

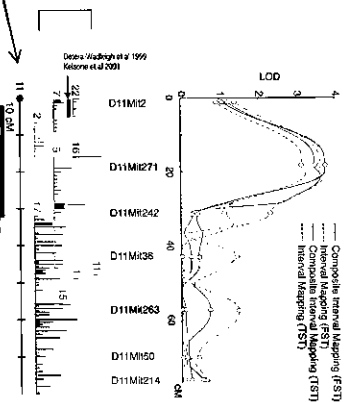
Mouse QTL

Corresponding human chromosomes and reported linkage to affective disorder

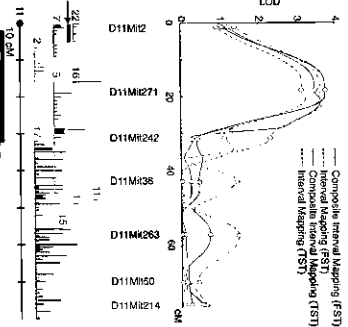
Mouse chromosome

Positional candidate genes

Chromosome 11



Datta-Wadigh et al 1999
Kesteven et al 2001



11
 10 cM
 18-

11
 11
 15
 16.1
 22 cM

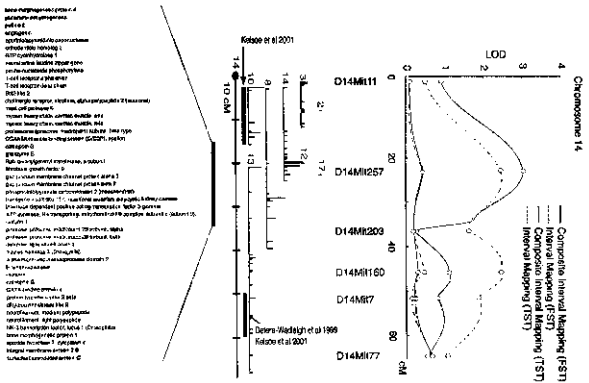
D11Mi2
 D11Mi271
 D11Mi242
 D11Mi36
 D11Mi263
 D11Mi50
 D11Mi214

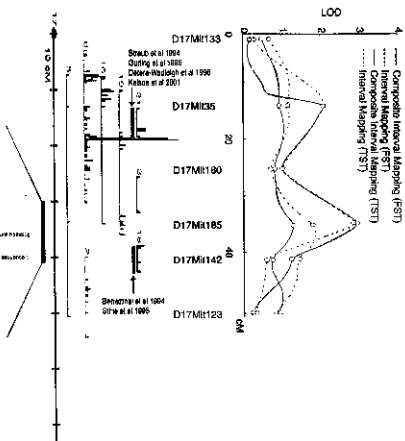
Composite interval Mapping (FST)
 Interval Mapping (FST)
 Composite interval Mapping (TST)
 Interval Mapping (TST)

Datta-Wadigh et al 1999
 Kesteven et al 2001

11
 11
 15
 16.1
 22 cM

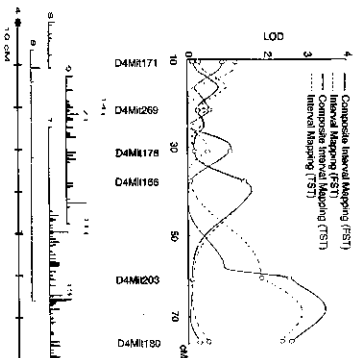
18-



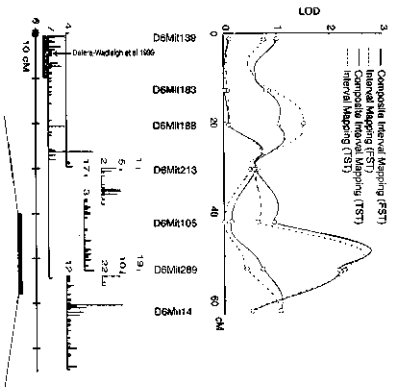


Genetic map of Chromosome 17 showing LOO values for various markers and mapping methods. The markers are D17M133, D17M135, D17M180, D17M185, D17M142, and D17M123. The mapping methods are Composite Interval Mapping (FSIT), Interval Mapping (FSIT), and Interval Mapping (TS1). The physical map shows the chromosome with a scale from 0 to 170 cM.

Chromosome 4



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100



1. 染色体の長さ (Chromosome length)
 2. 染色体の短縮 (Chromosome shortening)
 3. 染色体の伸長 (Chromosome elongation)
 4. 染色体の断裂 (Chromosome breakage)
 5. 染色体の融合 (Chromosome fusion)
 6. 染色体の重複 (Chromosome duplication)
 7. 染色体の消失 (Chromosome loss)
 8. 染色体の異常 (Chromosome abnormality)
 9. 染色体の構造 (Chromosome structure)
 10. 染色体の機能 (Chromosome function)
 11. 染色体の進化 (Chromosome evolution)
 12. 染色体の疾患 (Chromosome disease)
 13. 染色体の検査 (Chromosome testing)
 14. 染色体の治療 (Chromosome therapy)
 15. 染色体の研究 (Chromosome research)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究：

