

2002-0897 1/2

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉川 武男

平成15（2003）年 4月

## 目次

### I. 総括研究報告

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究 ————— 1

吉川武男

(資料) 1. Strategy-統合失調症、気分障害の感受性遺伝子同定 : 図 1

2. JSSLG 構成メンバー : 表 1

3. JSSLG の連鎖解析に用いた家系および貢献施設 : 表 2

4. 日本人統合失調症連鎖解析の結果 : 図 2

5. Nominal significance level を示した染色体部位 : 表 3

6. TDT 解析で  $P < 0.05$  を示したマーカーおよびその  
マーカーのロッドスコア : 表 4

7. 統合失調症家系の whole genome association scan : 図 3

8. t(18:21)(p11.1;p11.1)と統合失調症が共分離する家系

9. t(18:21)(p11.1;p11.1)の GTG-banding : 図 5

10. FISH analysis of the breakpoint : 図 6

11. Breakpoints on chromosomes 18 and 21 : 図 7

12. JGIMD 構成メンバー : 表 5

13. QTLs influencing immobility times : 図 8

14. Epistatic interaction between two loci : 図 9

15. マウス染色体 11 番とヒトの相同染色体 : 図 10

16. GABRA1 遺伝子の解析結果 : 図 11

17. GABRA6 遺伝子の解析結果 : 図 12

18. AKT1 遺伝子の構造と検出された多型 : 図 13

19. AKT1 遺伝子多型のハプロタイプ : 表 6

20. AKT1 遺伝子多型のハプロタイプ伝達解析結果 : 表 7

### II. 分担研究報告

1. ゲノム解析による精神疾患の関連遺伝子の解明 ————— 35

有波忠雄

2. ChromograninB 遺伝子と双極性障害との遺伝子  
関連研究 ————— 37

稲田俊也		
3. 双極性障害の連鎖領域 21q22.3 における 候補遺伝子研究	—————	41
神庭重信		
4. 統合失調症の分子遺伝学的要因に関する研究	—————	47
染矢俊幸		
5. 一卵性双生児精神分裂病不一致例における CA リピートマーカーの差異の検討～第 2 報～	—————	51
辻田高宏		
6. 双極性障害における ChromograninB 遺伝子の 関連解析	—————	53
樋口輝彦		
7. 15 歳以下発症の統合失調症例における dopamine 関連遺伝子多型解析	—————	57
三辺義雄		
8. 統合失調症の関連遺伝子の検索による病因解明	—————	59
丹羽真一		
9. 家系の収集および遺伝子解析	—————	61
岡崎祐士		
10. 機能性精神疾患の新規関連候補遺伝子に関する 研究	—————	63
西川 徹		
11. 躁うつ病の発症関連遺伝子に関する探索的研究	—————	69
三國雅彦		
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	—————	71
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	—————	81

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

総括研究報告書

機能性精神疾患の系統的遺伝子解析に関する研究

主任研究者 吉川 武男 理化学研究所脳科学総合研究センター

分子精神科学研究チーム チームリーダー

研究要旨

本研究は、機能性精神疾患（統合失調症、気分障害）の発症に関わる感受性遺伝子群を、家系の収集から始めて連鎖解析、連鎖領域の絞り込み、候補遺伝子・候補変異の同定、変異の機能解析と、系統的に追求していく戦略をとっている。連鎖解析に関しては、統合失調症の罹患同胞対家系を収集し、全ゲノムを約 10 cM の密度でスキャンしデータをノンパラメトリック法で解析する作業が完了した。その結果、計 10 本の染色体で  $P < 0.05$  を示す連鎖領域が検出された。また、連鎖不平衡法解析(TDT)では計 1.6 個のマーカーが  $P < 0.05$  を示した。その他、候補遺伝子解析、細胞遺伝学的解析、エピジェネティックの視点からもアプローチした。気分障害のゲノムスキャンに関しては、新倫理基準に対応して家系収集の体制を整えている。その間、精力的に候補遺伝子解析を進めた。最後に、今後も収集を継続する機能性精神疾患のサンプルを我が国の共用財産とすべく、「精神疾患ゲノムバンク」の設立に向け多数のサンプルを収集しリンパ球を株化し保存した。

分担研究者

有波忠雄（筑波大学医学部・助教授）

稲田俊也（名古屋大学・助教授）

岡崎祐士（三重大学医学部・教授）

神庭重信（山梨大学医学部・教授）

染矢俊幸（新潟大学医学部・教授）

辻田高宏（長崎大学医学部・講師）

西川徹（東京医科歯科大学医学部・教授）

丹羽真一（福島県立医科大学・教授）

樋口輝彦（国立精神・神経センター国府台病院・院長）

三国雅彦（群馬大学医学部、教授）

三辺義雄（浜松医科大学、講師）

び統合失調症（精神分裂病）は、比較的発症率が高く（前者のうち躁うつ病に限っても 1%弱、後者も 1%前後）、思春期以降に好発し一旦発症すると患者さんのクオリティーオブライフは一生涯影響を受ける。未だ精神疾患の原因や病気を完治させる方法が知られていないため、患者さんおよびその家族の負わなくてはいけない苦悩や社会としての損失には莫大なものがある。このため早急に疾患のメカニズムを解明し、根本的な治療法や予防法を確立することが求められている。

これまで精神疾患の原因を明らかにするべく、生化学的、薬理学的アプローチをもって甚大な努力がなされてきたが、成功には至っていない。現時点では、疾患の原因

A. 研究目的

機能性精神疾患といわれる気分障害およ

として複数の遺伝子および環境要因、それらの複合的な相互作用が想定されている。原因遺伝子（感受性遺伝子）の多くは弱い効果しか持たないだろうと予想されている。このような状況は他のありふれた疾患（高血圧、糖尿病、アレルギー疾患など）と同じで、複雑遺伝疾患と称される。

