

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11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11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：本研究は以下の3つの項目からなっている。

1) 精神分裂病の素因マーカーとしての探索眼球運動の検討（小島、松島）

分裂病の多発家系の患者および家系に分裂病患者がいるうつ病患者についてそれぞれ反応的探索スコア（RSS）を測定し対照と比較した。その結果家系に分裂病患者が多いほど RSS が低値であり、一度の親族に分裂病患者がいるうつ病患者の RSS が分裂病がいないうつ病患者のそれと比較して有意に低値を示した。これまでの一卵性双生児、同胞、親の研究等と併せて RSS が分裂病の素因を反映することが明確になった。

2) 精神分裂病の形態学的異質性に関する研究（倉知、小島）

精神分裂病患者の脳体積の変化：精神分裂病患者と健常者について高解像度三次元 MRI と statistical parametric mapping (SPM) 96 を用いて両群間の脳体積を比較した。その結果、分裂病患者群では、中・下前頭回から上側頭回と辺縁系—傍辺縁系の脳灰白質体積、および両側の内包前脚から上後頭—前頭束にかけての白質体積が健常対照群に比べて有意に減少していた。またスライス冠状断で、前部帯状回の体積を関心領域法で測定した結果、女性の患者群で、右の帯状回灰白質の体積（全脳比）が有意に小さかった。

3) 分裂病の遺伝的異質性に関する研究（有波、小島）

a) 探索眼球運動を指標とした精神分裂病の病因遺伝子の研究では、これまでに日本人 37 家系の解析が終了し、第 5、第 22 染色体において連鎖を支持する結果を得られた。これらの領域は、以前、欧米で分裂病と連鎖を示唆する報告がされた領域であり、この領域に精神分裂病遺伝子が存在している可能性が高いことを示している。b) 精神分裂病の病因的異種性の分子遺伝学的背景を検索するために、ドーパミン D3 受容体、シナプシン 3、Fyn チロシンキナーゼ、NMDA 受容体 2B サブユニット、レチノイド X 受容体ベータ、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アルファ、核内受容体 NURR1 をコードしている遺伝子を検索し、検出された遺伝子多型と分裂病の臨床類型を検討した。このなかでドーパミン D3 受容体遺伝子多型と NMDA 受容体 2B サブユニットの遺伝子多型と精神分裂病が関連があることが示唆された。

分担研究者氏名・所属施設名及び役職

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

有波忠雄 筑波大学基礎医学系遺伝医学部門助教  
授

松島英介 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研

究科全人診断治療学講座診療ターミナル医学分野  
野助教授

#### A. 研究目的

精神分裂病は素因（遺伝）、出産時障害、胎生期の感染その他の多因子によって引き起こされる疾病と考えられている。従って、精神分裂病という疾患を一くくりにして検討してもその解明は困難である。これらのなかでも特に問題になるのが素因（遺伝）であり、これを反映する生理学的指標の確立を目指す。次の段階として、臨床診断を指標にするのではなく、客観的なこのマーカーを指標にした分子遺伝学的研究を行う。また、形態学的な変化とマーカーの関係をすることも重要である。このような方法により分裂病の病因遺伝子を抽出し、分裂病の異質性を明らかにすることが目的である。

#### B. 研究方法

##### 1. 精神分裂病の素因マーカーとしての探索眼球運動の検討（小島、松島）

###### 1) 分裂病の多発家系について

第1度親族のうち、親および同胞に精神分裂病（一部、感情障害）の負因をもち、ICD-10により精神分裂病の基準を満たす患者50名（男28名、女22名）を対象とした。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。負因の程度による分類では、本人以外に第1度親族の中に患者が1人いる群が30名、2人いる群が13名、3人以上いる群が7名であった。方法は、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。

##### 2) 家系内に分裂病患者がいる場合のうつ病患者について

分裂病患者26名、1度の親族内に分裂病の家族歴がある気分障害患者15名、気分障害の家族歴がある気分障害患者15名、精神疾患の家族歴がない気分障害患者24名、健常者26名を対象とした。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。探索眼球運動検査は、研究方法1の1)に示したような従来の方法に従った。

##### 2. 精神分裂病の形態学的異質性に関する研究（倉知）

###### 1) 精神分裂病患者の脳体積の変化

対象は服薬中の精神分裂病（ICD-10）患者34例と健常被検者31名であった。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。1.5TのMRIスキャナ（Magnetom Vision, Siemens）にて、3D-FLASH法を用い、全脳の三次元撮像（矢状断面、スライス厚=1mm）を行い、SPM96で解析した。

###### 2) 分裂病患者の前部帯状回体積の検討

分裂病患者16例（男8、女8）と健常対照者32例（男19、女13）について、上記のMRI撮像を行い、1mmスライス冠状断で、前部帯状回の体積を測定した。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。前部帯状回の輪郭は用手的に、

