

厚生科学研究費補助金

(脳科学研究)

精神分裂病の病因的異質性に関する研究

平成 10 年度研究報告書

主任研究者 小島卓也

厚生科学研究費補助金

(脳科学研究)

精神分裂病の病因的異質性に関する研究

平成 10 年度研究報告書

主任研究者 小島卓也

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

総括研究報告書

精神分裂病の病因的異質性に関する研究

主任研究者 小島卓也 日本大学 医学部 精神神経科学教室 教授

研究要旨：1) 一卵性双生児を用いた分裂病の成因的異質性に関する研究：探索眼球運動を用いた研究において、分裂病の一卵性双生児一致群、不一致群、健常群の探索眼球運動の反応的探索スコア(RSS)を測定し、一卵性双生児同士が高い相関を示し、分裂病一致群が最も低値で、分裂病不一致群、健常群の順に並び3群間で有意差が見られた。拡散強調脳画像(MRI-DI)による神経繊維走行の検討では、拡散異質性パターンを比較したところ、一卵性双生児健常例では極めて一致し、分裂病不一致例では一致せず、とくに左側頭葉後部で顕著であった。分裂病一致例では左右前頭葉での不一致が目立った。以上の2つの結果は分裂病一卵性双生児一致群と不一致群の異質性を示すものであった。2) 分裂病の脳の形態学的異質性に関する研究：高解像度三次元MRIを用いて測定し、男子患者は健常者群に比べて左側脳室全体、左下角と左右の前角が有意に拡大していたが、女子患者では有意差が見られなかった。また、脳灰白質の差異を比較したところ、男子分裂病患者群では健常者群に比べて左の上側頭回領域の体積が減少していることが明らかになった。3) 分裂病の素因マーカーとしての反応的探索スコア(RSS)の検討：多発家系の分裂病患者のRSSが低値を示し、分裂病患者の健常同胞および1度の親族に分裂病がある気分障害患者のRSSは対照群よりも有意に低値であった。したがって、RSSの低値が分裂病の遺伝的要因と関連することが示唆された。4) 分裂病の遺伝的異質性に関する研究：探索眼球運動(反応的探索スコア)をマーカーにした分裂病の連鎖解析では、最終的に必要な患者とその同胞数の40%が収集されており、DNAを抽出し連鎖解析にとりかかった。一卵性双生児分裂病不一致例のゲノムの差異に関する研究ではRLGS(restriction landmark genome scanning)修正法の開発に成功した。分裂病のゲノム遺伝子の多様性に関する研究では、患者DNAの解析により、ドーパミンD4受容体遺伝子、シグマ1型受容体遺伝子、ZNF74遺伝子が精神分裂病と関連している可能性が示唆された。

分担研究者氏名・所属施設名及び役職

手

倉知正佳 富山医科薬科大学医学部精神神経医学
講座教授

A. 研究目的

岡崎祐士 三重大学医学部精神神経科学教室教授
有波忠雄 筑波大学基礎医学系遺伝医学部門助教
教授

精神分裂病(以下、分裂病)の成因については、
環境因との相互作用を前提とした遺伝説と神経
発達仮説が有力であり、前者においては遺伝因子

松島英介 東京医科歯科大学神経精神医学教室助

(素因)が後者においては様々な環境因子がより

重要となるが、未だ明確な結論は得られていない。分裂病の成因が解明されれば病態の把握が正確になり、治療と発病予防に飛躍的な進歩をもたらすと考えられる。そこでこの成因を明らかにするために、1) 素因を反映する指標：高い感受性・特異性をもつ反応的探索スコア(探索眼球運動)、2) 環境因を表す指標：胎生中期ウイルス感染の指標(血清抗体、ゲノム中のRNA)及び胎生期の虚血・栄養障害および産科合併症と関連する指標(出生児体重、指紋、微小奇形)、3) これらの因子が影響した結果を表す指標：脳の形態変化(MRIによる volume、neural tract)を用い、種々の分裂病(若年発症分裂病・遅発分裂病、家族性分裂病・孤発分裂病)及び一卵性双生児不一致例を対象にして研究を進め、各指標による素因、環境因の抽出力を判定・評価する。そして、有効な指標を組み合わせて分裂病の成因的異質性を明らかにし、さらに素因マーカーである反応的探索スコアを指標とした分裂病の連鎖解析を行い関連遺伝子を同定し遺伝的異質性を解明することを目的とする。

B. 研究方法

1. 一卵性双生児を用いた分裂病の成因的異質性に関する研究

- 1) 探索眼球運動を用いた研究(松島、小島)
分裂病の一卵性双生児一致群 7 組 14 例、不一致群 11 組 22 名、健常群 7 組 14 名を対象に注視点の運動数、反応的探索スコア(RSS)を測定した。さらに、出産時障害なども併せて調べた。
- 2) 拡散強調脳画像(MRI-DI)による神経繊維走行の検討(岡崎)
一卵性健常双生児 2 組、分裂病不-

致・一致各 2 組、男性分裂病患者 3 名、健常男性 3 名を対象とした。MRI-DI から各 ROI の拡散異方性(ADC)の上下左右、前後の相対値を算出し、拡散異方性パターンを比較した。

2. 各種分裂病を用いた病態生理学的異質性に関する研究(倉知)

健常者 26 例、分裂病患者 26 例の脳を高解像度三次元 MRI を用いて測定した。

3. 分裂病の素因マーカーとしての反応的探索スコア(RSS)の検討(小島、松島)

1) 分裂病の多発家系

分裂病患者のの第一度親族に患者が 1 人いる群 24 名、2 人以上いる群 16 名の RSS を調べた。

2) 分裂病患者の同胞

分裂病患者 13 名、分裂病の健常同胞 15 名、健常者 54 名の RSS を調べた。

3) 1 度の親族に分裂病がいる気分障害患者

1 度の親族に分裂病がいる気分障害患者 8 名、家族歴のない気分障害患者 15 名、分裂病患者 39 名、健常者 42 名の RSS を比較した。

4. 分裂病の遺伝的異質性の研究

1) 探索眼球運動(反応的探索スコア)をマーカーにした分裂病の連鎖解析(有波、小島)

現時点において、最終的に必要な患者と同胞の組数(100 組)の 40% に対し探索眼球運動検査と採血が施行できた。

2) 一卵性双生児分裂病不一致例のゲノムの差異に関する研究(岡崎)