ゲノム解析による精神疾患の関連遺伝子の解明

分担研究者 有波忠雄 筑波大学基礎医学系助教

研究要旨 精神分裂病、気分障害と関連している遺伝子を系統的に検索するために、5 番染色体長腕に的を絞り、関連遺伝子を検索した。18 遺伝子を検索した結果、セロトニン 4 受容体遺伝子の多型と気分障害が関連していることが症例・対照解析で示唆され、NIMH 家系の TDT で関連が確認された。この結果、気分障害との関わりを検討するべき新たな分子が発見された。

A. 研究目的

精神疾患に関連する遺伝子を系統的に探索するために、家系を用いた連鎖解析の結果に基づいて連鎖領域の遺伝子の検索を行い、連鎖領域の精神疾患関連遺伝子の同定を目的とした。本年度は 5 番染色体長腕の遺伝子を検索した。

B. 研究方法

症例・対照解析で 5 番染色体 5q31-q35 に存在しているマイクロサテライトマーカーおよび遺伝子の SNPs を用いて連鎖不平衡のスクリーニングを行い、関連の可能性のあるマーカー、SNPs については精神疾患患者のサンプルを対象に付近の遺伝子の変異検索を行い、検出された変異の関連解析の後、関連の可能性のある変異については別の集団で確認した。

研究は筑波大学医の倫理委員会の承認を受けて行った。研究対象者からはインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

5q31-q34 領域の *trp7*、*MGC10924*、*KIAA0621*、*PPP2R2B*、*KIAA0555*、*DPYSL3*、*TAF2S*、*SLC6A7*、*CAMK2A*、*KIAA1029*、*GLRA1*、*NMU2R*、*GRIA1*、*GABRB1*、*SLIT3*、*KCNMB1*、*KCNIP1*、*GABRP* の 18 遺伝子のマイクロサテライトマーカーまたは SNPs お

よび 16 の STS マイクロサテライトマーカーでの解析を行った。多重比較で補正した場合、有意な関連を示す結果は得られなかったが、非補正では 2 つのマーカーで関連が示唆された。

変異検索において、*GABRB1*、*GABRA1*、*KCNMB1*、*KCNIP1*、*HTR4* 遺伝子の変異検索を行い、5q32 にあるセロトニン 4 遺伝子の 3-選択的スプライシング領域の多型と双極性気分障害との関連が示唆された。この関連は NIMH 家系での TDT でも確認された。

D. 考察

精神分裂病に関しては本年度の研究では 5 番染色体長腕には関連遺伝子は検出されなかった。本研究で重点的に遺伝子解析を進めた 5q31-q33 は最近のフィンランドの研究でも精神分裂病との連鎖が示唆されたところであり、精神分裂病と関連する遺伝子が存在する可能性はある。この領域には 200 以上の遺伝子が存在していると推測され、本研究で解析が終了した遺伝子はまだ少なく、さらに解析が必要である。

気分障害と 5 番染色体長腕との連鎖は一部の研究で示唆されている。本年度の研究では、セロトニン受容体のひとつのタイプであるセロトニン 4 受容体が気分障害に関連している可能性が 2 つの集団で示唆された。今後、この多型と相関している受容体の機能変化を解

明する必要がある。

E. 結論

精神分裂病および気分障害と関連する 5 番染色体長腕のゲノム遺伝子変異を検索し、*HTR4* 遺伝子と気分障害との関連を発見した。

F. 健康危険情報

本研究において健康の安全に直接係わる危険情報は発生していない。

G. 研究発表

1. Ohtsuki T, Ishiguro H, Detera-Wadleigh SD, Toyota T, Shimizu H, Yamada K, Yoshitsugu K, Hattori E, Yoshikawa T, Arinami T: Association between serotonin 4 receptor gene polymorphisms and bipolar disorder in Japanese case-control samples and the NIMH Genetics Initiative Bipolar Pedigrees. *Mol Psychiatry* in press
2. Sakurai T, Migita O, Toru M, Arinami T: An association between a missense polymorphism in the close homologue of *LL1* (*CHL1*, *CALL*) gene and schizophrenia. *Mol Psychiatry* in press
3. Ohtsuki T, Watanabe H, Toru M, Arinami T: Lack of evidence for association between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency and schizophrenia. *Psychiat Res* 109:93-96, 2002
4. Ishiguro H, Okubo Y, Ohtsuki T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T: Mutation analysis of the retinoid X receptor beta, nuclear-related receptor 1, and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha genes in schizophrenia and alcohol dependence: possible haplotype association of nuclear-

related receptor 1 gene to alcohol

dependence. *Am J Med Genet*, 114: 15-23, 2002

5. Ohtsuki T, Toru M, Arinami T: Mutation screening of the metabotropic glutamate receptor mGluR4 (*GRM4*) gene in patients with schizophrenia. *Psychiatr Genet* 11: 79-83, 2001
 6. Arinami T, Ohtsuki T, Takase K, Shimizu H, Yoshikawa T, Horigome H, Nakayama J, Toru M: Screening for 22q11 deletions in a schizophrenia population. *Schizophr Res*, 52: 167-170, 2001
 7. Takase K, Ohtsuki T, Migita O, Toru M, Inada T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T: Association of *ZNF74* gene genotypes with age at onset of schizophrenia. *Schizophr Res*, 52: 161-165, 2001
 8. Ishiguro H, Ohtsuki T, Okubo Y, Kurumaji A, Arinami T: Association analysis of the pituitary adenylyl cyclase activating peptide gene (*PACAP*) on chromosome 18p11 with schizophrenia and bipolar disorders. *J Neur Transm*, 108: 849-854, 2001
 9. Ohtsuki T, Sakurai K, Dou H, Toru M, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T: Mutation analysis of the *NMDAR2B* (*GRIN2B*) gene in schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 6:211-216, 2001
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析：双極性障害における染色体 18p11.2-18q12.1 領域、および候補遺伝子(NDUFV2)の関連解析