灰白質と白質の区分は threshold 法で半自動的に行った。

### 3. 分裂病の遺伝的異質性の研究 (有波、小島)

#### 1) 探索眼球運動を用いた全ゲノム連鎖解析

37 家系の患者とその同胞および両親に対して、採血および探索眼球運動検査を施行した。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。探索眼球運動検査は、研究方法 1 の 1) に示したような従来の方法に従った。DNA は末梢血白血球より抽出した。Research Genetics 社の Human Screening Set を用いて全染色体上に平均 10cM 間隔に存在する遺伝マーカーについて遺伝子型を決定した。そのデータを連鎖解析用の統計ソフトで処理し、探索眼球運動の連鎖領域の検討を行った。

#### 2) 候補遺伝子解析

精神分裂病患者 300 人、及び、コントロール 300 人を用いた。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。対象者の末梢血白血球より抽出した DNA を解析に用いた。変異検索は SSCP 法を用いた。多型の遺伝子型決定は、PCR-RFLP 法を用いた。

### C. 研究結果

#### 1. 精神分裂病の素因マーカーとしての探索眼球運動の検討 (小島、松島)

##### 1) 分裂病の多発家系における反応的探索スコアの検討

1 度の親族内に分裂病患者が 1 人いる

群、2 人いる群、3 人以上いる群の分裂病患者の反応的探索スコア (RSS) を調べたところ、3 人以上いる群の分裂病患者の RSS ( $6.2 \pm 1.3$ ) は 1 人いる群の分裂病患者のそれ ( $7.9 \pm 1.6$ ) よりも有意に低値であった。すなわち、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。今回は、症例数を前回より増やして確認した。

2) 1 度の親族に分裂病がいる気分障害患者の反応的探索スコアの検討 分裂病の家族歴のある気分障害患者の RSS ( $7.7 \pm 1.5$ ) は、家族歴のない気分障害患者 ( $10.4 \pm 1.7$ ) と気分障害の家族歴のある気分障害患者 ( $10.5 \pm 0.9$ ) 健常者 ( $10.6 \pm 1.9$ ) に比べて有意に低く、分裂病患者 ( $7.6 \pm 1.9$ ) との間には有意差がなかった。すなわち家族に分裂病患者がいる気分障害患者の RSS が有意に低く分裂病の負因が RSS の低下に影響していることがわかった。今回は、症例数を前回より増やして確認した。

##### 3) 反応的探索時の運動数について

反応的探索スコアは 0~14 点の幅にあるスコアである。今回は、反応的探索時の運動数といった連続量を新たな指標として用い、一卵性双生児間での相関を検討した。その結果、相関係数は 0.7 であり、反応的探索スコアの  $r=0.8$  に近い値であった。したがって、反応的探索時の運動数も分裂病の素因を反映する指標と考えられた。

##### 2. 精神分裂病の発病因子に関する研究 (小島、

松島、倉知)

日本大学、東京医科歯科大学、富山医科薬科大学を含む6施設で分裂病患者、感情障害患者、の探索眼球運動を記録し、1) 出産時障害、2) 頭部外傷、脳炎、3) 養育環境、4) ストレス、5) 薬物使用(覚醒剤など)、6) 遺伝負因、7) 発病年齢、性、8) 脳の形態的变化(MRI測定)等の諸因子との関連をみるべく症例を収集中である。現在、分裂病60例、感情障害30例程度で、結果の分析はできていない。

### 3. 精神分裂病の形態学的異質性に関する研究(倉知)

#### 1) 精神分裂病患者の脳体積の変化

服薬中の精神分裂病(ICD-10)患者34例と健常被検者31名について、高解像度三次元MRIとstatistical parametric mapping (SPM) 96を用いて両群間の脳体積を比較した。その結果、分裂病患者群では、中・下前頭回から上側頭回と辺縁系—傍辺縁系の脳灰白質体積、および両側の内包前脚から上後頭—前頭束にかけての白質体積が健常対照群に比べて有意に減少していた。

#### 2) 分裂病患者の前部帯状回体積の検討

分裂病患者16例と健常対照者32例について、上記と同じ方式でMRI撮像を行い、1mmスライス冠状断で、前部帯状回の体積を関心領域法で測定した。その結果、女性の患者群で、右の帯状回灰白質の体積(全脳比)が有意に小さかった。

### 4. 分裂病の遺伝的異質性の研究(有波、小島)

#### 1) 探索眼球運動(反応的探索スコア、反応

的探索時の運動数)をマーカーにした分裂病の連鎖解析

反応的探索スコアに関して連鎖の可能性のある領域は、第2染色体2q12-q13領域( $p=0.006$ )、第5染色体5q21-q31( $p=0.001$ )、第11染色体11q13-q14( $p=0.008$ )、第12染色体12q15-q21( $p=0.009$ )、第16染色体16q22-q23( $p=0.003$ )、第17染色体17q24-q25( $p=0.0002$ )、第22染色体22p11-q11( $p=0.002$ )であった。反応的探索時の運動数に関して連鎖の可能性のある領域は、第22染色体22q11( $p=0.00001$ )であった。