要求血液量が少なく済む

RLGS(restriction landmark genome scanning)修正法の開発に取り組み、現在は本修正法によって RLGS パターンを得る段階にいたった。

3) 分裂病のゲノム遺伝子の多様性に関する研究 (有波)

分裂病患者の DNA を解析し、候補遺伝子の変異検索を行った。検出された変異について分裂病との関連の有無を明らかにした。関連があったものには細胞実験も行った。

C. 研究結果

1. 一卵性双生児を用いた分裂病の成因的異質性に関する研究

1) 探索眼球運動を用いた研究 (松島、小島)

RSS について、3 群合わせた一卵性双生児同士の関係を見ると $r=0.832$ の相関が得られた。3 群の RSS は分裂病一致群が最も低値で、分裂病不一致群、健常群の順に並び 3 群間で有意差が見られた。出産時障害は不一致群の分裂病発症群に多い傾向が見られた。一致群と不一致群では分裂病の異質性が考えられる。

2) 拡散強調脳画像 (MRI-DI) による神経繊維走行の検討 (岡崎)

血縁のない他人同士の ADC パターンは全く似ていなかったが、一卵性双生児健常例では極めて一致し、分裂病不一致例では一致せず、とくに左側頭葉後部で顕著であった。分裂病一致例では左右前頭葉での不一致が目立った。分裂病一致例と不一致例では異質性が考えられた。

1)、2) より、分裂病一卵性双生児の一致

例と不一致例で分裂病の脆弱性素因 (RSS) および神経繊維走行の面からも異質的であるという新しい結果が得られた。

2. 各種分裂病を用いた病態生理学的異質性に関する研究 (倉知)

男子患者は健常者群に比べて左側脳室全体、左下角と左右の前角が有意に拡大していたが、女子患者では有意差が見られなかった。また、脳灰白質の差異を statistical parametric mapping で比較したところ、男子分裂病患者群では健常者群に比べて左の上側頭回領域の体積が減少していた。今回の結果から、形態学的に見た分裂病の異質性の手がかりが得られた。

3. 分裂病の素因マーカーとしての反応的探索スコア (RSS) の検討 (小島、松島)

1) 分裂病の多発家系

患者が 2 人以上いる群の RSS が 1 人いる群のそれよりも有意に低値であった。遺伝負因の強い分裂病患者の RSS は弱い患者のそれよりも低い値を示した。

2) 分裂病患者の同胞

分裂病患者 (7.2 ± 1.8) とその同胞 (8.0 ± 2.0) の RSS は健常者 (10.4 ± 1.9) に比べて有意に低値を示した ($P < 0.01$)。分裂病患者と同胞の間に有意差はなかった。

3) 1 度の親族に分裂病がある気分障害患者

分裂病の家族歴のある気分障害患者の RSS (8.0 ± 1.9) は、家族歴のない気分障害患者 (10.4 ± 1.6) と健常者 (10.4 ± 1.9) に比べて有意に低く、分裂病患者 (7.4 ± 1.5) との間に有意差がなかった。

以上の結果は RSS が分裂病の遺伝要因と

関連性があることを示唆し、一卵性双生児の結果を支持するものであった。

4. 分裂病の遺伝的異質性の研究

- 1) 探索眼球運動(反応的探索スコア:RSS)をマーカーにした分裂病の連鎖解析(有波、小島)

すでに全例に対するDNAの抽出は終了している。現在は、RSSと連鎖する染色体領域を検索するため、全染色体領域を網羅した400のDNAマーカーを用いたゲノムスキャンを進めている。

- 2) 一卵性双生児分裂病不一致例のゲノムの差異に関する研究(岡崎)

現時点では、開発が完了したRLGS修正法によってRLGSパターンを得る段階にはいることができた。

- 3) 分裂病のゲノム遺伝子の多様性に関する研究(有波)

ドーパミンD4受容体遺伝子(DRD4)のプロモーター領域において、多型-521C>Tを検出した。その多型によりDRD4の転写活性に差異を生ずる可能性があることを細胞実験で明らかにした。この転写活性の高い-521C対立遺伝子は分裂病患者に有意に多かった。シグマ1型受容体遺伝子領域において、Gln2Pro多型を検出した。このPro2対立遺伝子は分裂病群に有意に多く存在した。分裂病の連鎖領域である第22染色体長腕領域に存在するZNF74遺伝子領域において、861C>T、LysLeu331-332AspPhe多型を検出した。これらの多型と分裂病とは関連していなかったが、発症年齢が関連して

いた。

D. 考察

探索眼球運動の中の反応的探索スコア(RSS)と注視点の運動数によって分裂病を種々の非分裂病から約75%の感受性と約81%の特異性で判別しており、この判別率は他の精神生理学的指標よりも一段と高い値を示している。とくにRSSは人種や文化の影響を受けない安定した指標であることが分かっている。一卵性双生児の結果、および分裂病患者の健常同胞、多発家系の分裂病、1度の親族に分裂病をもつ気分障害患者のRSSの低値はRSSが遺伝的要因を反映している可能性を強く示唆している。したがって、同時並行して進んでいるRSSを指標にした分裂病の連鎖解析の結果に期待がもたれる。現在、必要な症例および同胞の約40%が収集されている。

拡散強調脳画像(MRI-DI)による神経繊維走行の検討では、拡散異方性パターンが分裂病不一致例では一致せず、とくに左側頭葉後部で顕著であった。分裂病一致例では左右前頭葉での不一致が目立った。このことは不一致例では側頭葉回路網障害が、一致群では前頭葉回路網障害が主となり両群で差異があることを示している。また、この結果は、分裂病一卵性双生児のRSSにおいて一致群で最も低値で、不一致群との間に有意差があったという結果と同じ方向を示し、分裂病の一卵性双生児の一致群と不一致群の異質性を示唆するものといえよう。またMRIを用いた分裂病の脳の形態学的研究においても、左上側頭回領域の体積減少、左右の前角の拡大がみられMRI-DIの結果と矛盾するものではなかった。一卵性双生児(MZ)分裂病不一致例のゲノムの差異に関する研究ではMZ分裂病不一致例のゲノムにNot1