精神疾患のような複雑遺伝疾患の感受性遺伝子同定の第1段階として、罹患同胞対家系の収集、それらサンプルを用いたノンパラメトリック連鎖解析により、染色体上の感受性遺伝子領域を検出する可能性が近年指摘されている。さらにヒトゲノム計画もほぼ終了し、連鎖解析後の病因遺伝子同定に至るステップに必要な3-4万ともいわれるヒト遺伝子の配列と構造、詳細な遺伝解析に使えるゲノム上の各種マーカーについての情報が急速に蓄積され、データベース上で利用可能となっている。

以上のような周辺科学の進捗状況を鑑みると、連鎖解析から出発する系統的遺伝子解析がその分子機序を明らかにし、患者さんの福音につながる可能性が高い。

以下、研究方法、研究結果、考察については統合失調症研究と気分障害研究、その他に分けて記述する。

### 【統合失調症研究】

#### B-1. 研究方法・結果・考察

機能性精神疾患の遺伝子同定に向けての大きな作業の流れは以下のような項目から成るが、可能な限り同時進行的多面的アプローチをとるため、各項目は一方向的な流れでなく相互に関連しあい、かつ有機的なつながりを持つ（別添資料図1）。

- (1) 家系の収集
- (2) 連鎖解析
- (3) 連鎖部位の絞り込み

(4) 候補遺伝子の解析

(5) その他のアプローチ（細胞遺伝学的解析、エピジェネティックの視点）

#### (1) 家系の収集について

統合失調症の家系に関しては、ノンパラメトリック連鎖解析を念頭において罹患同胞対とその両親という組み合わせの家系集積をめざした。家系は、全国組織のネットワークである JSSLG (Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group) (代表世話人：岡崎裕士、有波忠雄) を基盤にして収集した。JSSLG の構成メンバーは別添資料表1に記載してある。現在までに収集したサンプルのうち、130家系、148同胞対、計338人を第一次連鎖解析に用いた（別添資料表2）。これらのサンプル収集には、計16施設が貢献した。

なお本研究に際しては、すべてのヒトサンプルについて各担当施設の倫理委員会承認されたプロトコールに基づき、患者とその家族あるいは健常対照者に遺伝子解析研究の趣旨を説明し、文書にて同意が得られたものを対象とした。

#### (2) 連鎖解析

本研究に対する同意の得られた家系構成員から末梢血を採血し、DNAを抽出した。マーカーは CHLC/Weber Human Screening Set Version 9 (Research Genetics, Inc., USA)を用いた。これは、蛍光ラベルされた417個のマイクロサテライトマーカーからなり、全ゲノムを平均10cMでカバーする。コーカソイドにおける平均 heterozygosity は76%である。ゲノムスクランに参加した施設および当初の担当染色体は以下の通りである。

名古屋大学(稲田) - 染色体1番の一部、3番の一部

新潟大学（染矢）－染色体 2 番の一部、6 番の一部、19 番の一部

九州大学（服巻）－染色体 4 番全体、8 番全体、13 番全体、21 番全体、6 番の一部、16 番の一部、17 番の一部、19 番の一部、

筑波大学（有波）－染色体 5 番全体、10 番全体、15 番全体、3 番の一部、9 番の一部、

理化学研究所（吉川）－染色体 7 番全体、11 番全体、12 番全体、1 番の一部、2 番の一部、18 番の一部、20 番の一部

藤田保健衛生大学（尾崎）－染色体 16 番の一部、17 番の一部、18 番の一部、20 番の一部

長崎大学（辻田）－染色体 14 番全体、22 番全体、X 染色体全体、9 番の一部

統計解析は、筑波大学の有波が担当した。

平成 14 年度内に、すべての染色体の解析結果の見直しを含めて作業が完了した。連鎖解析の結果は、別添資料図 2、表 3 を参照。Lander & Kruglyak の基準にもとづく”significant linkage”を示す領域は検出できなかったが、ゲノムワイドの補正なしで  $P < 0.05$  (maximum lod score  $> 0.74$ ) を示した領域として、1q23.3, 2q3.6, 3q23, 4q23, 5q32, 8p12, 9q21.1-21.2, 9q21.31, 14q23.1, 17p12, 20q11.2 の計 10 染色体 11 カ所検出された。これらのうち、1q23.3, 2q3.6, 4q23, 5q32, 8p12, 9q21.1-21.2, 14q23.1, 20q11.2 の 8 カ所は、欧米の先行連鎖解析ですでに報告されているゲノム領域と重なった。次に、transmission disequilibrium test (TDT) を用いて、family-based association test を行ったところ、計 12 染色体 16 マーカーで  $P < 0.05$  の association が示唆された(別添資料表 4)。以上の領域は、今後の追試研究、絞り込み領域の重要な対象となる。

JSSLG としては、参加各施設が平成 13 年 4 月に答申された 3 省庁合同の倫理指針に基づいて研究プロトコールを再申請し、承認された後第 2 次の家系サンプリングを施行している。参加 38 施設殆どが現在 3 省庁合同の倫理指針に基づく倫理委員会の承認を受けている。今後の第 2 次家系集積においては、第 1 次家系数の倍以上の家系収集を目指し統計的検出力を高めていく。

### (3) 連鎖部位の絞り込み

主任研究者の吉川らは、JSSLG とは別に理化学研究所単独で統合失調症のトリオ家系（発症者とその両親）を中心に、119 家系、合計 357 人を収集し、445 個のゲノムワイドマーカーを用いて whole genome association scanning を行った。この結果、全ゲノム上で 14 カ所  $P < 0.05$  の association point を検出した(別添資料図 3)。それらのうち、D1S2697 と D16S423 は JSSLG の TDT 陽性部位とごく近傍にあり、D17S849 は JSSLG の TDT 陽性部位のごく近傍かつ連鎖も陽性である。よって、上記 3 部位は今後の統合失調症感受性遺伝子ハンティングにとって、絞り込みの優先順位が最も高いと考えられる。