#### 2) ドーパミン受容体、NMDA受容体等の遺伝子多型と精神分裂病との関連研究

精神分裂病患者のDNAを対象にドーパミンD3受容体遺伝子変異検索を行い、-712G/C、-205A/G、Ala38Thrの新規多型を検出した。これらの多型および既知のSer9Gly多型は強い連鎖不平衡の関係にあった。153人の分裂病患者および122人のコントロールによる症例・対象研究の結果、-712G/C、-205A/G、Ser9Gly多型から構成したハプロタイプは精神分裂病と関連していることが示された。さらにこの関連は追加の症例・対照研究によっても支持された。NMDA受容体2Bサブユニット遺伝子(GRIN2B)の変異解析を行い、-489G/A、15G/T、366C/G、1665C/T、2664C/T、4197T/C、4615C/T、5806A/C、5988T/Cの9カ所の多型を検出した。このうち5カ所はコード領域であったが、いずれもアミノ酸置換を起こさないもの

であった。精神分裂病とはハプロタイプでの関連が示唆され、NMDA 受容体 2B サブユニット遺伝子が分裂病の発症と関わっていることが示唆された。

#### D. 考察

##### 1. 精神分裂病の素因マーカーとしての探索眼球運動の検討 (小島、松島)

1) 分裂病の多発家系の患者について、2) 家系に分裂病患者がいる場合のうつ病患者について、それぞれ RSS を測定し対照と比較した。その結果家系に分裂病患者が多いほど RSS が低値であり、一度の親族に分裂病患者がいるうつ病患者の RSS が分裂病がいないうつ病患者のそれと比較して有意に低値を示した。これまで、健常者および精神分裂病の一卵性双生児の探索眼球運動の研究では、一卵性のペア同士の RSS の相関が 0.8 を越えており、精神分裂病の不一致群においても近似した値を示した。また、分裂病の親および同胞の RSS が低値を示していた。これらの結果と今回の研究結果を併せて考えると RSS が分裂病の素因を強く反映することが明確になった。

##### 2. 精神分裂病の発病因子に関する研究 (小島、松島、倉知)

6 施設で分裂病患者、感情障害患者の探索眼球運動を記録し、出産時障害その他の危険因子との関係を検討している。現在分裂病 60 例、感情障害 30 例程度で結果の分析はできていない。分裂病と健常者の一卵性双生児の結果によると、ペア同士が分裂病になっている一致群の RSS が最も低値であり、不一致例がそれより高く、健常者の一致例が最も高値

であった。また、分裂病の一卵性双生児ではペア同士が分裂病になっている一致群では出産時障害が少なく、分裂病になった者と健常者のペアの不一致群では分裂病になった者に出産時障害が多かった。分裂病不一致群では素因は強くないが出産時障害による器質的要因が加わって発症していると考えられる。一般の分裂病で RSS と出産時障害の関係を調べてこの仮説を検証したい。

##### 3. 精神分裂病の形態学的異質性に関する研究 (倉知)

分裂病患者群の脳灰白質体積は、左の前部帯状回と下前頭回、左右の中前頭回、上側頭回、鉤回と海馬、右の島回で、健常対照群に比べて有意に減少していた。患者群の白質では、両側の内包前脚から上後頭—前頭東にかけての体積が有意に減少していた。以上の分裂病患者の灰白質体積の結果は、従来の関心領域法による諸報告とほぼ一致するが、白質の変化は新しく見いだされたものである。今後、男女差についても検討する予定である。

また、女性の患者群で、右の帯状回灰白質の体積 (全脳比) が有意に小さかったが、男性の変化は有意ではなかった。この所見は、死後脳 (女性) の計測結果を支持する。

##### 4. 分裂病の遺伝的異質性の研究 (有波、小島)

これまでに欧米で行われてきた連鎖解析により、分裂病遺伝子は複数存在していることが示されている。本研究で行われた眼球運動を使った連鎖解析でもこの傾向は見られ、探索眼球運動の QTL は複数存在していることが示された。しかし、この研究期間で解析が終了したサンプルサイズは小さいため、連

鎖が示唆された領域の中には false positive も存在している可能性があり、さらに家系を追加して連鎖を確認する必要がある。しかし、今回、連鎖がみられた 5q、22q 領域では分裂病との連鎖が報告されており、これらの領域は分裂病の連鎖領域である可能性が高いと考えられる。さらに対象家系を増やし、罹病状態を基準にしたときの連鎖と眼球運動の連鎖の比較、眼球運動の悪い患者のみを対象としたときの連鎖の検討を行うことにより、分裂病の異種性に関する遺伝的基盤が明らかになると期待される。連鎖解析はゲノムの位置的情報から遺伝子を同定するための地図の役割を果たすので、本研究はさらに家系を蓄積することにより、遺伝子同定のために有用な情報を提供するはずである