分担研究者 稲田俊也

国立精神・神経センター精神保健研究所

研究要旨： 双極性障害を対象としてこれまでに行われてきた遺伝子連鎖研究の結果から、双極性障害に関連する遺伝子が存在する可能性が最も高い領域の一つとして 18 番染色体動原体付近が挙げられている。本研究ではこの 18 番染色体動原体付近 40cM に焦点を絞って、この領域にある 50 カ所の DNA マイクロサテライトマーカーを用いて、双極性障害患者 178 名と健常対照者 199 名を対象として、これら両群のアリル分布頻度の違いについての比較検討を行った。その結果、D18S843 と D18S1158 で 0.002 という p 値を得た。D18S843 については、双極 I 型障害に限るとより有意な関連が予想された。また、D18S1158 を中心とした約 2cM の領域、D18S819 を中心とした約 1.7cM の領域では複数の近接したマーカーで有意な傾向が見られた。D18S843 の最も近傍に存在する既知遺伝子は *NDUFV2* であることから、今回、双極性障害患者 177 名、健常対照者 191 名による関連解析を行った結果、疾患群における Mutant homozygosity の頻度が、対照群に比して p -value 0.053 で有意に高い傾向が見られた。このことより、*NDUFV2* 遺伝子が、双極性障害の発症メカニズムに何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。

Key words： 双極性障害、マイクロサテライト、DNA、関連研究、D18S843、*NDUFV2*

研究協力者： 飯嶋 良味（国立精神・神経センター精神保健研究所）、福永 貴子（東京女子医科大学第二病院内の医療科）、中平 進（東京高尾病院）、広津 千尋（明星大学理工学部）、青木 敏（東京大学大学院工学系研究科）山内 惟光（社会福祉法人櫻ヶ丘記念病院）、八木 剛平（慶應義塾大学医学部精神科科学教室）、樋口 輝彦（国立精神・神経センター国府台病院）、坂元 薫（東京女子医科大学神経精神科）

A. 研究目的

双極性障害の発症には、社会心理学的要因に加えて遺伝的要因の関与することが古くから示唆されている。最近の大家系あるいは罹患同胞対を用いたゲノムスキャンによって、非常に多く

の連鎖部位が示されているが、そのほとんどは再現性が得られていないのが現状である。もっとも有力な連鎖領域として支持されている箇所のひとつに 18 番染色体動原体付近 40cM の領域がある。その中心部位は 18p11.2-18q12.1 領域であるが、双極性障害は一部を除いて多因子遺伝と考えられているため、連鎖解析ではこれ以上領域を限局し、責任遺伝子座を同定するのは現段階では非常に困難であると思われる。

われわれのグループではこれまでに DNA マイクロサテライトマーカーを用いて精神分裂病に関連する遺伝子の探索をすすめてきているが、本研究では、双極性障害の責任座を同定すべく、この領域にマップされている全ての DNA マイクロサテライトマーカーを用いて、

双極性障害患者群と健常対照者群の症例対照群間比較の関連解析を行った。本研究の目的は、これまでの報告をもとに双極性障害関連遺伝子が存在する可能性が最も高い領域の一つと考えられる 18 番染色体動原体付近 40cM に焦点を絞って、マイクロサテライトマーカーを用いて双極性障害の発症脆弱性に関連する遺伝子座位を探索し、この領域における双極性障害の発症に関連する遺伝子を見いだすことである。さらに今回のマイクロサテライトマーカーを用いた症例対照群間比較研究で、もともと有意な関連の見られたマーカーが D18S843 であったことから、その近傍に位置する遺伝子 *NDUFV2* (NADH dehydrogenase ubiquinone flavoprotein 2-24kD) に存在するアミノ酸変異を伴う SNP について、症例対照群間比較の関連解析を行ったので、その結果について報告する。

B. 研究方法

対象は、文書と口頭で本研究の目的および意義についての説明を行い、書面での同意の得られた東京都内の精神科治療施設に通院または入院中の患者で、DSM-IV 診断基準²⁾で双極 I 型障害または双極 II 型障害と診断された 178 名と、精神疾患に関する遺伝子解析研究に自発的意志により参加を表明した健常対照者のうち、年齢・性別のマッチした 199 名である。