### (4) 候補遺伝子の解析

分担研究者の染矢らは、統合失調症罹患者とその両親のトリオ 84 組を収集した。そしてこのパネルを用いて、NOTCH4 という神経発達に関係する遺伝子とセロトニントランスポーター遺伝子の多型の伝達不平衡を解析した。両遺伝子とも TDT で有意差は示さなかった。これは、日本人では両遺伝子の統合失調症発症に及ぼす効果は、あっても小さいことを意味すると考えられる。

分担研究者の三辺らは、15 歳以下の早期

発症統合失調症患者という、より遺伝的要因が大きいと思われるサンプルを収集し、4つのドーパミン関連酵素、tyrosine hydroxylase, dopamine- $\beta$ -hydroxylase, catechol-O-methyl transferase, monoamine oxidase-A と、4つのドーパミン受容体 D1, D2, D3, D4 の遺伝子多型を調べた。しかし、アリル頻度、遺伝子型において 15 歳以下の早期発症統合失調症と健常者間において分布に差異はみられなかった。これらサンプルは生物学的研究にとって非常に貴重であり、今後も収集を続け、大規模研究にもっていけることが望まれる。

分担研究者の西川らは、幻覚惹起物質が小児期では精神症状を引き起こさず、統合失調症の発症時期と一致する思春期以降に精神病様状態を引き起こしやすいという事実注目し、この現象に対応するものとして、離乳期以降のラットで methamphetamine 逆耐性が生じやすい事実を確認した。そして、methamphetamine 逆耐性に伴って発現が上昇する遺伝子の 1 つとして、ラット大脳新皮質から mrt1 (methamphetamine responsive transcript 1) をクローニングし、かつヒト相同遺伝子 MRT1 を同定しその解析を行った。そして、ヒト MRT1 の 2 つの splice variant MRT1A 並びに MRT1B 遺伝子の全長を決定した。さらに、遺伝子のゲノム構造を決め、コーディング領域並びにその近傍のイントロン配列の変異検索を約 100 例の統合失調症患者を用いて行った。その結果、11 個の SNP を同定した。引き続きプロモーター領域約 3 Kb を解析し、さらに計 6 個の SNP を発見された。今後は、これらの SNP 用いたヒト遺伝解析に興味を持たれる。

#### (5) 細胞遺伝学的解析

主任研究者の吉川らは、バランス型転座 t(18;21)(p11.1;p11.1) と統合失調症が共分離する家系サンプル (別添資料図 4, 5) を解析し、染色体 18 番および 21 番の切断点をまたぐ bacterial artificial chromosome (BAC) クローンを fluorescence in situ hybridization 分析を繰り返して同定した (別添資料図 6, 7)。それら BAC クローンのシーケンス解析を行ったところ、両切断点とも特定の遺伝子は存在せず、繰り返し配列および偽遺伝子に覆われていることが判明した。染色体 18p11 領域は、統合失調症と双極性障害の両方で連鎖、関連が報告されている領域であるため、転座によって染色体 18p11 領域が染色体 21 番の動原体領域につながることによって、18p11 に載っている遺伝子群の転写に影響を与え、それが精神疾患発症の基盤になっていることが推測された。

#### (5) 一卵性双生児統合失調症発症不一致例の解析

分担研究者の辻田らは、統合失調症発症のメカニズムとしてゲノムの後成的変化 (epigenesis) という観点からアプローチしている。一卵性双生児統合失調症発症不一致サンプルを 5 組収集し、20 本の染色体につき合計 227 個の CA リポートマーカーを用いてゲノム構造の差異を探索した。現在まで変化は見いだせていないが、今後も対象とする染色体を広げまたマーカー密度を細かくして検討を続けていく。

分担研究者の岡崎らも、一卵性双生児統合失調症発症不一致サンプルを 2 組収集し、遺伝子発現の差異を見いだすべくマイクロアレイ解析を行った。現在データを解析中である。

## 【気分障害研究】

### B-2. 研究方法・結果・考察

気分障害に関しては下記の項目別に説明する。

- (1) 家系の収集状況
- (2) 動物モデルからの感受性領域の探索
- (3) 連鎖部位の絞り込み
- (4) 候補遺伝子の解析

#### (1) 家系の収集状況

気分障害に関しては、JGIMD (Japanese Genetic Initiative for Mood Disorders) を組織し (別添資料表 5)、全国規模で患者家系を収集する体制を立ち上げたが、ヒトゲノム研究に関して 3 省庁合同の新しい倫理基準が発表されたため、各参加施設に新基準に基づく倫理委員会の設置、研究プロトコルの申請を依頼した。現在までに倫理委員会の承認が得られた施設は以下の 24 施設であり、罹患同胞、トリオ、case-control のサンプル収集を開始している。

- ・札幌医科大学
- ・北海道大学
- ・国立療養所南花巻病院
- ・東北大学
- ・群馬大学
- ・新潟大学
- ・筑波大学
- ・山梨医科大学
- ・国立精神・神経センター
- ・東京医科歯科大学
- ・東京都精神医学総合研究所
- ・理化学研究所
- ・東京都精神医学研究所
- ・東邦大学
- ・東京女子医科大学
- ・浜松医科大学
- ・藤田保健衛生大学

- ・名古屋大学
- ・三重大学
- ・岡山大学
- ・山口大学
- ・産業医科大学
- ・九州大学
- ・九州大学遺伝情報研究施設

将来のバンク事業への委譲の同意が得られ、株化しているサンプルは、現在までに同胞家系 3 家系、トリオ 23 家系、合計 103 サンプルである。今後は他の JGIMD 参加施設も 3 省合同倫理指針の承認を取っていくので、サンプルの収集は加速すると思われる。