サイトの違いが見られ、これを惹起した原因としては、制限酵素 Not1 の塩基配列を変えるメチル化か、Not1 サイトの新生/消失が epigenetic に生じたためと考えられる。一卵性双生児の片方が分裂病を免れる機構がわかれば将来分裂病の発症予防にもつながる可能性がある。分裂病のゲノム遺伝子の多様性に関する研究ではこれまで分裂病脳では D4 受容体の発現量が多いことがわかっているが、ゲノムレベルで D4 受容体遺伝子発現量が多い傾向があることがわかり、これが分裂病の素因の一つになっている可能性が示唆された。NF74 遺伝子は胎生期に脳でのみ発現している遺伝子であり、分裂病の発達障害仮説から興味深い遺伝子である。発症年齢と関連していることがわかり、ゲノム遺伝子の多型が病因的のみならず、症候学的異種性にも関わっていることが示唆された。

E. 結論

- 1) 分裂病の一卵性双生児の研究では、分裂病一致群と不一致群の分裂病の異質性が探索眼球運動の反応的探索スコアの面からも拡散強調脳画像 (MRI-DI) による神経繊維走行の面からも示唆された。
- 2) 分裂病患者の脳に関する形態学的異質性については、左上側頭回領域の体積減少という脳灰白質の異常と両側前角、左下角の拡大という脳室系の異常が抽出された。
- 3) 探索眼球運動の反応的探索スコアは、分裂病の素因マーカーとして遺伝的な要因と関連している可能性が示唆された。
- 4) 反応的探索スコアを指標にした分裂病の連鎖解析の研究では、現在、目標の約 40% の症例収集が進んでいる。

- 5) 一卵性双生児 (MZ) 分裂病不一致例のゲノムの差異に関する研究では、解析技術の改良が行われ次なる研究の発展が期待された。
- 6) 分裂病のゲノム遺伝子の多様性に関する研究では、ドーパミン D4 受容体遺伝子、シグマ 1 型受容体遺伝子、ZNF74 遺伝子が精神分裂病と関連している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文

Matsukawa Y., Son K., Nishinarita S., Horie T., Tanabe E., Takahashi .S., Tanabe Y., Matsuura M., Kojima T.: Analysis of exploratory eye movement in a patients with lupus psychosis. *Clinical Rheumatology* 17:383-386,1998

Matsushima E., Kojima T., Ohbayashi S., Ando H., Ando K., Shimazono Y.: Exploratory eye movements dysfunction in patients with schizophrenia; Possibility as a discriminator for schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research* 32: 289-295,1998

松島英介、小島卓也：精神分裂病の精神生理学的研究 *臨床精神医学* 27 (5) : 543—552、1998

小島卓也：精神疾患における認知障害の重要性—精神分裂病を中心に—「精神疾患の認知障害」編集 丹羽真一 *精神医学レビュー* No 27 1998.8

小島卓也：精神生理、「臨床精神医学講座 精神分裂病 I」総編集：松下清明 pp 201-218、中山書店、東京、1999

倉知正佳：分裂病の発病モデルと認知障害。In: *精神医学レビュー*, No.27, 精神分裂病の認知障害 (丹羽真一編), pp.36-46, ライフ・サイエンス、東京、1998.

Sumiyoshi, T., Yotsutsuji, T., Kurachi, M. et al.:

- Effect of mental stress on plasma homovanillic acid in healthy human subject. *Neuropsychopharmacology*, 19: 70-73, 1998.
- Sumiyoshi, T., Saitoh, O., Yotsutsuji, T. et al.: Differential effects of mental stress on plasma homovanillic acid in schizophrenic and normal controls. *Neuropsychopharmacology*, 20:365-369,1999.
- Tsujita T., Niikawa N., Yamashita H. et al.: Genomic discordance between monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 155: 422-424, 1998
- Imamura A., Honda S., Nakane Y. et al: Anticipation in Japanese families with schizophrenia. *J. Hum. Genet.* 43: 217-223, 1998
- 茅島智彦, 今村 明, 辻田高宏他: 精神分裂病双生児のゲノム解析. *精神医学レビュー*No.28 精神疾患と遺伝(米田 博編), pp.35-41, ライフ・サイエンス, 東京, 1998
- 今村 明, 茅島智彦, 辻田高宏他: 精神分裂病の成因における遺伝的側面. *精神医学レビュー* No.28 精神疾患と遺伝(米田 博編), pp.50-59, ライフ・サイエンス, 東京, 1998
- 岡崎祐士: 精神分裂病の脳科学. *臨床科学* 34: 1402-1413, 1998
- 辻田高宏, 岡崎祐士: 遺伝研究. *臨床精神医学講座* 2. 精神分裂病 I (中根允文, 小山 司, 丹羽 真一他編), pp.75-95, 中山書店, 東京, 1999
- 岡崎祐士: 脳発達からみたストレス脆弱性—精神分裂病について—. *臨床精神医学* 28: 255-262, 1999
- Ishiguro H, Ohtsuki T, Toru M, Itokawa M, Aoki J, Shibuya H, Kurumaji A, Okubo Y, Iwawaki A, Ota K, Shimizu H, Hamaguchi H, Arinami T. Association between polymorphisms in the type 1 sigma receptor gene and schizophrenia. *Neuroscience letters* 257: 45-48, 1998
- Odawara M, Arinami T, Tachi Y, Hamaguchi H, Toru M, Yamashita K. Absence of association between 3243 base pair mutation of the mitochondrial DNA and schizophrenia. *Human Genetics* 102: 708-709, 1998
- Hayakawa T, Toru M, Hamaguchi H, Arinami T. Systematic search for mutations in the 14-3-3 h chain gene on chromosome 22 in schizophrenics. *Psychiatric Genetics* 8: 33-36, 1998
- Arinami T, Otsuka Y, Hamaguchi H, Itokawa M, Aoki J, Shibuya H, Okubo Y, Iwawaki A, Ota K, Enguchi H, Tagaya H, Yano S, Shimizu H, Toru M. Evidence supporting an association between the DRB1 gene and schizophrenia in Japanese. *Schizophrenia Research* 32: 81-86, 1998
- Ishiguro H, Arinami T, Saito T, Akazawa S, Enomoto M, Mitushio H, Fujishiro H, Tada K, Akimoto Y, Mifune H, Shiozuka S, Hamaguchi H, Toru M, Shibuya H. Systematic Search For Variations in the Tyrosine Hydroxylase Gene and Their Associations With Schizophrenia, Affective Disorders, and Alcoholism. *American Journal of Medical Genetics* 81: 388-396, 1998