また、本研究によりドーパミン D3 受容体遺伝子多型と分裂病との関連が示された。D3 受容体遺伝子の Ser9Gly 多型と分裂病との関連はこれまでも多く報告されているものの、これを否定する報告も多く、また、Ser9Gly 多型の機能的意義も明らかでないため、評価が難しかった。本研究により、D3 受容体遺伝子多型の関連はハプロタイプでより明確であることが明らかになり、これは、一つが多型の機能ではなく、複数の多型の複合効果であるか、あるいは、未知の変異が分裂病と関わっていることを示している。

さらに、NMDAR2B 遺伝子とは分裂病との関連が本研究により初めて明らかとなった。NMDA 受容体を遮断するフェンサイクリジンにより分裂病様症状を起こすことから、分裂病の重要な候補遺伝子であったが、遺伝子

構造が明らかでないためこれまで研究されてこなかった。本研究では遺伝子構造を明らかにした上、変異検索を行った。その結果、分子多型はないが、弱いハプロタイプ関連が見られ、分裂病の発症に NMDAR2B 遺伝子変異が関わっていることが初めて示唆された。

## E. 結論

- 1) 分裂病の多発家系の患者（分裂病）および1度の親族に分裂病がいるうつ病の患者の反応的探索スコアが低値を示すこと、また、これまでの分裂病の一卵性双生児の結果等から、反応的探索スコアが分裂病の素因を強く反映することが分かった。
- 2) 脳の形態学的変化については分裂病患者では、中・下前頭回から上側頭回、および辺縁系—傍辺縁系の体積減少が認められた。
- 3) 探索眼球運動（反応的探索スコア、反応的探索時の運動数）を指標とする連鎖解析により、分裂病感受性遺伝子の存在するゲノム上の候補領域が明らかとなった。候補遺伝子解析により、ドーパミン D3 受容体遺伝子、NMDA 受容体 2B サブユニット遺伝子と精神分裂病との関連が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文

1. Ohta K, Matsushima E, Matsuura M, Toru M, Kojima T: Amantadine-induced multiple spike waves on an electroencephalogram of schizophrenic patients. *World J Biol Psychiatry*, 1:59-64, 2000
2. Kojima T, Matsushima E: *Eyes and the Mind*. Karger, 2000
3. Takahashi S, Tanabe E, Sakai T, Matsuura M,



- Matsushima E, Obayashi S and Kojima T; Coloration between exploratory eye movement, P300 and reaction time in schizophrenia. *Biol Psychiat* ( in press)
4. Takahashi S, Matsuura M, Tanabe E, Yara K, Nonaka K, Fukura Y, Kikuchi M and Kojima T; Age at onset of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* ( in press)
  5. 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
  6. 松島英介:分裂病の成因から見た一次予防の可能性. *精神医学レビュー*30 : 55-68, 1999
  7. 小島卓也、松島英介:精神分裂病のハイリスク群と脆弱性-探索眼球運動による検討-、*脳と精神の医学* 10 : 153-156, 1999
  8. Sumiyoshi T, Saitoh o, Yotsutsuji T, Itoh H, Kurokawa K, Kurachi M, et al.: Differential effects of mental stress on plasma homovanillic acid in schizophrenia and normal controls. *Neuropsychopharmacology* 20:365-369,1999.
  9. Kurachi M, Sumiyoshi T, Shibata R, et al.: Changes in limbic dopamine metabolism following quinolinic acid lesions of the left entorhinal cortex in rats. *Psychiatry Clin Neurosci*, 54:83-89,2000.
  10. Arinami T, Iijima Y, Yamakawa-Kobayashi K, Ishiguro H, Ohtsuki T, Yanagi H, Shimakura Y, Ishikawa H, Hamaguchi H: Supportive evidence for contribution of the dopamine D2 receptor gene to heritability of stature: linkage and association studies. *Ann Hum Genet* 63:147-151, 1999
  11. Ishikawa H, Ohtsuki T, Ishiguro H, Yamakawa-Kobayashi K, Endo K, Lin Y, Yanagi H, Tsuchiya S, Kawata K, Hamaguchi H, Arinami T: Association between serotonin transporter gene polymorphism and smoking among Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 8:831-833, 1999
  12. Inada T, Arinami T, Yagi G: Association between a polymorphism in the promoter region of dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in Japanese Subjects: replication and evaluation for antipsychotic -related features. *Internat J Neuropsychopharmacol* , 2:181-186, 1999
  13. Okuyama Y, Ishiguro H, Toru M, Arinami T: A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* 258:292-295, 1999
  14. Okuyama Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T: Identification of a polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with the human personality trait of novelty seeking. *Mol Psychiatry*, 5:64-69, 2000
  15. Ohtsuki T, Ishiguro H, Yoshikawa T, Arinami T: WFS1 gene mutation search in depressive patients: Detection of 5 missense polymorphisms but no association with depression or bipolar affective disorder. *J Affect Disord*, in press
  16. Ishiguro H, Okuyama Y, Toru M, Arinami T: Mutation and association analysis of the 5' region of the dopamine D3 receptor gene in

schizophrenia patients: Identification of the Ala38Thr polymorphism and suggested association between DRD3 haplotypes and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, in press.