これらの対象者から血液を採取して市販のキットを用いて DNA を抽出し、第 18 番染色体動原体付近 40cM にある 50 の DNA マイクロサテライトマーカーについて、それらを含む部位をそれぞれ特異的な蛍光プライマーを用いて PCR 法により増幅した。ABI 310 Genetic analyzer にて各対象者のマーカーアレルを判定し、両群の各マーカーにおけるアレルの出現頻度をそれぞれ集計した。対象者についてはまず最初に各マイクロサテライトの heterozygosity の出現頻度を各群ごとに算出し、それらが Hardy-Weinberg の平衡法則から得られる理論値との間に有意差 ($p < 0.05$) があるかどうかを調べ、続いて各アレルの出現頻度の比較について双極性障害群と健常者群との間の症例対照群間比較を行った。統計解析は Hirotsu ら (*Biometrics* 57:148-157, 2001) のマイクロサテライト群間比

較検定 (累積 χ^2 と 1-to-others χ^2 の混合型検定) を用いて行い³⁾、Bonferroni の多重比較補正後の有意水準については、 $\alpha < 0.001$ ($=0.05/50$) で有意差あり、 $\alpha < 0.002$ ($=0.1/50$) で有意傾向ありとした。

NDUFV2 遺伝子の SNP 解析については Hanon らの方法に従った⁴⁾。NDUFV2 遺伝子 Exon2 に存在する Ala29Val 変異を含む領域を PCR 法にて増幅後、制限酵素 *Mae* III にて消化し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動-銀染色にて Wild type (Ala) と Mutant (Val) を判別した。両群における変異出現頻度をそれぞれ集計し、2X2、2X3 の χ^2 検定を行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

なお、本研究は、東京女子医科大学および国立精神・神経センター国府台地区における倫理委員会の審査で承認を得て行っている。

C. 研究結果

染色体部位 18p(1.2-18q)12.1 領域全長は約 44cM、28Mb で、マップされているマイクロサテライトマーカーは 55 個あった (UCSC, Marshfield data base 参照)。そのうちの 5 つは解析不能で除外した。マーカー間の平均距離は約 0.8cM、500kb となった。

解析の結果、D18S843 と D18S1158 で *p*-value 0.002 という結果を得た。D18S843 については、双極型に限るとより有意な関連が強まった (*p*-value 0.001)。また、D18S1158 を中心とした約 2cM (500kb) の領域、D18S819 を中心とした約 1.7cM (1.5Mb) の領域では複数の近接したマーカーで有意な傾向が見られた。

D18S843 の最も近傍 (<500kb) に存在する既知遺伝子は *NDUFV2* であることから、この遺伝子内に存在するアミノ酸変異を伴う SNP について、双極性障害患者 177 名、健常対照者 191 名による症例対照群間比較による関連解析を行った結果、双極性障害患者群における Mutant homozygosity の頻度が、健常対照者群に比較して、*p*-value 0.053 で有意に高い傾向が認められた。

D. 考察

今回われわれが行った結果からは、双極性障害群と健常対照群のアレル出現頻度の違いは D18S843 と D18S1158 で有意な差が認められたこ

とから、これらの近傍に双極性障害の発症と何らかの関連を有する遺伝子が存在する可能性が示唆されているものと考えられる。最も有意な差が見られたD18S843の最も近傍 (<500kb) に存在する既知遺伝子は*NDUFV2*であるが、この遺伝子内のアミノ酸変異を伴うSNPが、有意にパーキンソン病と関連していることがHattoriら(1998)によって示されている⁴⁾。今回、双極性障害患者177名、健常対照者191名による関連解析をおこなった結果、疾患群におけるMutant homozygosityの頻度が、対照群に比して*p-value* 0.053で有意に高い傾向が見られたことから、*NDUFV2*遺伝子が、双極性障害の発症メカニズムに何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された。今後は*NDUFV2*遺伝子の機能やそれが双極性障害に及ぼす影響について検討するなど、更に多角的な側面からの検討をすすめる必要があるものと考えられた。

E. 結論

今回の研究結果は双極性障害と*NDUFV2*遺伝子との間に何らかの関連を有する可能性があることを示唆するものと考えられる。

F. 文献

- 1) Kitao Y, Inada T, Arinami T, et al.: A contribution to genome-wide association studies: search for susceptibility loci for schizophrenia using DNA microsatellite markers on chromosomes 19, 20, 21 and 22. *Psychiatric Genetics* 10: 139-143, 2000.
- 2) American Psychiatric Association (Ed.): *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th edition., Washington DC: 1994.
- 3) Hirotsu C, Aoki S, Inada T, Kitao Y: An exact test for the association between the disease and alleles at highly polymorphic loci -With particular interest in the haplotype analysis-. *Biometrics* 57: 148-157, 2001.
- 4) Hattori N, Yoshino H, Tanaka M, Suzuki H, Mizuno Y: Genotype in the 24-kDa subunit gene (*NDUFV2*) of mitochondrial complex I and susceptibility to Parkinson disease. *Genomics* 49: 52-58, 1998.