厚生科学研究費補助金(脳科学研究事業)

分担研究報告書

精神分裂病の病態生理学的異質性に関する研究

分担研究者 倉知正佳 富山医科薬科大学 医学部 精神神経医学講座 教授

研究要旨：1. 精神分裂病患者の脳室系の測定：健常者 26 例と分裂病患者 26 例について、高解像度三次元 MRI を用いて、側脳室の下位区画の体積を男女別に計測した。その結果、男子患者では、健常者群に比べて、左の側脳室全体、左の下角と左右の前角が有意に拡大していたが、女子患者では、有意な変化はみられなかった。2. 脳実質の変化。脳灰白質の差異を statistical parametric mapping (SPM96) で比較した結果、分裂病患者群 (15 例、男) では、健常者群 (18 例、男) に比べて、左の上側頭回領域の体積が減少していた。3. ストレスによる血漿ホモバニリン酸濃度の変化：クレペリン精神作業検査施行前後の血漿中のホモバニリン酸濃度を測定した結果、健常者群 (14 例) では、精神作業検査により、血漿ホモバニリン酸濃度は減少したのに対して、分裂病患者群 (14 例) では、その低下が認められなかった。

A. 研究目的

精神分裂病における形態学的変化には、男女差のあることが指摘されている。病態生理学的異質性という観点からは、男女差の問題も重要と思われる。そこで、高解像度三次元磁気共鳴画像 (3-D MRI) を用いた側脳室の測定法を開発し、分裂病患者と健常者との値を男女別に検討した。つぎに脳実質の変化について、statistical parametric mapping (SPM96) 法を用いて、分裂病患者の脳の灰白質のどの領域に変化があるかを検討した。さらに、分裂病患者におけるストレスによるドーパミン代謝の変化を測定するために、クレペリン精神作業検査施行前後の血漿中のホモバニリン酸 (homovanillic acid, HVA) 濃度を測定し、健常者群と分裂病患者群とを比較した。

B. 研究方法

1. 精神分裂病患者の脳室系の測定

対象は、説明と同意を得た健常者 26 例 (男 14、女 12) と分裂病患者 26 例 (男 15、女 11) の合

計 52 例であった。健常者の平均年齢 (S.D.) は、男 26.5 (6.1) 歳、女 28.5 (7.4) 歳、分裂病患者は、男 27.4 (5.4) 歳、女 29.2 (7.5) 歳で、平均年齢と身長には有意差はなかったが、教育年数には有意差があった。患者群は、1 例を除いては、服薬中であった。

撮像方法は、1.5T の Siemens 社の MRI スキャナを用いて、3D-FLASH 法で、1mm スライス of 矢状断で全脳の撮像を行い、1mm 単位の voxel からなる高解像度の MR 画像を得た。TR=24msec、TE=5msec、およびフリップ角=40° とした。解析は、workstation (SUN, SPARC20) 上で、on-line 転送で得た画像データに基づいて、画像解析ソフト "ANALYZE"(Ver.7.5) を用いて行った。撮像時の頭位の傾きを大脳縦裂と前交連-後交連線 (AC-PC line) を基準に補正し、全脳データを再構成した。1mm の冠状断スライスで、1 枚ごとに側脳室と全脳実質を半自動的に測定した。側脳室の体積については、その絶対値と脳実質に対する

相対値（脳室一脳比、VBR）を算出した。

統計学的検定には、絶対値については、身長と年齢を共変量とし、VBR については、年齢を共変量として、MANCOVA あるいは ANCOVA を行い、その後、Scheffe の検定を行った。

2. Statistical parametric mapping による脳実質の変化

対象は、15 例の分裂病患者（男）と 18 例の健常対照群（男）で、平均年齢は、それぞれ 27.6（5.1）歳と 26.4（5.6）歳であった。MRI の撮像方法は、前述と同じで、健常者と患者群の脳灰白質の差異を statistical parametric mapping（SPM96）で比較した。ここでは、 $p < 0.001$ を有意とした。

3. ストレスによる血漿 HVA 濃度の変化

対象は、説明と同意の得られた健常者 14 例と分裂病患者 14 例で、平均年齢は、それぞれ 28.0（1.0）歳と 28.5（2.5）歳であった。患者の中で、7 例は未服薬で、7 例は抗精神病薬服薬中であった。

方法は、まず、被検者は、前日の夕食後は、飲食をしないようにして、翌日の午前中にクレペリン精神作業検査を施行し、その前と後に採血を行い、血漿中の HVA 濃度を、高速液体クロマトグラフで測定した。

C. 研究結果

1. 精神分裂病患者の脳室系

男子患者では、健常者群に比べて、左の側脳室、左の下角（健常群に対する百分率、166.3%）、および左右の前角（左 135.9%、右 134.9%）が有意に拡大しているが、女子の患者では、健常対照群との差は、有意ではなかった。

2. 脳実質の変化

分裂病患者群の脳の灰白質には、健常者群に比べて、左半球の上側頭回中央部からやや下方と上方に広がる領域に体積の減少が見い出された。他の大脳皮質領域や皮質下諸核の灰白質には、有意な差は認められなかった。

3. ストレスによる血漿 HVA 濃度の変化

健常者群では、クレペリン精神作業検査により、血漿 HVA 濃度は有意に低下したのに対して、分裂病患者群では、その低下が認められなかった。これは、未服薬群でも服薬群でも同様であった。

D. 考察

1. 精神分裂病患者の脳画像解析

これまで磁気共鳴画像（MRI）を用いて、側脳室全体の体積の男女差を検討した報告はあるが（Nopoulos ら, 1997）、その下位区画を男女別に検討した研究は、われわれの知るかぎり、まだ報告されていないようである。測定精度が高いことも本研究の特徴である。その結果、明らかな男女差が認められた。

2. Statistical parametric mapping による脳実質の変化

これまでの MRI 研究でも、分裂病患者における左上側頭回の体積減少が報告されているが、それらは、関心領域法によるものであった。本研究により、SPM を用いても左上側頭回の体積の減少が確認され、また、この方法では健常者と分裂病患者との脳の灰白質の体積のもっとも大きな相違は、左上側頭回にあることが示唆された。今後、女子の患者や臨床的指標との関連についても検討していく予定である。