17. Nakayama, J., Miura, M., Honda, M., Miki T, Honda Y, Arinami T: Linkage of human narcolepsy with HLA association to chromosome 4p13-q21. *GENOMICS*, in press.
18. Ohtsuki, T., Ichiki, R., Toru, M., Arinami, T.: Mutational analysis of the synapsin III gene on chromosome 22q12-q13 in schizophrenics. *Psychiatry Research*, in press
19. Ishiguro H, Saito T, Shibuya H, Toru M, Arinami T: Mutation and association analysis of the Fyn kinase gene with alcoholism and schizophrenia, *Am J Med Genet* (Neuro-psychiatric Genetics section), in press.

## 分担研究報告書

### 精神分裂病の成因的異種性に関する研究

分担研究者 松島英介 東京医科歯科大学心療・ターミナル医学分野

研究要旨 精神分裂病の成因レベルでの異質性を考える上で、大きな役割を果たすと考えられる探索眼球運動について、分裂病の素因を強く反映する指標でもあることが確認された。

#### 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可能性を報告してきた。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

第一度親族のうち、親および同胞に精神分裂病（一部、感情障害）の負因をもち、ICD-10により精神分裂病の基準を満たす患者50名（男28名、女22名、平均年齢43.9歳）を対象とした。負因の程度による分類では、本人以外に第一度親族の中に患者が1人いる群が30名、2人いる群が13名、3人以上いる群が7名であった。本人を除いて、第一度親族における患者数を第一度親族全体で割った割合を出現頻度として定義し、3群で出現頻度を比較したところ、第一度親族に患者数が多い群ほど、その構成人数にかかわらず、患者の出現頻度も高かった。方法は横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

遺伝負因により対象を3群に分けて探索眼球運動を比較したところ、負因の強い分裂病患者群ほど反応的探索スコアは有意に低い値を示すことがわかった（危険率5%以下）。

#### D. 考察

この結果はこれまでの分裂病の両親や同胞、一卵性双生児の結果と同様に、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

精神分裂病の成因レベルでの異種性を考える上で大きな役割を占める探索眼球運動（とくに反応的探索スコア）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。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

(1) 松島英介：分裂病の成因から見た一次予防の可能性. 精神医学レビュー30: 55-68,

1999.

(2) 小島卓也、松島英介：精神分裂病のハイリスク群と脆弱性- 探索眼球運動による検討- . 脳と精神の医学 10 : 153-156, 1999.

## 2. 学会発表

(1) Matsushima E, Ohta K, Kubo H, Takahashi S, Kojima T: Exploratory eye movements with schizophrenia - A monozygotic twin study - XI World Congress of Psychiatry. August 10, 1999, Hamburg.

(2) Takahashi S, Kojima T, Matsushima E, Tanabe E, Yara K: Exploratory eye movement dysfunctions in schizophrenic patients and their siblings. XI World Congress of Psychiatry. August 9, 1999, Hamburg.

(3) 小島卓也、松島英介：精神分裂病のハイリスク群と脆弱性：探索眼球運動による検討。第21回日本生物学的精神医学会。1999年4月22日，仙台。

(4) 小島卓也、松島英介：探索眼球運動を用いた精神分裂病の病態および病因解明に関する研究。第29回日本脳波・筋電図学会学術大会。1999年11月10日，東京。

(5) 大倉勇史、市川宏伸、佐藤泰三、松島英介：小児青年期発症の精神分裂病患者の探索眼球運動- 遺伝負因を中心に- . 第21回日本生物学的精神医学会。1999年4月21日，仙台。

(6) 萩原正道、松島英介、大倉勇史、太田克也、都丸義郎、安藤克巳：精神分裂病の探索眼球運動と遺伝負因との関係。第2

1回日本生物学的精神医学会。1999年4月22日，仙台。

(7) 高橋 栄、屋良一夫、田辺英一、梶浦麻由、坂井禎一郎、松浦雅人、小島卓也、松島英介：精神分裂病患者とその同胞の探索眼球運動。第21回日本生物学的精神医学会。1999年4月22日，仙台。

(8) 屋良一夫、高橋 栄、田辺英一、梶浦麻由、坂井禎一郎、松浦雅人、小島卓也、松島英介：精神分裂病の家族歴をもつ気分障害患者の探索眼球運動。第21回日本生物学的精神医学会，1999年4月22日，仙台。

(9) 屋良一夫、高橋 栄、田辺英一、梶浦麻由、坂井禎一郎、松浦雅人、小島卓也、松島英介：気分障害患者における分裂病素因の検討- 探索眼球運動を用いて- . 第95回日本精神神経学会総会，1999年5月29日，東京。