#### (2) 動物モデルからの感受性領域の探索

主任研究者の吉川らは、マウスでうつ脆弱性に関係すると考えられている強制水泳テスト (FST) における無動時間と尾懸垂テスト (TST) における無動時間を規定している遺伝子座位を決定するために、quantitative trait loci (QTL) 解析の手法を用いた。まず 4 種類の近交系マウスを調べたところ、両テストにおける無動時間は C3H/He で最も短く (ストレス条件下で絶望しにくい)、C57BL/6 で最も長かった (絶望しやすい)。そこでこれら 2 種のマウスから F2 個体を 560 匹作成し、全個体について両テストを施行するとともに、各個体について全ゲノムをカバーする 120 個のマイクロサテライトマーカーを用いてゲノムスクランを行った。その結果、FST の無動時間を規定する主要座位として 5 箇所、TST の無動時間を支配する座位として 4 箇所検出できた。これらのうち、マウス染色体 8 番と 11 番の部位は両テストでオーバーラップ (別添資料図 8) していた。また遺伝子間相互作用の検討では、TST の無動時間



を支配する座位として、染色体6番と11番、11番とX染色体のエピスタシスの存在が明らかとなった（別添資料図9）。以上の結果より、多次的に関与が示されたのはマウス染色体のD11Mit271近傍で、これはヒト染色体5番長腕の5q32-35に相当する（別添資料図10）。この領域には、 $\gamma$ アミノ酪酸（GABA）受容体遺伝子のクラスターがあり、このクラスターにはGABAA受容体 $\gamma$ 2サブユニット遺伝子（GABRG2）、 $\beta$ 2サブユニット遺伝子（GABRB2）、 $\alpha$ 1サブユニット遺伝子（GABRA1）、 $\alpha$ 2サブユニット遺伝子（GABRA2）、 $\alpha$ 6サブユニット遺伝子（GABRA6）が含まれる。GABAは神経抑制性伝達物質として中枢神経系や精神活動に関与しており、様々な精神疾患と関連が示唆されている。うつ病患者では脳脊髄液や血漿中のGABA濃度の低下などが見られ、気分障害の“GABA仮説”が提唱されている。また、5q32-35はEdenbergらが1997年にNIMH家系を使って双極性障害の連鎖を報告した領域としても興味を持たれる。

以上のような経緯から、主任研究者の吉川らはヒト気分障害で、GABRA1、GABRA2、GABRG2遺伝子を解析した。GABRG2は気分障害へのassociationが見られたなかったが、GABRA1、GABRA2上の多型は互いに連鎖不平衡にあり、それらは特に女性患者でassociationが観察された（別添資料図11、12）。この結果は、マウスQTL解析で染色体11番上のQTLがX染色体とepistatic interactionする事実と考え合わせると興味深い。

### （3）連鎖部位の絞り込み

分担研究者の有波らは、昨年引き続き染色体5q34-35の高密度マッピングによる

絞り込み作業を行い、今年度は日本人気分障害患者（双極性24人）を対象として、GABRA1、GABRG2、GABRB2、GABRA6のexon-intron junctionを含む全てのexon及び、5'上流配列約1000bpについて変異検索を行った。変異検索の結果、GABRA1遺伝子に14ヶ所、GABRG2遺伝子に3ヶ所、GABRB2遺伝子に2ヶ所の一塩基置換多型（SNP）やマイクロサテライト多型を検出した。多型はいずれもイントロンや非翻訳領域に存在するか同義的置換であった。そのうち、変異型の対立遺伝子頻度が10%以上の9種類のSNPsについて遺伝子型を決定した。GABRA1遺伝子156T/C多型において患者群と対照群でアリル頻度に差が認められたため、GABRA1遺伝子の5つの多型についてハプロタイプ解析を行ったところ、症例・対照間で有意差が認められた。また、このハプロタイプは新規に検出した第2イントロンのIVS2-712(GT)nと156T/C多型のハプロタイプとほぼ完全な連鎖不平衡にあり、IVS2-712(GT)n-156T/Cハプロタイプでも、関連は有意だった。関連を確認するため、NIMH PedigreesでTDT、PDTを行ったところ、気分障害との関連を支持する結果を得た。これらの結果は、主任研究者の吉川らの結果と合わせて、GABRA1遺伝子との気分障害との関連が示唆されたと結論される。ただ、吉川ら、有波らの研究で検出された気分障害と関連する多型およびハプロタイプはそれ自体ではアミノ酸の一次構造を変えると予想される変異ではないので、機能的変異を見いだすことが今後の課題である。

### （4）候補遺伝子の解析

主任研究者の吉川らは、躁うつ病の治療薬であるリチウムによって活性の影響を受

ける遺伝子群に注目し、平成 14 年度は Akt1 遺伝子を解析した。Akt1 は serine/threonine kinase であり、CNG bipolar pedigree で連鎖が報告されている染色体 14q32.3 に位置する。CNG bipolar pedigree (22 の大家系、合計 384 人) で変異検索を行ったところ、14 の多型を見いだした (別添資料図 13)。それらの多型を用いてハプロタイプ伝達解析を行ったところ、 $P < 0.038$  を得た (別添資料表 6, 7)。今後、独立したサンプルでの再現研究が待たれる。

分担研究者の神庭らは、気分障害に関して数多くの連鎖解析で連鎖が報告されている染色体 21 番長腕より TRPC7 というカルシウムチャンネル関連遺伝子を取り上げ、変異検索を行った。TRPC7 は非常に大きな遺伝子で、ゲノム上で 90 kb におよび 32 エクソン、1503 アミノ酸よりなる。すべてを解析した結果、5 つの SNPs (1 つはアミノ酸変化を伴う) を同定した。それら多型を昨年よりサンプル数を増加し、日本人双極性気分障害 92 名、コントロール 92 名で関連解析をした。有意差は認められなかったが、NIMH 躁うつ病家系では TRPC7 を含む領域に連鎖が報告されているので、今後はこの家系を調べることに興味を持たれる。