3. ストレスによる血漿 HVA 濃度の変化

本研究は、ヒトで、精神作業による血漿 HVA 濃度の変化を、経時的に測定した最初の報告と思

われる。Friedhoff ら (1995) が提唱している DA-dependent restitutive system 仮説によれば、DA 系の生理学的機能の 1 つは、ストレスを緩衝することであり、ストレスに対して、生体は皮質下諸核の DA 活動性を低下させることで対応する。ストレスに凌駕される患者では、この DA 依存性の保護システムに欠陥があり、神経遮断薬の補助がないと、DA 系の下方での調節ができないということである。本研究の結果は、一応、この Friedhoff らの仮説に合う所見であるが、今後さらに、検討する必要があると思われる。

E. 結論

高解像度三次元 MRI を用いた結果では、男子分裂病患者では、健常者群に比べて、左の側脳室全体、左の下角と左右の前角が有意に拡大していたが、女子患者では、有意な変化はみられなかった。脳灰白質について statistical parametric mapping (SPM96) 法で検討した結果では、分裂病患者群では、健常者群に比べて、左の上側頭回領域の体積が減少していた。クレペリン精神作業検査施行前後の血漿中 HVA 濃度を測定した結果、健常者群では、精神作業検査により、血漿 HVA 濃度は減少したのに対して、分裂病患者群では、その低下が認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 倉知正佳: 分裂病の発病モデルと認知障害. In: 精神医学レビュー, No.27, 精神分裂病の認知障害 (丹羽真一編), pp.36-46, ライフ・サイエンス, 東京, 1998.

2) Sumiyoshi, T., Yotsutsuji, T., Kurachi, M. et al.: Effect of mental stress on plasma homovanillic acid in healthy human subject. *Neuropsychopharmacology*,

19: 70-73, 1998.

3) Sumiyoshi, T., Saitoh, O., Yotsutsuji, T. et al.: Differential effects of mental stress on plasma homovanillic acid in schizophrenic and normal controls. *Neuropsychopharmacology*, 20:365-369, 1999.

2. 学会発表

1) 四衛 崇、斎藤 治、萩野宏文、森光一、鈴木道雄、黒川賢造、倉知正佳、瀬戸光: 高解像度 3-D MRI を用いた精神分裂病患者における側脳室の定量的検討. 第 21 回日本生物学的精神医学会. 1999.4.22 (仙台)

2) 野原 茂、鈴木道雄、萩野宏文、四衛 崇、黒川賢造、森光一、殿谷康博、倉知正佳、斎藤 治、瀬戸光: 精神分裂病患者の MRI における脳灰白質体積—SPM 96 による検討—第 21 回日本生物学的精神医学会. 1999.4.22 (仙台)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

一卵性双生児を用いた精神分裂病の成因的異質性に関する研究

分担研究者 岡崎祐士 三重大学 医学部 精神神経科学教室 教授

研究要旨：分裂病の病態と成因の異質性を、双生児法を主とする遺伝医学的方法により検討した。方法は①MRI 拡散強調脳画像（MRI_DI）の一卵性双生児（MZ）分裂病不一致例への適用、②双生児法と患者・対照法によるウイルス感染説の検討、③MZ 分裂病不一致例のゲノム差異の発見とクローニング、④分裂病罹患への遺伝子変異の関与に対する表現促進及び罹患同胞対家系による連鎖と関連研究からの検討、である。MRI_DI において MZ 分裂病不一致例では拡散異方性パターン（ADC）が不一致（とくに左側頭葉後部）であった。また、分裂病一致例では前頭葉の ADC 消失傾向が著明で、両者が異質である可能性が示唆された。本結果は第 8 回国際精神科疫学会、台北、1999 年 2 月 6-9 日で発表した（Matsuo K ら）ところ、学会賞を受賞した。分裂病と対照者間にウイルス感染陽性率の差はなかった。MZ 分裂病不一致例のゲノムに 2 個以上の *NotI* サイトの違いを発見した（Tsujiita ら、1998）。これは、Epigenetic に生じたメチル化の違いによる可能性が最も高い。現在クローニング中であるが、restriction landmark genome scanning（RLGS）原法は、スポットに含まれる DNA 量が微量で PCR への導入が困難であるので、クローニングを容易にするための改良版を案出した。現在この方法で RLGS スポットが展開できるようになった。3 施設（長崎大学、佐賀医科大学、三重大学）による罹患同胞対法による連鎖・関連研究を行っている。家系集積は現在健常対照の CA リピートマーカーの多型分布を検討中であり、患者・第一度親族の DNA 標本の収集を開始した。全国的連鎖研究組織とも協力して、分裂病の異質性の検討に必須の、分裂病感受性遺伝子座位の解明を行う予定である。

A. 研究目的

分裂病の代表的病態仮説は、神経伝達異常仮説と神経回路網障害仮説である。また 成因仮説としては、今日、環境因との相互作用を前提とした遺伝説と神経発達仮説が有力である。本分担研究で解明しようとするのは、次の諸点である。①1976 年の Johnstone らの CT スキャン以来の脳画像の volumetric study によって確立された分裂病患者の脳構造異常と最近のわが国の Okubo ら（1997）によって確かな事実が積み重ねられた神経伝達異常仮説とを統合した神経回路網障害説の証拠を、神経走行の乱れが一卵性双生児の健常者と比べて罹患者に特異的に認められることを、MRI による diffusion imaging によって明らかにする。②分裂病患者の脳構造異常の成因的関連が推定されている胎生中期 RNA ウィルス（Borna 病ウィルス、ペステイウィルス）感染の指標（血清

抗体、ゲノム中の RNA）、及び虚血・栄養障害・産科合併症を惹起する双生児輸血症候群の指標（出生児体重、指紋、微小奇形）の差異と表現型（診断と diffusion imaging による脳の神経走行）の差異との関連を検討する。③さらに、一卵性双生児分裂病不一致例のゲノムの差異の検出（differential cloning）とその差異の分子遺伝学的解析によって、その差異が神経発達や表現型の差異と関連しているか否かを検討する。さらに、④遺伝子変異自体の分裂病罹患への関与を検討するために、罹患同胞対法による遺伝子連鎖・家族内コントロールによる関連研究の準備を行った。