(10) 萩原正道、松島英介、太田克也、大倉勇史、都丸義郎、安藤克巳：精神分裂病における探索眼球運動と遺伝負因の関係。第29回日本脳波・筋電図学会学術大会，1999年11月10日，東京。

(11) 屋良一夫、高橋 栄、田辺英一、坂井禎一郎、松浦雅人、小島卓也、松島英介：気分障害患者における分裂病素因の検討- 探索眼球運動を用いて- . 第29回日本脳波・筋電図学会学術大会，1999年11月10日，東京。

## 分担研究報告書

### 精神分裂病の病因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教室

#### 研究要旨：

1. 精神分裂病患者の脳体積の変化：服薬中の精神分裂病（ICD-10）患者 34 例と健常被検者 31 名について、高解像度三次元 MRI と statistical parametric mapping (SPM) 96 を用いて両群間の脳体積を比較した。その結果、分裂病患者群では、中・下前頭回から上側頭回と辺縁系—傍辺縁系の脳灰白質体積、および両側の内包前脚から上後頭—前頭東にかけての白質体積が健常対照群に比べて有意に減少していた。
2. 分裂病患者 16 例と健常対照者 32 例について、上記と同じ方式で MRI 撮像を行い、1mm スライス冠状断で、前部帯状回の体積を関心領域法で測定した。その結果、女性の患者群で、右の帯状回灰白質の体積（全脳比）が有意に小さかった。
3. 動物モデル：左の内嗅皮質傷害ラットの行動測定から、探索行動やアンフェタミン負荷による移所行動量の増加という辺縁系ドパミン過剰伝達と合致する所見が得られた。

#### A. 研究目的

精神分裂病患者の脳の形態学的変化を statistical parametric mapping (SPM)法と関心領域法を用いて検討する。SPM 法では、予想しない部位の変化も検出することができる。また、側頭葉の形態学的変化とドーパミン代謝との関係を動物モデルを用いて検討する。

#### B. 研究方法

##### 1. 精神分裂病患者の脳体積の変化

対象は、説明による同意が得られた服薬中の精神分裂病（ICD-10）患者 34 例と健常被検者 31 名で、1.5T の MRI スキャナ（Magnetom Vision, Siemens）にて、3D-FLASH 法を用い、全脳の三次元撮像（矢状断面、スライス厚=1mm）を行い、SPM96 で解析した。

##### 2. 分裂病患者の前部帯状回体積の検討

説明と同意の得られた分裂病患者 16 例（男 8、

女 8）と健常対照者 32 例（男 19、女 13）について、上記の MRI 撮像を行い、1mm スライス冠状断で、前部帯状回の体積を測定した。前部帯状回の輪郭は用手的に、灰白質と白質の区分は threshold 法で半自動的に行った。

##### 3. 動物モデルを用いた検討

左の内嗅皮質傷害ラットについて、探索行動やアンフェタミン負荷による行動測定を行った。

#### C. 研究結果と考察

##### 1. 精神分裂病患者の脳体積の変化

分裂病患者群の脳灰白質体積は、左の前部帯状回と下前頭回、左右の中前頭回、上側頭回、鉤回と海馬、右の島回で、健常対照群に比べて有意に減少していた。患者群の白質では、両側の内包前脚から上後頭—前頭東にかけての体積が有意に減少していた。以上の分裂病患者の灰白質体積の結果は、従来の関心領域法による諸報告とほぼ一

致するが、白質の変化は新しく見いだされたものである。今後、男女差についても検討する予定である。

## 2. 分裂病患者の前部帯状回体積の検討

女性の患者群で、右の帯状回灰白質の体積（全脳比）が有意に小さかったが、男性の変化は有意ではなかった。この所見は、死後脳（女性）の計測結果を支持する。

## 3. 動物モデルを用いた検討

左の内嗅皮質傷害ラットでは、これまでの扁桃体ドパミンの濃度と遊離の増加という結果に加えて、探索行動やアンフェタミン負荷による移所行動量の増加という辺縁系ドパミン過剰伝達と合致する所見が得られた。

## D. 結論

分裂病患者では、中・下前頭回から上側頭回、および辺縁系—傍辺縁系の体積減少が認められた。動物モデルでは、内嗅皮質の傷害により、辺縁系ドパミン過剰伝達と合致する所見が得られた。

## E. 研究発表

### 1. 論文

1) Sumiyoshi T, Saitoh o, Yotsutsuji T, Itoh H, Kurokawa K, Kurachi M, et al.: Differential effects of mental stress on plasma homovanillic acid in schizophrenia and normal controls. *Neuropsychopharmacology* 20:365-369,1999.

2) Kurachi M, Sumiyoshi T, Shibata R, et al.: Changes in limbic dopamine metabolism following quinolinic acid lesions of the left entorhinal cortex in rats. *Psychiatry Clin Neurosci*, 54:83-89,2000.

