらには神経可塑性に重要な役割を持つ細胞接着因子群, 神経栄養因子群について検討を行った。

細胞接着因子群は BPD のうつ状態において NCAM (neural cell adhesion molecule) -140 の発現量が低下し, 逆に CAM (cell adhesion molecule) -L1 の発現量は増加していた<sup>36)</sup>。この変化は寛解状態では消失していた<sup>36)</sup>。一方, 検討した 8 種類の神経栄養因子群の中で NT-3 (neurotrophin-3), GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor), ARTN (artemin) の発現量が MDD のうつ状態において低下していたが, この低下は寛解状態では消失していた<sup>21)</sup>。REST の発現は MDD のうつ状態においてのみ低下しており, 検討した 9 種類の標的遺伝子群のうち CRH, Adcy (adenylate cyclase) 5, Tnfsf (tumor necrosis factor superfamily) 12-13 の発現が増加していた<sup>22)</sup>。これらの変化は寛解状態では消失していた<sup>22)</sup>。

以上の結果から, 細胞接着因子 NCAM-140 と CAM-L1 の発現量変化は BPD の, 神経栄養因子 NT-3, GDNF, ARTN ならびに REST とその標的遺伝子 CRH, Adcy5, Tnfsf12-13 の発現量変化は MDD の state marker と考えられた。

NCAM-140 と CAM-L1 が BPD のうつ状態でのみ発現変化を示したが, BPD において死後脳で VASE-NCAM や SEC-NCAM の発現量が増加し, NCAN 遺伝子の多型性異常が認められたことは我々の結果を支持するものと思われる<sup>3,35)</sup>。また, MDD のうつ状態においてのみ変化を示した NT-3 については自殺者死後脳の海馬における発現低下<sup>8)</sup>, GDNF については気分障害患者末梢血での GDNF 蛋白量低下<sup>31)</sup>という我々の結果を支持する報告がみられている。さらに, MDD のうつ状態でのみ発現増加を示した Adcy5 に関しては, ノックアウトマウスにおいて不安やうつ様行動を示しにくいとの興味深い結

表2 気分障害のバイオマーカー候補 (エピジェネティック関連遺伝子群)

遺伝子名		単極性うつ病		双極性うつ病		文献
		うつ病相	寛解期	うつ病相	寛解期	
ヒストン脱アセチル化酵素	HDAC2,5	↑				Hobara, T., et al., 2010 <sup>10)</sup>
	HDAC4			↑		
	HDAC6,8*			↓	↓	
	SIRT1,2,6	↓		↓		Abe, N., et al., 2011 <sup>1)</sup>
DNA メチル基転移酵素	DNMT1	↓		↓		Higuchi, F., et al., 2011 <sup>9)</sup>
	DNMT 3 B	↑				

HDAC: histone deacetylase, SIRT: sirtuin, DNMT: DNA methyltransferase

\*: trait marker, その他の無印は state marker

果が報告されている<sup>14)</sup>。

### 5. エピジェネティクス関連因子の検討 (表2)

うつ病の発病脆弱性には遺伝的要因のみならず、養育環境やストレスといった環境要因によって引き起こされるエピジェネティックな変化が関与していることが近年注目されてきている<sup>15,29)</sup>。エピジェネティクスとはDNA配列そのものは変化させず、後天的なDNAとそれに会合するタンパクの修飾作用により遺伝子発現変化を引き起こす機構であり、DNA塩基のメチル化、ヒストンのメチル化・アセチル化が代表的なものである。DNAメチル化にはDNAメチル基転移酵素(DNMT)、ヒストンのアセチル化・脱アセチル化にはそれぞれヒストンアセチル化酵素(HAT)、ヒストン脱アセチル化酵素〔HDAC, SIRT (sirtuin)〕が主な役割を担っている。一般的には遺伝子発現に対してDNAメチル化は抑制的に働き、ヒストンアセチル化は促進的に働くものと考えられている。