G. 研究発表論文

- 1) Hori K, Inada T, Tominaga I, Oda T, Teramoto H, Kashima H: Pacing rhythms of "wanderers" with dementia. *Psychogeriatrics* 1 (1): 76-81, 2001.
- 2) Iwata N, Ozaki N, Inada T, Goldman D: An association of a 5-HT_{2A} receptor polymorphism, Pro15Ser, to schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6(2): 217-219, 2001.
- 3) Nakamura A, Inada T, Kitao Y, Katayama Y: Association between catechol-*o*-methyltransferase (COM1) polymorphism and severe alcoholic withdrawal symptoms in male Japanese alcoholics. *Addiction Biology* 6: 233-238, 2001.
- 4) Drube J, Kawamura N, Nakamura N, Komaki G, Ando T, Inada T: No leucine(7)-*to*-proline(7) polymorphism in the signal peptide part of neuropeptide Y (NPY) in Japanese population or Japanese with alcoholism. *Psychiatr Genet* 11 (1): 53-55, 2001.
- 5) Hirotsu C, Aoki S, Inada T, Kitao Y: An exact test for the association between the disease and alleles at highly polymorphic loci -With particular interest in the haplotype analysis-. *Biometrics* 57: 148-157, 2001.
- 6) Ishigooka J, Inada T, Miura S: Olanzapine versus haloperidol in the treatment of patients with chronic schizophrenia: results of the Japan multicenter, double-blind olanzapine trial. *Psychiatr Clin Neurosci* 55: 403-414, 2001.
- 7) Takase K, Ohtsuki T, Migita O, Toru M, Inada T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T: Association of ZNF74 gene genotypes with age at onset of schizophrenia. *Schizophr Res* 52(3): 161-165, 2001
- 8) Inada T, Yagi G, Miura S: Extrapyramidal symptom profiles in Japanese patients with schizophrenia treated with olanzapine or haloperidol. *Schizophr Res*, in press.
- 9) Obata T, Yamanaka Y, Inada T, Kinemuchi H, Oreland L: In vivo generation of hydroxyl radicals and MPTP induced dopaminergic neurotoxicity in the striatum. *Biogenic Amines*, in press.

- 10) 稲田俊也: 遺伝子研究における倫理規定. 分子精神医学 4: 102-105, 2001.
- 11) 飯嶋良味, 北尾淑恵, 稲田俊也: STR マーカ

ーを用いた association study. 分子精神医学
2: 印刷中.

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究：
双極性障害の連鎖領域 21q22.3 における候補遺伝子研究

分担研究者 神庭 重信 山梨医科大学医学部神経症学講座 教授

研究要旨

現在までの連鎖研究により双極性障害において複数のグループから一致した報告のある染色体領域は 21 番の長腕 22.3 にあるマーカー-PFKL から D21S171 である。我々はこの PFKL 近傍にあるカルシウムチャネルタンパク遺伝子 TRPC7 について、双極性障害患者 40 名と健康対照者 40 名において SSCP 法による変異スクリーニングを行なった。その結果、現在までにいくつかの 1 塩基多型を見いだした。そのうちの 1 つは翻訳領域のミスセンス変異であったが、双極性障害との関連は認められなかった。

A. 研究目的

躁うつ病 (気分障害) の成因、とりわけ双極性気分障害に関しては遺伝要因の明かしく示唆されてきた。現在までの連鎖研究により、双極性障害において複数のグループから一致した報告のある染色体領域は 18 番染色体の動原体隔壁部と 21 番の長腕 22.3 にあるマーカー-PFKL から D21S171 である。我々はこの染色体 21 番の PFKL 近傍に新たにクローニングされたカルシウムチャネルタンパク遺伝子 TRPC7 (Transient Receptor Potential related Channels) に注目した。TRPC7 遺伝子は双極性障害の感受性領域に存在すること、機能的にも脳に発現し、躁うつ病患者で異常がわかっているカルシウムチャネルに関連していることから疾患の候補遺伝子としては有望である。我々は TRPC7 遺伝子の変異・多型解析を行い、得られた多型について躁うつ病との関連を検討した。

B. 研究方法

双極性患者 40 名と精神疾患のない健康対照者 40 名の血液より得た DNA を鋳型として TRPC7 遺伝子の 32 エキソンすべてについて定型的な PCR 法により増幅を行った。プライマーは SSCP (single strand conformation polymorphism analysis) での感度が高くなるように、増幅塩基配列が原則として 400 塩基対以下に設定した。得られた PCR 産物を SSCP 法によって変異スクリーニングを行い、direct PCR sequencing により多型を判定した。確認された多型については、双極性患者群 (DSM-IV 診断による) 92 名 (男性 43 名、女性 49 名、平均年齢: 45.8±12.4) と年齢と性を一致させた対照群 92 名 (平均年齢: 47.3±14.1) での頻度を比較した。

(倫理面への配慮)

なお、研究参加者には文書にて説明し、署名による同意を得た。本研究については山梨医科大学倫理委員会による承認を事前に受けている。

C. 結果および考察

SSCP 法を用いて TRPC7 遺伝子の変異を検査し、現在までに翻訳領域の 1 カ所および非翻訳領域に 4 カ所のあわせて 5 部位において 1 塩基置換を確認した。

そのうちエキソン 11 にある多型 (Exon 11) はアスパラギン酸からグルタミン酸にアミノ酸の変化を伴うミスセンス変異であった (Table 2)。他の Int 12, Int 14, Int 16, Int 20 はいずれも非翻訳領域に存在した。