分担研究者の樋口、稲田らは、統合失調症を対象とした DNA マイクロサテライトマーカーを用いたゲノムスキャンにおいて、有意な差がみられた 20 番染色体上のマーカー D20S95 の最も近傍に存在する Chromogranin B 遺伝子の変異検索を行い、Exon 4 内に見出した変異型のうち、

1) 中国人統合失調症患者を対象とした研究で有意な関連が報告された 433G/A 変異、533G/A 変異を含む前半 6 個の遺伝子変異型クラスター

および、

2) 日本人統合失調症との間に有意な関連が認められた 1058G/C, 1104G/A, 1250G/A 変異を含む後半 5 個の遺伝子変異型クラスター

について、双極性障害 178 名と健常対照者 192 名を対象として症例群間比較を行った。その結果、いずれの遺伝子多型においても症例対照間に有意な関連は見いだせなかったが、今後さらに症例数をふやし、検討する予定である。

分担研究者の三國らは、Wolfram 症候群の原因遺伝子を調べた。Wolfram 症候群は糖尿病や視神経萎縮を来す常染色体劣性の遺伝性疾患であるが、この疾患には高率に精神疾患を合併することが知られており、原因遺伝子 WFS1 は双極性障害の連鎖領域の一つである 4 番染色体短腕 16 にマップされている。三國らは WFS1 遺伝子を双極性障害の発症脆弱性に関わる候補遺伝子と考え、双極性障害患者 47 名と対照群 192 名とで関連研究を行った。これまでの研究で、患者群において exon 領域に 12 の一塩基置換 (SNPs) を見出したが、それぞれの SNP 頻度は患者群と対照群とで差が見られなかったため、今回さらに intron や WFS1 遺伝子の上流、下流の領域も含めスクリーニングを行うことによりさらに 18 の SNPs と 2 つの欠失変異を見出した。これらの SNPs のうち、16 個は新規のものであった。見出された全ての SNPs のうち、高頻度に見られるものについて連鎖不平衡の検定を行い、haplotype を構築してそれぞれの型について頻度を比較したところ、有意差は見いだせなかった。しかしながら、WFS1 遺伝子多型や連鎖不平衡・ハプロタイプの知見は、双極性障害のみならず、第 4 番染色体短腕上にマップされた他

の遺伝性疾患の遺伝学的解析においても有用であると考えられる

#### 【精神疾患ゲノムバンク】

リンパ芽球株化作業体制、株化細胞保存体制などゲノムバンクのハード面の整備は整った。実質的にゲノムバンク用のサンプルの収集およびそれらの株化は、平成14年8月より本格的に稼動したが、約半年間で157サンプルを株化、保存した。このうち、気分障害は103サンプル、統合失調症は54サンプルである。

#### C. 統合失調症および気分障害研究の総合結論

統合失調症の罹患同胞対家系を収集し、平成12年度から全ゲノムを約10 cMの密度でスキャンを開始し、平成14年度にはすべての一次解析が完了した。”significant linkage”を示す領域は検出できなかったが、ゲノムワイドの補正なしで  $P < 0.05$  (maximum lod score  $> 0.74$ )を示した領域として、1q23.3, 2q3.6, 3q23, 4q23, 5q32, 8p12, 9q21.1-21.2, 9q21.31, 14q23.1, 17p12, 20q11.2の計10染色体11カ所検出された。これらのうち、1q23.3, 2q3.6, 4q23, 5q32, 8p12, 9q21.1-21.2, 14q23.1, 20q11.2の8カ所は、欧米の先行連鎖解析ですでに報告されているゲノム領域と重なった。これらのデータは、今後日本で行われる統合失調症の遺伝子研究の重要な科学的基盤を与えると考えられる。今後、さらに家系を集積を続け感受性領域を絞り、感受性遺伝子の同定にたどり着くことが期待される。気分障害に関しては、3省合同倫理指針を満たした施設から家系の収集を開始した。また、動物モデルのゲノム解析より出発して、ヒト感受性遺伝子候補の有用な情報を

得て、実際ヒトでの遺伝子解析を行い興味ある結果を得ることができた。統合失調症、気分障害の両疾患に関して、候補遺伝子、候補染色体領域の解析からもいくつかの興味ある知見を得た。

連鎖研究の出発点となる家系収集は1つ1つの研究室レベルではとても不可能である。今後とも全国レベルの共同研究組織であるJSSLG, JGIMDを維持、充実、発展させて行く必要があると考えられる。そして、収集した貴重なサンプルはバンクに提供できるようにして、全国の研究者の共通財産としていく。

#### D. 研究発表

1. Toyota, T., Hattori, E., Meerabux, J., Yamada, K., Saito, K., Shibuya, H., Nankai, M., Yoshikawa, T.: Molecular analysis, mutation screening, and association study of adenylyl cyclase type 9 gene (ADCY9) in mood disorders. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genet.* 114: 84-92, 2002.
2. Yoshikawa, T., Watanabe, A., Ishitsuka, Y., Nakaya, A., Nakatani, N.: Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for “behavioral despair” in mice. *Genome Research* 12: 357-366, 2002.
3. Akanuma, N., Saitoh, O., Yoshikawa, T., Matsuda, H., Ishikura, N., Kato, M., Adachi, N., T. Onuma, T.: Interictal schizophrenia-like psychosis in a patient with double cortex syndrome. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 14: 210-213, 2002.