ストレス、うつ病との関連では、養育行動の乏しい母ラットに養育された仔ラットは成長した後も海馬のGR遺伝子上流がメチル化されることでGRの発現量が低下し、結果としてHPA(視床下部-下垂体-副腎)系のネガティブフィードバック機能が低下し、不安やストレス反応性が増大することが報告されている<sup>39)</sup>。さらに、自殺者の死後脳における検討から、幼児期に虐待を受けた

経験のある自殺者では海馬のGR遺伝子のメチル化レベルが、虐待経験のない自殺者よりも増加していることが報告され<sup>18)</sup>、幼児期の養育環境がエピジェネティックな変化を引き起こし、生涯にわたる長期の遺伝子発現変化をきたし、ストレス脆弱性やうつ病への脆弱性を形成する可能性が示唆されている。

ヒストン脱アセチル化酵素HDAC1~11, SIRT1~7ならびにDNAメチル基転移酵素DNMT(1, 3A, 3B, 3L)を検討したところ、MDDのうつ状態においてはHDAC2, 5とDNMT3Bの発現が増加しており、BPDのうつ状態においてはHDAC4の発現が増加していたが、これらの変化は寛解状態で消失しておりstate markerと考えられた<sup>9,10)</sup>。また、SIRT1, 2, 6ならびにDNMT1の発現はMDD, BPD両群のうつ状態において低下し、寛解状態で回復していることから、これらは両群共通のstate markerと考えられる<sup>1,9)</sup>。一方、HDAC6, 8の発現はBPDにおいてうつ状態、寛解状態いずれにおいても低下しており<sup>10)</sup>、BPDのtrait markerの可能性が示唆された。他のグループもMDDの末梢白血球におけるHDAC5の発現が、うつ状態で増加し、8週間の治療後は正常レベルに回復するという、我々と同様の結果を報告している<sup>11)</sup>。

## 6. うつ病モデル動物を用いた ヒト末梢サンプルデータの検証

脳と末梢血での遺伝子発現にある程度の高い相関が認められるにしても、今回得られた気分障害患者末梢白血球における結果が真に脳での異常を反映しているのか、気分障害の病態に関連しているのかは当然の疑問として残る。この疑問を解消し、気分障害の病態に迫るために、我々は独自にうつ病モデルとしての妥当性を確認した BALB/c マウスを用いて、気分障害患者末梢サンプルで得られた結果の一部 (GDNF, HDAC, REST, CRH, Adcy5) について検討することができた<sup>34)</sup>。

BALB/c マウスは6週間にわたる慢性の軽度のストレス負荷によりうつ様行動 (社交性の低下、砂糖水嗜好性の低下、強制水泳試験での無動時間延長) を示すが、これらのうつ様行動はストレス負荷の後半3週間の抗うつ薬投与により発現が阻止されたことで、うつ病モデルとしての妥当性を確認した<sup>34)</sup>。BALB/c マウスの側坐核での GDNF の発現は、慢性ストレス負荷により MDD のうつ状態でみられたのと同様に減少していたが、抗うつ薬3週間投与によって回復した。さらに、側坐核に GDNF を過剰発現させておくと、慢性ストレスを負荷してもうつ様行動は発現しなかったことから、GDNF のうつ病態への関与が強く示唆された<sup>34)</sup>。

BALB/c マウスでの HDAC の脳内発現を検討したところ、慢性ストレス負荷によって側坐核での HDAC2 の発現が MDD のうつ状態と同様に増加していたが、3週間の抗うつ薬投与により発現増加は正常レベルに回復した。遺伝子操作によって側坐核の HDAC2 の活性を抑制したところ、慢性ストレス負荷によるうつ様行動の発現ならびに GDNF の発現低下は抑制された。さらに、慢性ストレス負荷により HDAC2 が GDNF 遺伝子の近位にリクルートされ、アセチル化レベルを低下させて GDNF の発現を低下させるメカニズムを確認している<sup>34)</sup>。