B. 研究方法

以下の 5 課題を、倫理委員会の承認を得た文書による被検者の同意を得て、実施した。

1. 拡散強調脳画像による神経線維走行の検討

一卵性健常双生児2組、分裂病不一致・一致各2組、他に男性分裂病患者3人、健常男性3人について、GE社製 Horizon 1.5T MR装置を用い one shot EPI法による矢状断及び OM line に水平な軸位断の MRI_DI (ROI は左右側頭葉後部と前頭葉深部白質、脳梁膝部、体部) と $^3\text{H}_\text{MRS}$ (ROI は約 15mm 四方の左右前頭葉深部白質、single voxel で PRESS 法により NAA/Cr、Cho/Cr 等計測) を測定した。

2. ボルナ病ウイルスとペスティウイルス感染の検討

長崎県出生の一卵性双生児の分裂病不一致例3組、一致例1組、健常例3組、二卵性健常例1組を含む分裂病患者24人と健常成人45人について、RT-PCR法で両ウイルスのゲノム RNA を検出し、ボルナ病ウイルスについては抗ウイルス抗体の検出をウェスタンブロット法により行った。

その他の胎生期情報の比較は、2年度以降に予定している。

3. 一卵性双生児分裂病不一致例のゲノム差異

Not I を標識制限酵素とする RLGS (restriction landmark genome scanning) により、44歳男子一卵性双生児分裂病不一致例 (罹患者の発症: 30歳、鑑別不能型) で少なくとも2個の RLGS スポットの差異を見出した (Tsujiita ら, 1998) が、RLGS 原法のプロトコールに依りスポットから DNA フラグメントをクローニングするには多量の血液を要し、スポット中の DNA が微量量の上に PCR に不適切な末端構造のためにクローニングが困難である。そこで、初年度は、PCR過程を組み込み、かつ要求血液量が少なくて済む RLGS 修正法の開発に力を注いだ。現在修正法で RLGS パターンを得る段階に至った。

4. 遺伝子連鎖・関連共同研究 (JSSLG)

発端者を DSM-IV による精神分裂病とする罹患同胞対 (完全、不完全) 家系集積を長崎大学、佐賀医科大学、三重大学の共同で開始した。遺伝子マーカーとしては CA リピートマーカーを用いる予定で、約 5,000 個のジェネトンヒト遺伝連鎖マップの中から日本人標本において多型性に富み、平均 15cM 間隔に分布する 311 種を選択した。なお完全家系が集積されると、従来の方法の欠点を克服した内部コン

トロールを用いるハプロタイプ相対危険率テスト haplotype relative risk test (HRR) (関連) や伝達不平衡テスト transmission disequilibrium test (TDT) (関連と連鎖) が可能となるので、併せて実施する予定である。

C. 研究結果

1. MRI_DI から、各 ROI の拡散異方性 (ADC) の上下、左右、前後の相対値を算出し、その値と3方向の ADC 値の相互関係によって表現される拡散異方性パターンを比較した。脳梁では左右に極めて強い拡散異方性を示したが、脳梁形成異常部位ではそのような拡散異方性が消失しており、MRI_DI による線維走行や軸索流画像 axonography の妥当性が確認された。そして血縁のない他人同士の ADC パターンは全く似ていなかったが、一卵性双生児健常例では ADC パターンは極めて一致し、分裂病不一致例では不一致で、とくに左側頭葉後部で顕著であった。分裂病一致例では左右前頭葉での不一致が目立った。

2. ウイルス感染の検討

ボルナ病ウイルス RNA は健常対照者 4.4%、分裂病患者 4.2% で差がなかった。抗ボルナ病ウイルス抗体検査では陽性例はなかった。ペスティウイルス RNA は健常対照者 1人 (2.2%) のみの検出に止まった。これら陽性者はすべて非双生児であり、一卵性双生児分裂病不一致例の罹患者と非罹患者間に差はなかった。

3. 一卵性双生児分裂病不一致例のゲノム差異

一卵性双生児分裂病不一致例のゲノムにおいて差異が認められた少なくとも2個の RLGS スポット (*NotI* サイト) の DNA フラグメントのクローニングは上述のように RLGS 原法の問題点のために技術的にクリアしなければならない困難がある。このクローニングの困難を解決するために、PCR過程を組み込んだ RLGS 修正法を案出した。*NotI* RLGS スポットを展開するために今回用いた第2、第3制限酵素は、*EcoRV* と *Hinfi* である。現在までのところ、修正法によって RLGS スポットが描出できる段階に達した。RLGS 原法で展開不可能であったゲノム部位も展開できるので、今後のゲノム差異の発見やク

ローニングは技術的に効率化と思われる。

4. 遺伝子連鎖・関連研究

初年度は、家系の集積と共に、長崎・佐賀地区と三重県における CA マーカーの多型分布の検討を開始した。現在までに、健常対照、患者を併せて 130 人のサンプルを収集した。平成 11 年度中には、第 1 次ゲノムスキャンを実施する予定である。

D. 考察

初年度であり、対象数も限られているので、このデータのみで結論的な考察はできない。しかし、分裂病の異種性について検討できる情報も一部集まった。

まず、MRI 拡散強調画像の拡散異方性に示される病態の異種性、つまり一卵性双生児 (MZ) 分裂病不一致例において差が強く認められた側頭葉回路網障害を主とするものと MZ 分裂病一致例の両者に強く認められた前頭葉回路網障害を主とするもの、少なくとも 2 つのタイプ、の存在が想定される。MZ 分裂病一致例は不一致例よりも重症であった。重症度に対応するのか、別の要因が考えられるのか、今後の検討が必要である。結果には示さなかったが、双生児以外の比較的重症な分裂病患者 2 人に共通して認められたのは、両側前頭葉における拡散異方性パターンの消失傾向であり、健常対照者では前頭葉における拡散異方性パターンは明瞭であった。この軽症例も含む MRI_DI 所見は、分裂病の神経回路網障害仮説を検討する有力な方法と思われる。

このような病態の異種性を直接・間接にもたらす成因候補の 1 つとしてのウイルス感染の関与は、本研究の結果は今のところ否定的であるが、なお対象を追加して検討する価値がある。