4. Reyes, G. D., Esterling, L. E., Corona, W., Ferraren, D., Rollins, D. Y., Padigaru, M., Yoshikawa, T., Monje, V., D., Detera-Wadleigh, S. D.: Map of candidate genes and STSs on 18p11.2, a bipolar disorder and schizophrenia susceptibility region. *Mol. Psychiatry* 7: 337-339, 2002.
5. Toyota, T., Yamada, K., Saito, K., Detera-Wadleigh, S. D., Yoshikawa, T.: Association analysis of adenylate cyclase type 9 gene using pedigree disequilibrium test in bipolar disorder. *Mol. Psychiatry* 7: 450-452, 2002.
6. Hattori, E., Yamada, K., Ebihara, M., Toyota, T., Nankai, M., Shibuya, H., Takeo Yoshikawa, T.: An association study of the short tandem repeat in the 5' upstream region of the cholecystokinin gene with mood disorders in the Japanese population. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genet.* 114: 523-526, 2002.
7. Ebihara, M., Ohba, H., Ohno, S., Yoshikawa, T.: Genomic organization and promoter analysis of the human nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 6$  subunit (*CHNRA6*) gene: *Alu* and other elements direct transcriptional repression. *Gene* 298: 101-108, 2002.
8. Ohtsuki, H., Ishiguro, H., Detera-Wadleigh, S.D., 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* 7: 954-961, 2002.
9. Yoshitsugu, K., Meerabux, J.M.A., Asai, K., Yoshikawa, T.: Fine mapping of an isodicentric Y chromosomal breakpoint from a schizophrenic patient. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genet.* 114B: 27-31, 2003
10. Iwayama-Shigeno, Y., Yamada, K., Toyota, T., Shimizu, H., Hattori, E., Yoshitsugu, K., Fujisawa, T., Yoshida, Y., Kobayashi, T., Toru, M., Kurumaji, A., Detera-Wadleigh, S., Yoshikawa, T.: Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese schizophrenic patients. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genet.* 118B: 20-24, 2003
11. Ebihara, M., Ohba, H., Hattori, E., Yamada, K., Takeo Yoshikawa, T. Transcriptional activities of cholecystokinin promoter haplotypes and their relevance to panic disorder susceptibility. *Am. J. Med. Genet. Neuropsychiatric Genet.* 118B: 32-35, 2003
12. Toyota, T., Yamada, K., Detera-Wadleigh, SD, Yoshikawa, T. Analysis of a cluster of polymorphisms in *AKT1* gene in

- bipolar pedigrees: a family-based association study. *Neurosci. Lett.* 339: 5-8, 2003
13. Kikuchi, M., Yamada, K., Toyota, T., Itokawa, M., Hattori, E., Yoshitsugu, K., Shimizu, H., Yoshikawa, T. Two-step association analyses of the chromosome 18p11.2 region in schizophrenia detect a locus encompassing C18orf1. *Mol. Psychiatry* (in press)
  14. Arinami T., Ishiguro H., Minowa Y., Ohtsuki T., Tsujita T., Imamura, A., Yoshikawa T., Toyota T., Yamada K., Shimizu H., K Yoshitsugu K., Shibata H., Fujii Y., Fukumaki Y., Tashiro N., Inada T., Iijima Y., Kitao Y., Furuno T., Someya T., T Muratake T., Kaneko N., Tsuji S., Mineta M., Takeichi M., Ujike H., Takehisa Y., Tanaka Y., Nakata K., Kitajima T., Nishiyama T., Yamanouchi Y., Iwata N., Ozaki N., Ohara K., Ohara K., Suzuki Y., Shibuya H., Ohmori O., Shinkai, T. Hori H., Nakamura J., Kojima T., Takahashi S., Tanabe E., Yara K., Nanko S., Yoneda H., Kusumi I., Kameda K., Koyama T., Fukuzako H., Hashiguchi T., Tanabe K., Okazaki Y. Initial genome-wide scan for linkage with schizophrenia in the Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group (JSSLG) families. *Am. J. Med. Genet. (Neuropsychiatr. Genet.)*, in press
  15. Itokawa M., Yamada K., Yoshitsugu K., Toyota T., Suga T., Ohba H., Watanabe A., Hattori E., Shimizu H., Tetsuo Kumakura T., Ebihara M., Meerabux J.M.A., Michio Toru M., Yoshikawa T. A microsatellite repeat in the promoter of the NMDA receptor 2A subunit (*GRIN2A*) gene suppresses transcriptional activity and correlates with chronic outcome in schizophrenia. *Pharmacogenetics*, in press
  16. Segurado R., Detera-Wadleigh S.D., Levinson D.F., Lewis C.M., Gill M., Nurnberger J.I.Jr., Craddock N., Raymond DePaulo J., Baron M., Gershon E.S., Ekholm J., Cichon S., Tureck G., Claes S., Kelsoe J.R., Schofield P.R., Badenhop R.F., Morissette J., Coon H., Blackwood D., Curtis D., McInnes L.A., Foroud T., Edenberg H.J., Reich T., Rice J.P., Goate A., McInnis M.G., McMahon F.J., Badner J.A., Goldin L.R., Bennett P., Willour V.L., Zand P.P., Jianjun Liu J., Gilliam C., Juo S-H., Wade H. Berrettini W.H., Yoshikawa T., Peltonen L., Lonndnqvist J., Nothen M.M., Schumacher J., Windemuth C., Rietschel M., Propping P., Maier W., Alda M., Grof P., Rouleau G.A., Del-Favero J., Van Broeckhoven C., Mendlewicz J., Adolfsson R., Spence M.A., Luebbert H., Adams L.J., Donald J.A., Mitchell P.B., Barden N., Shink E., Byerley W., Muir W., Visscher P.M., Macgregor S., Gurling H., Kalsi G., McQuillan A., Escamilla M.A., Reus V.I., Leon P., Freimer N.B., Ewald H.,