我々と同様なアプローチの研究から、10日間

の慢性社会的敗北ストレス負荷によりうつ様行動を示すストレス脆弱性を有するマウスの側坐核で HDAC2 の発現が増加するという我々と同様の結果が報告されており<sup>13)</sup>、側坐核の HDAC2 がストレス脆弱性やうつ病態に関与することを強く示唆している。また、同じグループは慢性の社会的敗北ストレス負荷によって側坐核の HDAC5 の発現が低下することを報告しているが<sup>26)</sup>、一方、海馬ではストレス負荷時に抗うつ薬を慢性投与することで HDAC5 の発現が低下し、HDAC5 を過剰発現させることで抗うつ薬の効果を抑制できることから、抗うつ薬の作用機序に HDAC5 が関与することを示唆している<sup>32)</sup>。

さらに我々は、養育期ストレス (母仔分離ストレス) を負荷したラットを用いて、脳内遺伝子発現変動を解析した。行動学的・神経内分泌学的検討により、母仔分離ストレス負荷ラットは、成獣になってからのストレス負荷に対して HPA 系の機能亢進とうつ様行動の増加を示したことから、ストレス脆弱性モデルとしての妥当性を確認した<sup>33)</sup>。このラットの脳内遺伝子発現を解析したところ、内側前頭前野皮質における REST mRNA の発現低下、CRH・Adcy5 mRNAs の発現亢進を認めた<sup>33)</sup>。これらの結果は、MDD のうつ状態における発現変動と一致しており、REST を介した遺伝子発現ネットワークの異常がうつ病の病態に関与している可能性が示唆された。

## 7. 生物学的補助診断指標としての 臨床への応用 (表3)

これまでの我々の結果を、MDD, BPD 各々の trait marker ならびに、うつ状態の state marker という視点で整理すると表3のようになる。このような気分障害の生物学的指標の候補となる遺伝子群を乗せた DNA チップが開発され、臨床現場での使用が可能となれば、症候学に依拠し客観性に乏しくしばしば誤診が問題となる現在の精神医療の質を著しく向上させるとともに、気分障害の疾病論上の混乱も生物学的な土俵の上で整理されることが期待される。

表3 気分障害のバイオマーカー候補の整理

単極性うつ病	state marker	NT-3, GDNF, ARTN, REST, SIRT1,2,6, DNMT1 ↓ CRH, Adcy5, Tnfsf12-13, HDAC2,5, DNMT3B ↑
	trait marker	GRα ↓
双極性うつ病	state marker	NCAN-140, SIRT1,2,6, DNMT1 ↓ CAM-L1, HDAC4 ↑
	trait marker	GRα, HDAC6,8 ↓ SRp20 ↑
治療抵抗性うつ病	state marker	CAM-L1 ↓ HDAC2,5 ↑*

\*：治療反応性うつ病との比較

我々の結果を気分障害の診断に応用できるとすれば、以下の3点が考えられる。

1) 神経症性抑うつとの鑑別

第一に挙げるべき問題は抗うつ薬の有効性という観点からも、MDDと神経症性抑うつの鑑別であろう。この問題についてはMDDのstate markerであるGDNF, ARTN, NT-3, RESTの発現低下, CRH, Adcy5, Tnfsf12-13, HDAC2, 5, DNMT3Bの発現増加に加え、trait markerであるGRαの発現低下、さらにはBPDと共通するstate markerであるSIRT1, 2, 6やDNMT1の発現低下を確認することで神経症性抑うつとの鑑別が可能となる。このように多数の鑑別markerが存在するので、かなり確度の高い鑑別手法となる可能性が期待される。このような客観的補助診断法の開発によって、「うつ病」概念の混乱・拡散化、抗うつ薬の乱用が防止できるものと期待している。

2) うつ状態からBPDの予測

うつ病相で発症するBPDの診断は症候学的には極めて困難である。MDDを想定して抗うつ薬による治療を行うことで、うつ状態の遷延化や躁転の危険性が生じてくる。我々が見出したBPDのstate markerであるNCAM-140の発現低下、

CAM-L1やHDAC4の発現増加、ならびにtrait markerであるSRp20の発現増加やHDAC6, 8の発現低下を確認することで治療早期よりBPDの診断が可能となり、非定型抗精神病薬や気分安定薬による治療を開始できることが期待される。