MZ 分裂病不一致例のゲノムに *NotI* サイトの違いを惹起した原因としては、制限酵素 *NotI* の塩基配列認識を変えるメチル化か、*NotI* サイトの新生/消失が epigenetic に生じたためと考えられる。メチル化は X 染色体不活化が生じるとされる授精 12 日目頃までにランダムに生じる可能性がある。後者の *NotI* サイトの新生か消失は、ミスセンス変異や微小染色体構造異常によって生じる可能性がある。分担

研究者らは、後者の可能性よりも前者の可能性が高いと考えている。結論はクローニングの結果を待つほかはない。また、原法はゲノムの 3% 強の *NotI* サイトしか展開できなかったのも、新しく開発した RLGS 改良法でさらにゲノムの広い範囲を検索する予定である。それによって一卵性双生児の片方が分裂病罹患を免れる分子遺伝学的機構が見いだせるならば、将来における分裂病予防に有用な情報をもたらされるかも知れない。

罹患同胞対家系による遺伝子変異の検索は、日本人の相対的均質性が有利に働くと予想されているので、国際的に混迷している連鎖・関連研究に有益な情報をもたらす可能性がある。1 次ゲノムスキャンによって連鎖を除外できない染色体部位が、欧米の既報のように複数見出される可能性も高い。日本人における分裂病関連遺伝子候補座位の情報は、異質性の検討に当たっても極めて重要である。この分野は、全国的な共同研究が必要である。

E. 結論

初年度の研究経過としては、順調に進んだ。拡散強調脳画像による知見のように国際学会賞を受賞するなど、新しい発見も含んだ結果であった。他の分野は、技術的な準備であったり、否定的な結果もあったが、次年度に対象を拡大して実施する事によって、さらに新しい知見を得られる可能性が高い。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsujita T., Niikawa N., Yamashita H. et al.: Genomic discordance between monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 155: 422-424, 1998

Imamura A., Honda S., Nakane Y. et al: Anticipation in Japanese families with schizophrenia. *J. Hum. Genet.* 43: 217-223, 1998

茅島智彦, 今村 明, 辻田高宏他: 精神分裂病双生児のゲノム解析. 精神医学レビュー No.28 精神疾患と遺伝 (米田 博編), pp.35-41, ライフ・サイエンス, 東京, 1998

今村 明, 茅島智彦, 辻田高宏他: 精神分裂病の成因における遺伝的側面. 精神医学レビュー No.28 精

神疾患と遺伝 (米田 博編) , pp.50-59, ライフ・サイエンス, 東京, 1998

岡崎祐士: 精神分裂病の脳科学. 臨床科学 34: 1402-1413, 1998

辻田高宏, 岡崎祐士: 遺伝研究. 臨床精神医学講座 2. 精神分裂病 I (中根允文, 小山 司, 丹羽真一他編) , pp.75-95, 中山書店, 東京, 1999

岡崎祐士: 脳発達からみたストレス脆弱性—精神分裂病について—. 臨床精神医学 28: 255-262, 1999

2.学会発表

川瀬健一郎, 今村 明, 浜田 旭他: 一卵性双生児精神分裂病発症不一致例における環境因子としてのウイルス感染の影響に関する検討. 第94回日本精神神経学会、那覇市, 1998年5月20-22日

松尾勝久, 浜田 旭, 松本俊二他: 一卵性双生児不一致例の diffusion imaging と MRS. 第94回日本精神神経学会、那覇市, 1998年5月20-22日

Matsuo K., Morikawa M., Okazaki Y.: Diffusion imaging and MRS between monozygotic twins discordant for schizophrenia. 9th International Congress on Twin Studies. Helsinki, June 4-6, 1998

Matsuo K., Tsujita T., Morikawa M. et al.: Diffusion imaging between monozygotic twins discordant for schizophrenia. VIII Congress of the International Federation of Psychiatric Epidemiology, Taipei, March 6-9, 1999

厚生科学研究費補助金(脳科学研究事業)

分担研究報告書

探索眼球運動を用いた精神分裂病の連鎖解析に関する研究

分担研究者 有波忠雄 筑波大学 基礎医学系 遺伝医学部門 助教授

研究要旨：精神分裂病の異種性に関わっている可能性のある遺伝子多型を検出する目的で、ドーパミン D4 受容体遺伝子、シグマ I 型受容体遺伝子、ZNF74 遺伝子の変異解析を行った。その結果、多型を検出し、D4 受容体遺伝子とシグマ受容体遺伝子多型は分裂病との関連を、また、ZNF74 遺伝子は分裂病の発症年齢と関連していることを見いだした。これらの新たに検出された遺伝子多型は分裂病の成因的異質性の一要因である可能性がある。

A. 研究目的

精神分裂病の病因的異種性にゲノム遺伝子の多様性に関わっていると推測される。本研究では、精神分裂病に関わっている遺伝子を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

精神分裂病患者の DNA を解析し、候補遺伝子の変異検索を行い、変異を検出した。検出された変異について、症例・対照研究を行い、関連の有無を明らかにした。関連が見られた場合、その生化学的意義を解明するために、細胞実験を行った。

C. 研究結果

患者を対象にドーパミン D4 受容体遺伝子 (DRD4) のプロモーター領域を解析し多型-521C>T を検出した。さらに、その多型により DRD4 の転写活性に差異を生ずる可能性があることを細胞実験で明らかにした。精神分裂病との関連を症例・対照研究で検討したところ、精神分裂病患者群に転写活性の高い-521C 対立遺伝子が有意に多かった。D4 受容体遺伝子の-521C>T 多型と D2 受容体遺伝子の-141C Ins/Del 多型とは分裂病に対して相加的に関連していることが明らかとなった。

シグマ I 型受容体遺伝子の全領域を患者を対象に変異検索を行い、Gln2Pro 多型を検出した。症例・対照研究により、Pro2 対立遺伝子が精神分裂病群に有意に多く存在した。

精神分裂病の連鎖領域である第 22 染色体長腕領域に存在する ZNF74 遺伝子の全領域を患者を対象に変異検索を行い、861C>T, LysLeu331-332AspPhe 多型を検出した。これらの多型と精神分裂病とは関連していなかったが、発症年齢が関連していた。発症年齢との関連は、日本の異なる 2 研究室の患者集団、および、北京の患者集団で確認された。