- Kruse T.A., Mors O., Radhakrishna U., Blouin J-L., Antonarakis S.E., Akarsu N. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder part III: bipolar disorder. *Am. J. Hum. Genet.* in press
17. 山田和男、吉田祐加子、岩山佳美、豊田倫子、服部栄治、吉川武男：精神分裂病家系を用いた染色体18番の疾患感受性座位の同定—伝達連鎖不平衡テストによる遺伝統計学的処理の比較—。脳と精神の医学、13：305-315, 2002.
  18. 糸川昌成、吉川武男：遺伝医学と診断—精神科臨床への分子遺伝学の応用—。季刊精神科診断学、Vol. 13, No. 2, 125-130, 日本評論社、東京、2002.
  19. 吉川武男、石塚祐一、中谷紀章、渡辺明子：気分障害（うつ病）の遺伝的基盤—動物モデルのQTL解析。Molecular Medicine、Vol. 40, No. 3, 280-287、中山書店、東京、2003.
  20. 服部栄治、吉川武男：統合失調症の候補遺伝子および連鎖領域の多型解析。Schizophrenia Frontier、Vol. 4, No. 1, 12-17、メディカルレビュー社、東京、2003.
  21. 中谷紀章、吉川武男：動物モデルを用いたうつ病感受性遺伝子群同定のアプローチ。日本神経精神薬理学雑誌、Vol. 23, 2003（印刷中）。
  22. 中谷紀章、油谷浩幸、飯嶋友紀、仙波純一、吉川武男：うつ病モデル動物を用いたうつ病感受性遺伝子群の探索。精神薬療研究年報、第34集：229-236, 2002.
  23. 中谷紀章、油谷浩幸、飯嶋友紀、西村

邦裕、仙波純一、茂野佳美、吉川武男：うつ病モデル動物の遺伝子発現プロファイリング。精神薬療研究年報、in press.

E. 知的所有権の取得状況

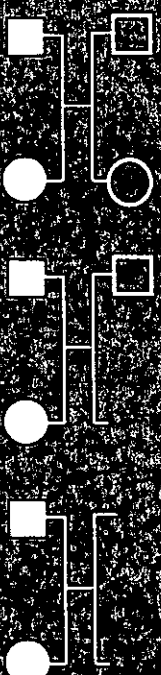
なし。

# Strategy—統合失調症、気分障害の感受性遺伝子同定

## 連鎖解析

候補領域 10~30 cM

- 家系の収集—全国規模、新倫理指針
- ゲノムスキャン



## 高密度マッピング by TDT

候補領域 50~1000 kb

## 機能からの類推

## 細胞遺伝学的解析

## 動物モデルの解析

## 候補遺伝子

図 1

- 多型スクリーニング
- Association Study
- 機能解析

表 1—1：日本人精神分裂病患者の遺伝子解析共同研究(JSSLG)参加者および  
顧問名簿

(2002.04.11 現在 38 施設)

所属施設名	職	研究者名
北海道大学・医学部・精神医学講座	講師	久住一郎
札幌医科大学・神経精神医学教室	教授	斎藤利和
弘前大学医学部・神経精神医学教室	教授	兼子 直
国立花巻療養所	部長	大原浩市
東北大学大学院神経科学（精神神経生物学）	教授	曾良一郎
福島県立医科大学・神経精神医学教室	教授	丹羽真一 ○
自治医科大学・精神医学教室		丹生谷正史
筑波大学・基礎医学系・遺伝医学	助教授	有波忠雄 ◎
群馬大学医学部神経精神医学教室	教授	三國雅彦
獨協医科大学精神神経医学教室	教授	秋山一文
RIKEN・BSI・分子精神科学研究チーム	チームリーダー	吉川武男
RIKEN・BSI・精神疾患動態研究チーム	チームリーダー	加藤忠文
国立精神神経センター神経研究所疾病研究第三部	部長	功刀 浩
東京都精神医学総合研究所		（曾良先生推薦予定）
日本大学・医学部・精神医学教室	教授	小島卓也 高橋 栄
帝京大学・医学部・精神神経科学教室	教授	南光進一郎
東京大学・保健管理センター・精神科	助教授	佐々木司
順天堂大学・医学部・精神医学教室	教授	新井平伊
東邦大学・医学部・精神神経医学教室	助教授	中村道子
国立精神神経センター・精神保健研究所	室長	稲田俊也 ○
千葉大学医学部精神医学教室	教授	伊豫雅臣
東海大学医学部精神医学教室		山本賢司
新潟大学・医学部・精神医学教室	教授	染矢俊幸 村竹辰之
富山医科薬科大学医学部・神経精神医学教室	教授	倉知正佳
浜松医科大学・精神神経医学教室	助教授	武井教使
	教授	森 則夫
藤田保健衛生大学・医学部・精神医学教室	教授	尾崎紀夫 ○
三重大学・医学部・精神神経科学教室	教授	岡崎祐士 ◎
大阪医科大学・神経精神医学教室	教授	米田 博 ○



表 1—2

岡山大学・医学部・精神神経医学教室	講師	氏家 寛 ○
産業医科大学・精神医学教室	教授	中村 純
	講師	大森 治
九州大学・医学部・精神病態医学教室	教授	田代信維
	講師	川崎弘詔
九州大学・遺伝情報実験施設	教授	服巻保幸
久留米大学・医学部・神経精神医学教室		原野睦雄
佐賀医科大学・精神医学教室	教授	山田茂人
		峯田 聖
長崎大学・医学部・精神神経科学教室	講師	辻田高宏○
		今村 明
大分医科大学・精神神経医学教室	助教授	穂吉條太郎
鹿児島大学・医学部・神経精神医学教室	講師	福迫 博
琉球大学医学部精神神経科学教室	助教授	平松謙一

(○：世話人； ◎代表世話人)

顧問： 大石道夫（かずさ DNA 研究所所長）  
 金澤一郎（国立精神神経センター神経研究所所長）  
 高橋清久（国立精神神経センター総長）  
 辻 省次（新潟大学脳研究所教授）  
 中村祐輔（東京大学医科学研究所教授）  
 新川詔夫（長崎大学医学部教授）