3) 薬物治療抵抗性の予測

MDDの中で抗うつ薬治療抵抗性の割合は20%以上と言われている。今回提唱したような客観的補助診断指標が得られれば、治療早期からaugmentationの工夫や修正電気けいれん療法(m-ECT)への導入を考慮することができることになる。治療抵抗性の指標を探すことを目的として、患者数が少なくプレリミナリーなものではあるが、今回の結果の中で抗うつ薬治療抵抗群と反応群の2群に分けて比較検討してみた。治療抵抗群はimipramine換算150mg/日以上、8週間以上の抗うつ薬治療に反応せず、ECT施行によって寛解したものとした。その結果、治療抵抗群は反応群に比較してうつ状態におけるCAM-L1の発現が有意に低下し、HDAC2, 5の発現は有意に増加していた。すなわち、うつ状態においてCAM-L1やHDAC2, 5の発現変化を指標とすれば、治療反応性の予測が可能となることが期待できる。特に、CAM-L1はBPDのうつ状態でのみ反対方向性の発現増加を示し、MDDでは発現変化を示さなかったことを考えると、治療抵抗性の鋭敏な指標となり得る可能性を秘めている。

8. おわりに

脳の疾患である気分障害を症候学レベルのみによる診断に終わらせるのではなく、生物学的診断指標を用いたより客観的な診断を行うことで、気分障害の鑑別診断、治療予測がより確実なものとなる。今回得られたMDD, BPDのstate marker, trait markerの候補遺伝子群は、検索する範囲を限定したものであるとともに症例数も少ないという限界を有している。より確度の高い診断指標を確立するためには、今後症例数を増やすとともに、検索範囲を限定しないDNA microarrayを

用いた遺伝子検索を行うことが望まれる。このプロセスを踏まえてDNAチップ「気分障害診断チップ」の作製を目指したいと考えている。

今回のヒト末梢試料やモデル動物の検討から、気分障害の病態にエピジェネティックな機構を介した神経可塑性の異常が関与する可能性が示唆された。エピジェネティックな機構は胎内環境や養育環境の影響を強く受ける性質を有しており、気分障害研究も遺伝規定性の縛りから視野が拡大され、新たな局面を迎えようとしている。その先には、モノアミンという古典的な発想を乗り越えた、新たな作用機序を有する抗うつ薬の登場が期待される。