さらに、上記の遺伝子変異の検出にくわえ、探索眼球運動をマーカーとした連鎖解析も行っている。現時点において、最終的に必要な患者と同胞の数 (100 組) の 40% に対し探索眼球運動検査と採血が施行できた。すでに全例に対する DNA の抽出は終了している。現在は、探索眼球運動と連鎖した染色体上の候補領域を検索するため、全染色体領域を網羅した 400 の DNA マーカーを用いたゲノムスキャンを進めている。

D. 考察

これまで死後脳や PET 研究により分裂病脳で

はD4受容体の発現量が多いことが知られている。本研究で発見されたドーパミンD4受容体遺伝子のプロモーターの多型と分裂病との関連は、これと一致した所見で、ゲノムレベルでD4受容体遺伝子発現量が多い傾向があることが分裂病の素因の一つとなっていることが示唆された。シグマ受容体は抗精神病薬と親和性が高いことから精神分裂病と関わっていると推測されるが、その機序は不明である。よって、この研究で発見された多型の性状を明らかにすることにより精神分裂病の病因に関して新たな知見が得られる糸口となる可能性がある。NF74遺伝子は胎生期に脳でのみ発現している遺伝子であり、分裂病の発達障害仮説の観点から興味深い遺伝子である。本研究で発症年齢と関連していることが明らかになったが、ゲノム遺伝子の多型が病的のみならず、症候学的異質性にも関わっていることを示唆している。

E. 結論

患者DNAの分析により、ドーパミンD4受容体遺伝子、シグマ1型受容体遺伝子が精神分裂病と関連していることを明らかにした。また、ZNF74遺伝子は分裂病の発症年齢と関連していることを明らかにした。これらの遺伝子多型は、分裂病の成因的異質性の一要因である可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文

Ishiguro H, Ohtsuki T, Toru M, Itokawa M, Aoki J, Shibuya H, Kurumaji A, Okubo Y, Iwawaki A, Ota K, Shimizu H, Hamaguchi H, Arinami T. Association between polymorphisms in the type 1 sigma receptor gene and schizophrenia. *Neuroscience letters* 257:

45-48, 1998

Odawara M, Arinami T, Tachi Y, Hamaguchi H, Toru M, Yamashita K. Absence of association between 3243 base pair mutation of the mitochondrial DNA and schizophrenia. *Human Genetics* 102: 708-709, 1998

Hayakawa T, Toru M, Hamaguchi H, Arinami T. Systematic search for mutations in the 14-3-3 h chain gene on chromosome 22 in schizophrenics. *Psychiatric Genetics* 8: 33-36, 1998

Arinami T, Otsuka Y, Hamaguchi H, Itokawa M, Aoki J, Shibuya H, Okubo Y, Iwawaki A, Ota K, Enguchi H, Tagaya H, Yano S, Shimizu H, Toru M. Evidence supporting an association between the DRB1 gene and schizophrenia in Japanese. *Schizophrenia Research* 32: 81-86, 1998

Ishiguro H, Arinami T, Saito T, Akazawa S, Enomoto M, Mitushio H, Fujishiro H, Tada K, Akimoto Y, Mifune H, Shiozuka S, Hamaguchi H, Toru M, Shibuya H. Systematic Search For Variations in the Tyrosine Hydroxylase Gene and Their Associations With Schizophrenia, Affective Disorders, and Alcoholism. *American Journal of Medical Genetics* 81: 388-396, 1998

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

一卵性双生児を用いた精神分裂病の成因的異質性に関する研究

分担研究者 松島英介 東京医科歯科大学 神経精神医学教室 助手

研究要旨：探索眼球運動は精神分裂病の素因を強く反映した指標であることが確立され、また、分裂病の成因レベルでの異質性を考えるうえで大きな役割を果たすことがわかった。

A. 研究目的

これまで我々は、横S字型図形を呈示した際の探索眼球運動の偏り（とくに比較・照合課題時の反応的探索スコアの低値）について、精神分裂病に特異的で、しかも素因を反映する所見であることを報告してきた。今回は、この反応的探索スコアと素因との関係をさらに明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

(1) 一卵性双生児25組（分裂病の一致例7組、不一致例11組および健常対照例7組）および(2) 遺伝負因を持つ分裂病患者31名（第一度親族の中に患者が1人いる群18名、2人以上いる群13名）を対象とした。横S字型図形を呈示し、記銘課題および比較・照合課題をおこなった際の探索眼球運動をナック7型アイマーク・レコーダーを用いて記録し、分析した。

C. 研究結果

(1) の結果、反応的探索スコアは一卵性双生児同士で互いに強い相関（危険率0.01%、相関係数0.832）が認められた。また不一致例の反応的探索スコアは一致例のそれに比べると高かったが、健常対照例よりは低い値を示した（危険率1%以下）。一方(2) の結果、

遺伝負因の強い分裂病患者の反応的探索スコアは弱い患者のそれよりも低い値を示した（危険率5%以下）。

D. 考察

(1) の結果より、反応的探索スコアは遺伝要因を強く反映する指標であることが示唆されると同時に、一卵性双生児の分裂病患者でも不一致例は一致例とは異質である可能性が推定された。(2) の結果は反応的探索スコアが遺伝要因と強く結びついていることを裏付けるものである。

E. 結論

反応的探索スコアは精神分裂病の素因を強く反映した指標であることが確立され、探索眼球運動は今後分裂病の診断や病因の解明に利用できることがわかった。また、探索眼球運動は分裂病の成因レベルでの異質性を考えるうえでも、大きな役割を果たすことがわかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 松島英介、小島卓也：精神分裂病の精神生理学的研究。臨床精神医学 27(5): 543-552, 1998.

(2) 松島英介、太田克也：認知の生理学的評

価. 精神医学レビュー No.27 精神疾患の認知障害 (丹羽真一編), pp.85-96, ライフ・サイエンス, 東京(1998).

(3) Matsushima E, Kojima T, Ohta K, Obayashi S, Nakajima K, Kakuma T, Ando H, Ando K, Toru M: Exploratory eye movement dysfunctions in patients with schizophrenia: possibility as a discriminator for schizophrenia. *J Psychiat Res* 32: 289-295, 1998.