表 2 : JSSLG の連鎖解析に用いた家系および貢献施設

Linkage Group (JSSLG)		(No. of parents)					
Center (in order from north to south)	Family no.	Both parents		One parent		No parent	
		(No. of sibs with schizophrenia)					
		2	3	2	3	2	3
Hokkaido University	2	0	0	0	0	1	1
Niigata University	4	0	0	1	0	3	0
University of Tsukuba	11	0	0	0	2	9	0
RIKEN Brain Science Institute	7	5	0	2	0	0	0
NCNP	8	0	0	0	0	8	0
Nihon University	4	1	0	0	0	2	1*
Teikyo University	4	0	0	2	0	2	0
Hamamatsu University	9	3	0	4	0	2	0
Fujita Health University	9	0	0	0	0	8	1
Osaka Medical College	4	0	0	0	0	4	0
Okayama University	19	0	0	1	0	17	1
University of Occupational and Environmental Health	10	1	0	0	0	9	0
Kyushu University	2	0	0	0	0	2	0
Saga Medical School	19	5	1	3	1	8	1*
Nagasaki University	17	6	0	6	1	3	1
Kagoshima University	1	0	0	0	0	1	0
Total	130	21	1	19	4	79	6

\*Two affected sibs and one unaffected sib.

図2：日本人統合失調症連鎖解析の結果

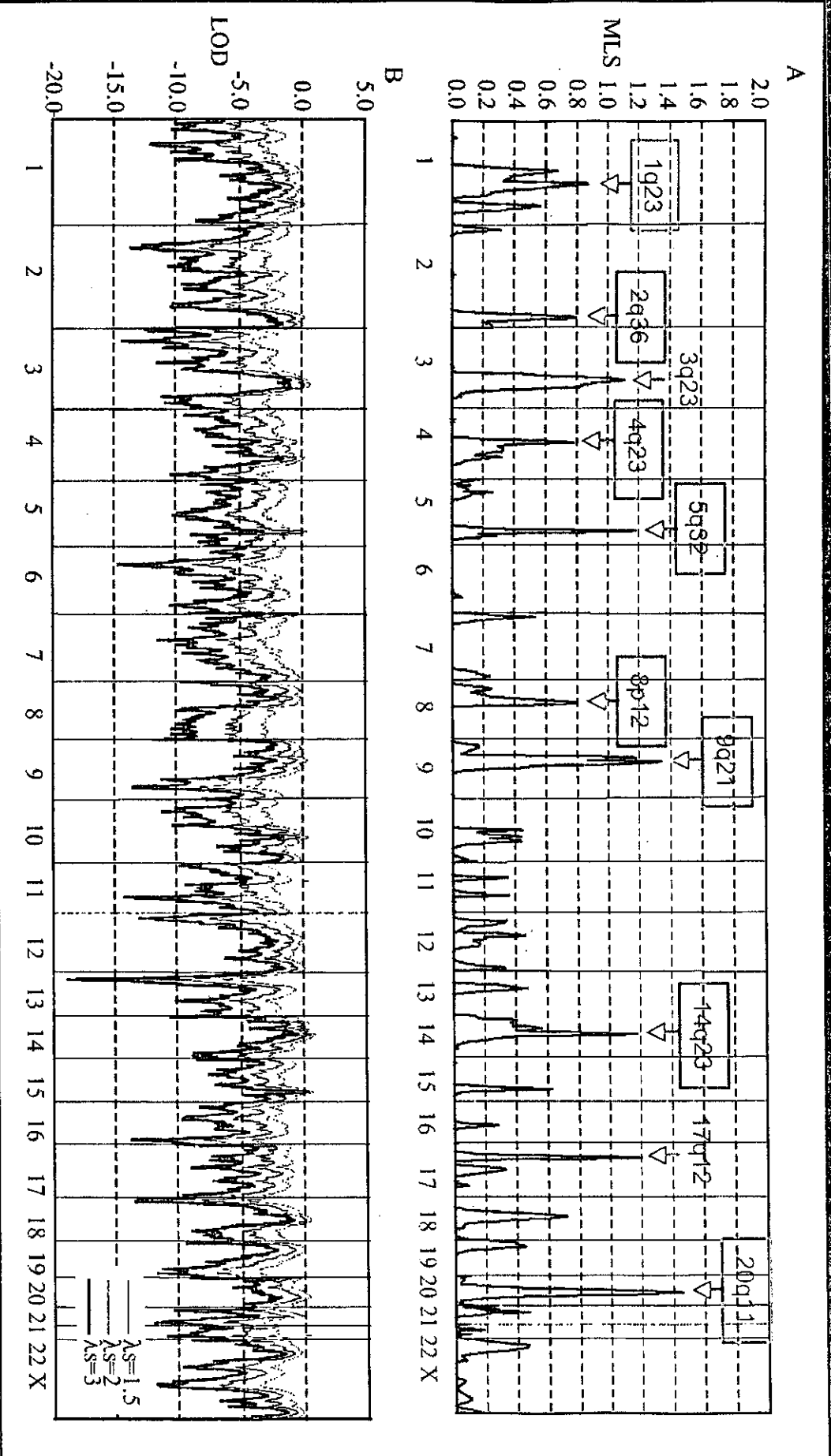


表 3 : nominal significance level (MLS > 0.74)を示した染色体部位

Chromosome region	cM from pter marker	MLS	% IBD sharing	Nearest marker, distance from pter marker (cM)
1q23.3	204.6	0.87	0.56	D1S1677 204.6 cM
2q36.3	305.4	0.79	0.56	D2S427 305.4 cM
3q23	184.0	1.11	0.59	D3S1764 182.3 cM
4q23	114.4	0.78	0.56	D4S1647 104.9 cM
5q32	171.3	1.18	0.57	D5S2013 171.3 cM
8p12	74.6	0.80	0.57	D8S1110 80.1 cM
9q21.1-q21.2	67.2	1.18	0.58	D9S301 62.8 cM
9q21.31	80.3	1.34	0.58	D9S922 80.3 cM
14q23.1	63.5	1.17	0.57	D14S592 63.5 cM
17q12	46.0	1.20	0.57	D17S947 46.0 cM
20q11.2	55.2	1.46	0.58	D20S478 58.2 cM