### 2. 学会発表

1) 野原 茂、鈴木道雄、萩野宏文ほか：精神分

裂病患者のMRIにおける脳灰白質および白質体積—SPM96による検討-。第22回生物学的精神医学会抄録集, p224,2000.3.31（東京）

2) 高橋 努、黒川賢造、萩野宏文ほか：精神分裂病患者における前部帯状回体積の検討。第22回生物学的精神医学会抄録集, p226,2000.3.31（東京）

## 分担研究報告書

### 精神分裂病の病因的異質性に関する研究

分担研究者 有波忠雄 筑波大学基礎医学系遺伝医学部門

#### 研究要旨：

精神分裂病の病因的異種性の分子遺伝学的背景を検索するために、ドーパミン D3 受容体、シナプシン 3、Fyn チロシンキナーゼ、NMDA 受容体 2B サブユニット、レチノイド X 受容体ベータ、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アルファ、核内受容体 NURR1 をコードしている遺伝子を検索し、検出された遺伝子多型と分裂病の臨床類型を検討した。D3 受容体遺伝子以外は本研究により初めて変異検索がなされた遺伝子である。いずれの遺伝子においても新たな遺伝子変異が検出された。このなかでドーパミン D3 受容体遺伝子多型と NMDA 受容体 2B サブユニットの遺伝子多型と精神分裂病が関連があることが示唆された。これまでドーパミン D2、D4 受容体遺伝子の変異と分裂病との関連が示唆されていたことより、ドーパミン D2、D3、D4 受容体、すなわち、ドーパミン D2 受容体グループの遺伝子多型はいずれも精神分裂病と関連することが示唆された。

一方、生理学的マーカーである探索眼球運動を指標とした精神分裂病の病因遺伝子の研究は、家系サンプルより全ゲノムの連鎖地図を作るところから取りかかってきた。これまで日本人 40 家系以上の解析が終了し、第 5、第 22 染色体において、連鎖を支持する結果を得た。これらの領域は以前欧米で分裂病と連鎖を示唆する報告がされた領域であった。生理学的マーカーを用いた方法によっても同様の結果を得たことは、この領域に精神分裂病遺伝子が存在している可能性が高いことを示している。

#### 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が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

候補遺伝子解析には、精神分裂病患者 300 人、及び、コントロール 300 人を用いた。眼球運動を指標とした連鎖解析には患者とその同胞および両親のサンプルを用いた。すべての対象者に対して研究の内容を説明し、書面でのインフォームドコンセントを得た。

対象者の末梢血より抽出した DNA を用いて解

析した。変異検索は SSCP 法を用いた。多型の遺伝子型決定は、PCR-RFLP 法を用いた。連鎖は Research Genetics 社の Human Screening Set を用いて全染色体上に平均 10cM 間隔に存在する遺伝マーカーについて遺伝子型を決定し、統計処理を行った。

#### C. 研究結果

##### 候補遺伝子解析

精神分裂病患者の DNA を対象にドーパミン D3 受容体遺伝子変異検索を行い、-712G/C、-205A/G、Ala38Thr の新規多型を検出した。これらの多型および既知の Ser9Gly 多型は強い連鎖不平衡の関係にあった。153 人の分裂病患者および

122 人のコントロールによる症例・対象研究の結果、-712G/C, -205A/G, Ser9Gly 多型から構成したハプロタイプは精神分裂病と関連していることが示された。さらにこの関連は追加の症例・対照研究によっても支持された。

NMDA 受容体 2B サブユニット遺伝子 (GRIN2B) の変異解析を行い、-489G/A, 15G/T, 366C/G, 1665C/T, 2664C/T, 4197T/C, 4615C/T, 5806A/C, 5988T/C の 9 カ所の多型を検出した。このうち 5 カ所はコード領域であったが、いずれもアミノ酸置換を起こさないものであった。精神分裂病とはハプロタイプでの関連が示唆され、NMDA 受容体 2B サブユニット遺伝子が分裂病の発症と関わっていることが示唆された。

シナプシン 3、Fyn チロシンキナーゼ、レチノイド X 受容体ベータ、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アルファ、核内受容体 NURR1 遺伝子についても多型が検出されたが、分裂病との関連は見られなかった。

#### 連鎖解析

同胞間での探索眼球スコアの差に基づく解析により、連鎖の可能性のある領域は、第 2 染色体の 2q12-q13 領域 ( $p=0.006$ )、第 5 染色体 5q21-q31 ( $p=0.001$ )、第 11 染色体 11q13-q14 ( $p=0.008$ )、第 12 染色体 12q15-q21 ( $p=0.009$ )、第 16 染色体 16q22-q23 ( $p=0.003$ )、第 17 染色体 17q24-q25 ( $p=0.0002$ )、第 22 染色体 22p11-q11 ( $p=0.002$ ) であった。

#### D. 考察

本研究により、ドーパミン D3 受容体遺伝子多型と分裂病との関連が示された。D3 受容体遺伝子の Ser9Gly 多型と分裂病との関連はこれまでも多く報告されているものの、これを否定する報告