双極性障害患者 92 名と、それぞれの多型の関連をみたが、有意差は認めなかった。

TRPC7 遺伝子は 90kb にわたり 32 のエキソンがあり、1503 アミノ酸残基により構成される。相同性検索から transient receptor potential 蛋白 (trp) ファミリーに属すると考えられる。TRPC7 には 7 回の膜貫通領域が存在することから、trp として Ca²⁺チャネルを形成していると考えられる。気分障害患者にカルシウム動員の異常が認められ、その治療薬がカルシウム動員に調整的に働くことは明らかにされている。

D. 結論

我々が今回見いだした多型については双極性障害との関連は認められなかった。しかし、TRPC7 は候補遺伝子として注目に値する機能を持つことがわかってきたことから、可能ならば連鎖研究の結果が得られた家系のサンプルを直接検査し、新たな多型・変異の発見を試みていきたい。その上で、これらの多型と気分障害の発症との関連を実証したい。

E. 研究発表

1. 論文発表

Yusaka Ono, Juko Audo, Naoko Onoda, Kimio Yoshimura, Shigenobu Kanba, Masami Hirano and Masahiro Asai: Genetic structure of the five-factor model of personality in a Japanese twin population. Keio Journal of Medicine 49(4): 152-158, 2000.

上村拓治, 神庭重信: うつ病の病態生理学. JIM 11(9): 788-791, 2001.

上村拓治, 神庭重信: 気分障害の分子遺伝学. Excerpta Medica Newsletter 2: 7, 2002.

2. 学会発表

神庭 重信: 生物進化からみたこころとその病理. 第 23 回生物学的精神医学会, 長崎, 2001.

神庭 重信: 心の発症発達心理から神経科学まで. 第 97 回日本精神神経学会年会, 大阪, 2001.

分担研究者 染矢俊幸 新潟大学大学院医学総合研究科 精神医学分野 教授

研究要旨

精神分裂症の候補遺伝子として NOTCH4 が注目されている。この遺伝子多型の精神分裂症への影響を調べるため、関連研究および伝達不平衡テストの計画を立てた。

A. 研究目的

精神分裂症の原因は不明であり、約 1%という有病率の高さや社会的機能の低下が慢性化、社会経済的損失および医療福祉コストの負担が極めて大きい。薬物療法の進展により、予後は改善しているものの、難治例が数多く存在する。これまでにいくつかの要因の関与が言われてきているが、遺伝要因が最も大きな因子とされている。精神分裂症発症脆弱性遺伝子は未だ特定されておらず、これを特定することが新たな治療法の開発に大きく貢献するだろう。これまでの精神分裂症の連鎖研究の結果、染色体 6 番短腕領域で連鎖の可能性が指摘されている。また最近、この領域に存在する NOTCH4 遺伝子と精神分裂症との強い関連が英国人の集団で報告された(Wei et al.)。そこで、本分担研究者は、NOTCH4 遺伝子と精神分裂症の関連を日本人の集団で検討する計画を立てた。

B. 研究方法

新潟大学医学部附属病院およびその関連施設に通院もしくは入院中のもので DSM-IV により精神分裂症と診断されたものを対象とする。関連研究では性別と年齢をマッチさせた患者群 200 名、健常対照群 200 名について検討を行う。新潟地域に居住している日本人を対象とする。伝達不平衡テストでは患者とその両親 80 組について検討をおこなう。それぞれ、末梢血から抽出したゲノム DNA を鋳型に、蛍光プライマーを用いた PCR 法で関心領域を増幅し ABI377 で電気泳動し、NOTCH4 遺伝子およびその近傍に存在する(TAA)_n、(CTG)_n、(TTAT)_n の 3 種の繰り返し

配列多型を決定する。これとは別に PCR-RFLP 法により SNP1 と SNP2 の遺伝子型を決定する。統計解析は関連研究では clump プログラム、伝達不平衡テストでは ETDT プログラムを用いる。また、ハプロタイプ解析も行う。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守するよう、新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会に申請中である。

C. 研究結果

前記委員会承認後すみやかに研究計画を実行する。

D. 考察

関連研究では集団の階層化を防ぐため、患者群と対照群で居住地域を共通とし、さらに年齢と性をマッチさせることで正確な検討が可能となる。伝達不平衡テストでは、階層化の影響を排除できる。

E. 結論

Wei et al.の報告後、日本人集団を含めいくつかの研究報告があるが、否定的なものが多い。本研究で NOTCH4 が日本人集団で精神分裂症の遺伝的要因かどうか検討できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

Wei et al. Nature Genetics, 25, 376-377 (2000)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究：
一卵性双生児精神分裂病不一致例における CA リピートマーカ－の差異の検討
分担研究者 辻田高宏 長崎大学医学部精神神経科

研究要旨

一卵性双生児精神分裂病不一致組 5 組のゲノム DNA について、56 の CA リピートマーカ－を用いて双生児間のゲノム差異の検出を試みたが、差異は検出されなかった。今後、隣接するマーカ－間の距離をさらに密にして解析を続ける予定である。

A. 研究目的

この研究の目的は、蛍光標識 CA リピートマーカ－を用いて、一卵性双生児精神分裂病不一致例のゲノムに、疾患への罹患・非罹患に影響する差異を検出しようとするものである。