#### 文 献

- 1) Abe, N., Uchida, S., Otsuki, K., et al.: Altered sirtuin deacetylase gene expression in patients with a mood disorder. *J Psychiatr Res*, 45; 1106-1112, 2011
- 2) Anacker, C., Zunszain, P.A., Carvalho, L.A., et al.: The glucocorticoid receptor: pivot of depression and of antidepressant treatment? *Psychoneuroendocrinology*, 36; 415-425, 2011
- 3) Arai, M., Itokawa, M., Yamada, K., et al.: Association of neural cell adhesion molecule 1 gene polymorphisms with bipolar affective disorder in Japanese individuals. *Biol Psychiatry*, 55; 804-810, 2004
- 4) Bosker, F.J., Hartman, C.A., Nolte, I.M., et al.: Poor replication of candidate genes for major depressive disorder using genome-wide association data. *Mol Psychiatry*, 16; 516-532, 2011
- 5) Carlezon, Jr., W.A., Duman, R.S., Nestler, E.J.: The many faces of CREB. *Trends Neurosci*, 28; 436-445, 2005
- 6) de Kloet, E.R., Joels, M., Holsboer, F.: Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*, 6; 463-475, 2005
- 7) Duman, R.S., Monteggia, L.M.: A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*, 59; 1116-1127, 2006
- 8) Dwivedi, Y., Mondal, A.C., Rizavi, H.S., et al.: Suicide brain is associated with decreased expression of neurotrophins. *Biol Psychiatry*, 58; 315-324, 2005
- 9) Higuchi, F., Uchida, S., Yamagata, H., et al.: State-dependent changes in the expression of DNA methyltransferases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res*, 45; 1295-1300, 2011
- 10) Hobara, T., Uchida, S., Otsuki, K., et al.: Altered gene expression of histone deacetylases in mood disorder patients. *J Psychiatr Res*, 44; 263-270, 2010
- 11) Iga, J., Ueno, S., Yamauchi, K., et al.: Altered HDAC5 and CREB mRNA expressions in the peripheral leukocytes of major depression. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry*, 31; 628-632, 2007
- 12) Iga, J., Ueno, S., Ohmori, T.: Molecular assessment of depression from mRNAs in the peripheral leukocytes. *Ann Med*, 40; 336-342, 2008
- 13) Krishnan, V., Han, M.-H., Graham, D.L., et al.: Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*, 131; 391-404, 2007
- 14) Krishnan, V., Graham, A., Mazei-Robison, M. S., et al.: Calcium-sensitive adenylate cyclases in depression and anxiety: behavioral and biochemical consequences of isoform targeting. *Biol Psychiatry*, 64; 336-343, 2008
- 15) Krishnan, V., Nestler, E.J.: The molecular neurobiology of depression. *Nature*, 455; 894-902, 2008
- 16) Laifenfeld, D., Karry, R., Grauer, E., et al.: Antidepressants and prolonged stress in rats modulate CAM-L1, laminine, and pCREB, implicated in neuronal plasticity. *Neurobiol Dis*, 20; 432-441, 2005
- 17) Matsubara, T., Funato, H., Kobayashi, A., et al.: Reduced glucocorticoid receptor $\alpha$  expression in mood disorder patients and first-degree relatives. *Biol Psychiatry*, 59; 689-695, 2006
- 18) McGowan, P.O., Sasaki, A., D'Alessio, A.C., et al.: Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci*, 12; 342-348, 2009
- 19) Mossner, R., Mikova, O., Koutsilieri, E., et al.: Consensus paper of the WFSBP Task Force on biological markers: biological markers in depression. *The World J Biol Psychiatry*, 8; 141-174, 2007
- 20) Nestler, E.J., Barrot, M., DiLeone, R.J., et al.: Neurobiology of depression. *Neuron*, 34; 13-25, 2002