も多く、また、Ser9Gly 多型の機能的意義も明らかでないため、評価が難しかった。本研究により、D3 受容体遺伝子多型の関連はハプロタイプでより明確であることが明らかになり、これは、一つの多型の機能ではなく、複数の多型の複合効果であるか、あるいは、未知の変異が分裂病と関わっていることを示している。

NMDAR2B 遺伝子とは分裂病との関連が本研究により初めて明らかとなった。NMDA 受容体を遮断するフェンサイクリジンにより分裂病様症状を起こすことから、分裂病の重要な候補遺伝子であったが、遺伝子構造が明らかでないためこれまで研究されてこなかった。本研究では遺伝子構造を明らかにした上、変異検索を行った。その結果、分子多型はないが、弱いハプロタイプ関連が見られ、分裂病の発症に NMDAR2B 遺伝子変異が関わっていることが初めて示唆された。

これまで、欧米で行われてきた連鎖解析により、分裂病遺伝子は複数存在していることを示されている。本研究で行われた眼球運動を使った連鎖解析でもこの傾向は見られ、探索眼球運動の QTL は複数存在していることが示された。しかし、この研究期間で解析が終了したサンプルサイズは小さいため、連鎖が示唆された領域の中には false positive も存在している可能性があり、さらに家系を追加して、連鎖を確認する必要がある。また、これらの QTL と精神分裂病との連鎖は本研究では明らかではない。これまでの分裂病との連鎖研究により、5q、22q 領域では分裂病との連鎖が報告されており、これらの領域は分裂病の連鎖領域である可能性が高いと考えられる。さらに対象家系を増やし、罹病状態を基準にしたときの連鎖と眼球運動の連鎖の比較、眼球運動の悪い患者のみ



を対象としたときの連鎖の検討を行うことにより、分裂病の異種性に関する遺伝的基盤が明らかになると期待される。連鎖解析はゲノムの位置的情報から遺伝子を同定するための地図の役割を果たすので、本研究はさらに家系を蓄積することにより、遺伝子同定のために有用な情報を提供するはずである。

#### E. 結論

候補遺伝子解析により、ドーパミン D3 受容体遺伝子、NMDA 受容体 2B サブユニット遺伝子と精神分裂病との関連が示唆された。

眼球運動を指標とする連鎖解析により分裂病遺伝子の存在するゲノムの候補領域が明らかとなった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文

Arinami T, Iijima Y, Yamakawa-Kobayashi K, Ishiguro H, Ohtsuki T, Yanagi H, Shimakura Y, Ishikawa H, Hamaguchi H: Supportive evidence for contribution of the dopamine D2 receptor gene to heritability of stature: linkage and association studies. *Ann Hum Genet* **63**:147-151, 1999

Ishikawa H, Ohtsuki T, Ishiguro H, Yamakawa-Kobayashi K, Endo K, Lin Y, Yanagi H, Tsuchiya S, Kawata K, Hamaguchi H, Arinami T: Association between serotonin transporter gene polymorphism and smoking among Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **8**:831-833, 1999

Inada T, Arinami T, Yagi G: Association between a polymorphism in the promoter region of dopamine D2 receptor gene and schizophrenia in Japanese Subjects: replication and evaluation for antipsychotic-related features. *Internat J Neuropsychopharmacol*,

**2**:181-186, 1999

Okuyama Y, Ishiguro H, Toru M, Arinami T: A genetic polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with expression and schizophrenia. *Biochem Biophys Res Commun* **258**:292-295, 1999

Okuyama Y, Ishiguro H, Nankai M, Shibuya H, Watanabe A, Arinami T: Identification of a polymorphism in the promoter region of DRD4 associated with the human personality trait of novelty seeking. *Mol Psychiatry*, **5**:64-69, 2000

Ohtsuki T, Ishiguro H, Yoshikawa T, Arinami T: WFS1 gene mutation search in depressive patients: Detection of 5 missense polymorphisms but no association with depression or bipolar affective disorder. *J Affect Disord*, in press

Ishiguro H, Okuyama Y, Toru M, Arinami T: Mutation and association analysis of the 5' region of the dopamine D3 receptor gene in schizophrenia patients: Identification of the Ala38Thr polymorphism and suggested association between DRD3 haplotypes and schizophrenia. *Mol Psychiatry*, in press.

Nakayama, J., Miura, M., Honda, M., Miki T, Honda Y, Arinami T: Linkage of human narcolepsy with HLA association to chromosome 4p13-q21. *GENOMICS*, in press.

Ohtsuki, T., Ichiki, R., Toru, M., Arinami, T.: Mutational analysis of the synapsin III gene on chromosome 22q12-q13 in schizophrenics. *Psychiatry Research*, in press

Ishiguro H, Saito T, Shibuya H, Toru M, Arinami T:

Mutation and association analysis of the Fyn kinase gene with alcoholism and schizophrenia, Am J Med Genet (Neuro-psychiatric Genetics section), in press.