B. 研究方法

対象は一卵性双生児精神分裂病不一致組 5 組（すべて男性、平均年齢 42.6 歳）と健常一卵性双生児 6 組（男性 4 組、女性 2 組、平均年齢 36.0 歳）である。卵性診断は、Togersen 法（1979）による質問紙法（浅香訳、1983）赤血球抗原・酵素型、血清型、計 7 種および DNA フィンガープリント法による。診断は ICD-10 と DSM-IV も用いて行われた。一卵性双生児の精神分裂病不一致の期間は、すべての組で 10 年以上であった。

ゲノム DNA は、末梢血リンパ球からフェノール法で抽出した。6 番染色体で 22、8 番染色体で 19、13 番染色体で 9、22 番染色体で 6 の合計 56 の CA リピートマーカ－を用いた。PCR の条件は、annealing 55°C 30sec、extension 72°C 30sec、denaturation 95°C 30sec、30cycles を行った。蛍光色素により標識された PCR 産物を Pharmacia ALF DNA sequencer によりフラグメント解析を行った。

なお、本研究は長崎大学医学部倫理委員会が倫理審査・承認を経て、対象者に研究の趣旨を説明し、文書による同意を得て実施した。

C. 研究結果

一卵性双生児精神分裂病不一致組 5 組において、すべての CA リピートマーカ－で PCR 産物のサイズの差異は認められなかった。2 つのマーカ－のみがすべてのマーカ－で homozygous であった。すべて homozygous であったマーカ－は、片親性アイソダイソミ

一の可能性を考える際に、元々 homozygous であるのか、受精後の乗り換えによりアイソダイソミーが生じたのか識別できないため、対象から除外した。結果として少なくとも 54 のマーカ－で分裂病不一致組内での差異はないことが確認された。また、健常一卵性双生児 6 組の双生児間でも差異は認められず、分裂病不一致組との明らかな相違もなかった。

D. 考察

理論的には今回の方法により、受精後の乗り換えにより生じる片親性アイソダイソミーや、染色体の欠失などの染色体異常によるゲノム不一致の一部が検出可能である。特に、片親性アイソダイソミーは、ゲノム刷り込み機構の崩壊による疾患の発症メカニズムのひとつとして知られており、精神疾患の発症に何らかの epigenetic な機構が関与する可能性が提唱されている現在、その検索は意義のあるものと考えている。

E. 結論

今回使用した CA リピートマーカ－では、一卵性双生児精神分裂病不一致例のゲノムに差異は発見されなかった。今後も引き続き全ゲノムを対象に、隣接するマーカ－間の距離をさらに密にして解析を続ける予定である。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Imamura A, Tsujita T, Kayashima T, Oda R, Kikuchi T, Hayashida M, Hamada A, Fujimaru K, Matsumoto S, Hashida A, Nakane Y, Okazaki Y. Lack of association between the hKCa3 gene and Japanese schizophrenia patients. Psychiatr Genet 2001 Dec;11(4):227-

2.学会発表

一卵性双生児精神分裂病不一致例における
CA リピートマーカの差異の検討～第二報
～ 与那城竹亮、辻田高宏、小田利香、茅島
智彦、今村 明、林田雅希、藤丸浩輔、黒滝
直弘、松本俊二、本田あおい、新川韶夫、中
根允文、岡崎祐士、第 23 回日本生物学的精
神医学会、4 月 10-12 日、長崎

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

「機能性精神疾患の系統的遺伝子解析」

分担研究者氏名・所属施設名及び所属施設における職名
丹羽真一・福島県立医科大学医学部神経精神医学教室・教授

研究要旨
精神分裂病の関連遺伝子の検索による病因解明

A. 研究目的

我々の研究目的は、家族性に認められる精神分裂病患者を対象に、共同研究施設での連鎖解析を用いて病因関連遺伝子座位を同定することである。

この研究の背景として、古くから提唱されている精神分裂病におけるモノアミン過剰説がある。遺伝子連鎖解析ではドパミンやセロトンを始めとする神経伝達物質受容体をコードしている遺伝子について盛んに研究されているが現在のところ一定した見解が得られていない。しかし、遺伝子レベルで差異が見られなかったものでも、タンパク質の量的変化、受容体の機能や半減期を変化させるリン酸化や糖鎖付加の翻訳後修飾における異常の可能性を指摘する報告がなされており、精神分裂病の発症および予後判定におけるモノアミン代謝の役割は重要である。

上記のことを踏まえ、モノアミン（ドパミン系、セロトニン系を中心に）代謝に関連する遺伝子座位を手がかりに、連鎖解析を用いて精神分裂病の原因遺伝子座位を共同研究施設と協力しながら同定する。

また、遺伝子解析で得られた遺伝子異常に伴

うタンパク発現に関して、当施設の死後脳解析グループとの共同研究でプロテオーム解析を行い、疾患群に特異的に発現しているタンパクとの比較研究を予定している。

B. 研究方法

1. 精神分裂病の連鎖解析対象の収集

対象は、福島県立医科大学付属病院神経精神科および福島県内の精神科病院に通院あるいは入院している患者のうち、DSM-IVで診断された精神分裂病患者の完全家系（少なくとも2人の兄弟が発病し、家系内に3人以上に精神分裂病が認められ、3世代にわたり1人以上が発症している）、不完全家系（家系内で、2世代にわたり2人以上の精神分裂病が認められる）、sib pair（同胞内に2人以上の精神分裂病が認められる）とし、研究概要を記載した文書を配布すると共に、口頭で説明を行い、患者およびその家族より文書での同意を得る。