- 21) Otsuki, K., Uchida, S., Watanuki, T., et al.: Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression. *J Psychiatr Res*, 42; 1145-1153, 2008
- 22) Otsuki, K., Uchida, S., Wakabayashi, Y., et al.: Aberrant REST-mediated transcriptional regulation in major depressive disorder. *J Psychiatr Res*, 44; 378-384, 2010
- 23) Otto, S.J., McCorkle, S.R., Hover, J., et al.: A new binding motif for the transcriptional repressor REST uncovers large gene networks devoted to neuronal functions. *J Neurosci*, 27; 6729-6739, 2007
- 24) Pariante, C.M., Miller, A.H.: Glucocorticoid receptors in major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*, 49; 391-404, 2001
- 25) Pariante, C.M., Lightman, S.L.: The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci*, 31; 464-468, 2008
- 26) Renthal, W., Maze, I., Krishnan, V., et al.: Histone deacetylase 5 epigenetically controls behavioral adaptations to chronic emotional stimuli. *Neuron*, 56; 517-529, 2007
- 27) Schmidt, H.D., Shelton, R.C., Duman, R.S.: Functional biological markers of depression: diagnosis, treatment, and pathophysiology. *Neuropsychopharmacology*, 36; 2375-2394, 2011
- 28) Schoenherr, C.J., Anderson, D.J.: Silencing is golden: negative regulation in the control of neuronal gene transcription. *Curr Opin Neurobiol*, 5; 566-571, 1995
- 29) Schroede, M., Krebs, M.O., Bleich, S., et al.: Epigenetics and depression: current challenges and new therapeutic options. *Curr Opin Psychiatry*, 23; 588-592, 2010
- 30) Sullivan, P.F., Fan, C., Perou, C.M.: Evaluating the comparability of gene expression in blood and brain. *Am J Med Genet (Part B)*, 141B; 261-268, 2006
- 31) Takebayashi, M., Hisaoka, K., Nishida, A., et al.: Decreased levels of whole blood glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in remitted patients with mood disorders. *The Int J Neuropsychopharmacol*, 9; 607-612, 2006
- 32) Tsankova, N.M., Berton, O., Renthal, W., et al.: Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci*, 9; 519-525, 2006
- 33) Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., et al.: Early life stress enhances behavioral vulnerability to stress through the activation of RES-mediated gene regulation in the medial prefrontal cortex of rodents. *J Neurosci*, 30; 15007-15018, 2010
- 34) Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., et al.: Epigenetic status of *Gdnf* in the ventral striatum determines susceptibility and adaptation to daily stressful events. *Neuron*, 69; 359-372, 2011
- 35) Vawter, M.P., Freed, W.J., Kleinman, J.E.: Neuropathology of bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 48; 486-504, 2000
- 36) Wakabayashi, Y., Uchida, S., Funato, H., et al.: State-dependent changes in the expression levels of NCAM-140 and L1 in the peripheral blood cells of bipolar disorders, but not in the major depressive disorders. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry*, 32; 1199-1205, 2008
- 37) Watanabe, Y., Gould, E., McEwen, B.S.: Stress induces atrophy of apical dendrites hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res*, 588; 341-345, 1992
- 38) Watanuki, T., Funato, H., Uchida, S., et al.: Increased expression of splicing factor SRp20 mRNA in bipolar disorder patients. *J Affect Dis*, 110; 62-69, 2008
- 39) Weaver, I.C., Cervoni, N., Champagne, F.A., et al.: Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci*, 7; 847-854, 2004
- 40) Webster, M.J., Knabel, M.B., O'Grady, J., et al.: Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. *Mol Psychiatry*, 7; 985-994, 2002
- 41) Xu, O., Leung, D.Y.N., Kisich, K.O.: Serine-arginine-rich protein p30 directs alternative splicing of glucocorticoid receptor pre-mRNA to glucocorticoid receptor  $\beta$  in neutrophils. *J Biol Chem*, 278; 27112-27118, 2003

## Functional Biomarkers of Mood Disorders : Differential Diagnosis and Clinical Classification with Gene Expression in Peripheral Leukocytes

Yoshifumi WATANABE, Shusaku UCHIDA, Kouji OTSUKI,  
Hiroataka YAMAGATA, Teruyuki HOBARA, Naoko ABE,  
Fumihiro HIGUCHI, Toshio WATANUKI, Toshio MATSUBARA

*Division of Neuropsychiatry, Department of Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine*

In order to identify the possible biomarkers of mood disorders, we measured the mRNA levels for a variety of genes in peripheral leukocytes of mood disorder patients in a depressive, as well as in a remissive state, comparing with healthy controls. We selected and measured the levels of genes of interest, which are listed as follows : glucocorticoid receptor, neurotrophic factors, cell adhesion molecules, SR protein splicing factors, transcription factors, epigenetic factors (histone deacetylase, sirtuin, DNA methyltransferase), since these molecules are suggested to be associated with the neural function, synaptic plasticity, and behaviors in animal models, as well as with the pathophysiology and pathogenesis of mood disorders.

We found the three different types of biological markers : 1) state markers those revealed alterations of gene expression only in a depressive state of major depressive patients and/or bipolar depressive patients, 2) trait markers those showed altered gene expression both in a depressive and a remissive state of major depressive patients and/or bipolar depressive patients, and 3) markers of the treatment resistance those revealed different alterations of gene expression between treatment resistant and treatment responsive patients in a depressive state. The use of state and trait markers in combination would allow us to put a differential diagnosis between major depressive and bipolar depressive states, as well as between mood disorders and neurotic depressive states. Furthermore, candidate biomarkers of treatment resistance could be used to consider forward of applying the electric convulsive therapy even in an early stage of a depressive state.

<Authors' abstract>

<Key words : mood disorders, peripheral leukocytes, gene expression, biological marker>

---