2. 採血・DNAの抽出

上記の条件を満たすもので、同意の得られた患者およびその家族より20mlの採血を行い、血液中からリンパ球を分離し、次に分離したリンパ球より細胞内の核質を抽出し、徐タンパク後

に核質より genomic DNA を抽出する。抽出した genomic DNA は TE buffer に溶解し-80°Cの deep freezer に冷蔵保存する。

3. 連鎖解析、候補遺伝子解析

抽出された genomic DNA について、約 100 サンプル（完全家系・不完全家系・sib-pair を含む）を目標に収集し、共同研究機関に送り遺伝子型・連鎖解析を依頼する。

また、収集されたサンプルを用いて、神経伝達物質受容体や神経伝達物質調節素の候補遺伝子（DRD5(4p15.3-15.1), HTR2A(13q14-q21), CYP2D(22q13.1), TH(11p15.5)など）との関連性を追試検討する。

なお、この研究計画については、当院の倫理委員会からの承認を得ている。

C. 研究結果

現在、46 サンプルの抽出が終了しており、そのうち、18 サンプルについては JSSIG の解析分派研究施設に配達済みである。連鎖解析結果については、JSSIG の「P329 Initial genome-wide sib-pair linkage analysis of schizophrenia in Japanese」に報告されている。候補遺伝子の解析に関しては、サンプル収集が目標数に到達次第、開始する予定である。

D. 考察および結論

本実の研究課題を、進めるためには単独の施設での研究は困難であり、サンプル数を増やすため、または解析結果の信頼度を上げる意味でも全国規模の DNA バンクの設立が必要不可欠である。今後のクリアすべき課題としては、診断基準・倫理委員会承認・プライバシー保護の方法などを各施設間で統一することが考えられる。

E. 研究発表

・論文発表

1. 松本出、伊藤雅之、岩崎剛士、丹羽真一
「精神疾患ブレインバンクとは；福島県立医科大学における取り組み」
月刊ぜんかれん、9月号、19~23、2001
2. 丹羽真一
「精神分裂病の最近の研究の進歩」
生体の科学、52(1)、75~85、2001

F. 知的所有権の取得状況

特記すべきことなし

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析：遺伝研究のための
精神科診断面接 DIGS 日本語版信頼性の予備的検討

分担研究者 樋口 輝彦

国立精神・神経センター国府台病院

研究要旨： 機能性精神疾患の系統的遺伝子解析を促進するため、血液試料を収集する精神疾患患者の臨床症状を評価する際に使用する「遺伝研究のための精神科診断面接 DIGS 日本語版」の信頼性の確立を目的とし、本年度はその実用的な使用にあたっての留意点を抽出し目的で予備的検討を行った。精神疾患患者 6 例（精神分裂病 2 例、大うつ病性障害 3 例、双極 II 型障害 1 例）を対象に、3～5 名の評価者による面接面接を施行した。面接に要した 6 例の平均時間は 1 時間 43 分であり、評価者間信頼性については、いずれの症例においても、ほとんどの項目で全員の評価が一致し、予備的検討の範囲内では問題ないものと考えられた。今回の予備的検討の結果、日本の実情にそぐわない設問については、妥当性を損なわない範囲で改訂を行う必要があることや、使用前に十分な評価訓練を行う必要のあること等が指摘された。DIGS 日本語版の評価対象者は、精神疾患多発家系の患者及び家族に限定するのが現実的であると考えられ、その使用上の留意点を遵守して使用することにより、十分に科学的な臨床データを収集することが可能であると考えられた。

Key words： DIGS 日本語版、評価者間信頼性、精神疾患、遺伝、診断面接、GAS

研究協力者： 稲田 俊也(国立精神・神経センター精神保健研究所)、河野 聡明、栗田 廣(東京大学大学院医学系研究科精神保健学分野)、山之内 芳雄、野畑 綾子、尾崎 紀夫(藤田保健衛生大学医学部精神医学教室)、高 国子、上島 国利(昭和大学医学部精神医学教室)、伊豫 雅広(千葉大学大学院医学系研究科精神医学分野)

研究所分子遺伝学研究グループのメンバーによってまとめられたものである。

精神疾患の遺伝子解析研究を行うにあたっては、標準化された構造化面接と操作的な診断基準による診断が重要となるが、DIGS は、既存の診断基準やそれらに対する構造化面接などを参考あるいは引用して作成されており、各種精神疾患の構造化面接に精通した精神科医にとっては親近感の感じられる診断面接と思われる。DIGS は特に遺伝研究における気分障害および精神病性障害の診断評価のために作成されたものであるが、その評価対象者には精神疾患が顕在化していない家族の診断面接も含まれていることから、通常精神科領域ではほとんど検討されることのない分裂病型人

A. 研究目的

遺伝研究のための精神科診断面接 DIGS (Diagnostic Interview for Genetic Studies) は、精神疾患の遺伝研究を行うにあたっての、対象者の背景情報や精神症状を的確に把握するために作成された構造化診断面接であり、米国立精神保健研