

「自殺念慮に関与する神経回路機能障害の神経栄養因子による
修復の分子機構解明と治療・予防薬開発に関する研究」

分担研究者 染矢俊幸 新潟大学大学院医歯学総合研究科精神医学分野 教授

研究要旨：自殺の背景にはうつ病や統合失調症の存在が高率に認められ、その病態解明は自殺予防に重要である。統合失調症の死後脳研究ではサイトカインと神経栄養因子およびその受容体タンパクの発現異常が報告されている。脳内サイトカインは神経発達に重要な役割を果たすことから、神経発達過程におけるサイトカインの異常が統合失調症の病態に関与している可能性がある。本研究では、幼若期に白血病阻止因子(LIF)を慢性に末梢投与したラットの生化学的、行動学的な解析を行った。LIF末梢投与により脳内のリン酸化STAT3が誘導され、前頭皮質のアストロサイトが増殖されることから、末梢投与されたLIFが脳に作用していることが示された。幼若期LIF投与ラットは若年期における運動量の減少、成長過程におけるPPIの低下を示したが、学習機能の障害は認めなかった。PPIの異常は統合失調症などの精神・神経疾患で認められ、脳内情報処理回路の障害を反映していると考えられている。幼若期LIF投与ラットは、神経発達において神経回路機能が障害され、成長過程における行動異常を呈するものと推察される。本研究の結果から、幼若期LIF投与ラットは統合失調症のモデル動物となる可能性が示唆された。

研究協力者	所属施設名及び職名
渡部雄一郎	新潟大学大学院
外山 英和	新潟大学大学院
柿田 明美	新潟大学脳研究所 助教授
那波 宏之	新潟大学脳研究所 教授

すると考えられる。うつ病や統合失調症の病態にはサイトカインや神経栄養因子が関与していることが示唆されている。患者の末梢血を用いた研究では、血清インターロイキン(IL)-6など炎症性サイトカインの増加が報告されている。インターフェロンによるうつ病やIL-2による妄想など、身体疾患の治療のためにサイトカインを投与された患者で種々の精神症状が惹起されることが臨床的に知られている。我々は統合失調症患者の死後脳を用いた研究を行い、海馬における脳由来神経栄養因子とその受容体(Takahashi et al, 2000)、前頭前皮質における上皮成長因子とその受容体(Futamura et al, 2002)、

A. 研究目的

自殺者数は年々増加の一途を辿っており、その予防は社会的急務である。自殺者を心理学的に剖検した研究によれば、自殺者の大多数が何らかの精神疾患を有しており、特にうつ病や統合失調症の頻度が高いとされる。これらの疾患の病態を解明することは自殺予防に大きく寄与

前頭前皮質における IL-1 受容体アンタゴニスト (Toyooka et al, 2003) のタンパク発現異常を報告してきた。IL-6 ファミリーに属するサイトカインである白血球阻止因子 (LIF) は、アストロサイトの分化・誘導、視床下部-下垂体-副腎系を介したストレス反応の調節に関与するなど神経発達に重要な役割を果たしていることから、神経発達過程における LIF の異常は統合失調症の病態に関与している可能性がある。本研究では、幼若期に LIF を投与した実験動物の生化学的あるいは行動学的な解析を行うことにより、統合失調症モデル動物としての妥当性を検討した。

B. 研究方法

1) 動物

雄性 Sprague-Dawley 系ラットに、LIF (0.3mg/kg あるいは対照として同 phosphat-buffered saline (PBS) を生後 2 から 10 日まで連日皮下注射した。

2) 生化学実験

幼若期 (生後 3 あるいは 8 日) あるいは成長後 (9 週齢) の前頭皮質、線条体、海馬を採取した。リン酸化 STAT3, ニューロン特異的エノラーゼ (NSE)、グリア繊維酸性タンパク質 (GFAP)、ミエリン塩基性タンパク質 (MBP)、ドパミン D1 および D2 受容体は Western blotting 法により測定した。ドパミン (DA) とその代謝産物 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) および homovanillic acid (HVA)

は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定した。また、幼若期あるいは成長後に選流固定した脳を GFAP あるいはヘマトキシリンにより染色した。

3) 行動実験

3 週齢でオープン・フィールド試験 (OF) とプレパルス・インヒビション測定 (PPI)、4 週齢で PPI、6 週齢で PPI と能動回避試験 (AA)、8 週齢で OF と PPI を施行した。OF は 30 分間の自発運動量を自動計測した。120dB のパルス、パルスの 100 ミリ秒前に 3 種類 (75, 80, 85dB) のプレパルスのいずれか、70dB のバックグラウンド・ノイズ、これら 5 種類の試行を 8 回ずつ順不同で施行することにより PPI を測定した。パルスでの驚愕反応を A、プレパルス・パルスでの驚愕反応を B、バックグラウンド・ノイズのみでの驚愕反応を C とするとき、PPI は以下の式により算出される。
$$PPI = 100 - (B - C) / (A - C) \times 100$$
。学習機能を評価するための能動回避試験には 2 つの区画を有するシャトル・ボックスを用いた。10 秒間の音刺激 (条件刺激) を提示している間に隣の区画に移動すると、それに続く 2 秒間の痛み刺激 (無条件刺激) を回避することができる。10 試行を 1 セッションとし、10 セッション行った。

4) 統計検定

分散分析あるいは Student の T 検定を必要に応じて用い、 $p < 0.05$ を有意とみなした。

C. 研究結果

1) 生化学的実験

生後3日のラットにLIF(0.3mg/kg)あるいは同量のPBSを皮下注射し、30分後に前頭皮質、線条体、海馬を採取した。LIFの細胞内シグナル伝達物質の1つであるリン酸化STAT3は前頭皮質、線条体、海馬いずれの部位でもLIF投与群が対照群よりも有意に増加していた。アストロサイトのマーカーであるGFAPは幼若期(生後8日)の前頭皮質では有意に増加していたが、成長後(9週齢)の前頭皮質では有意差を認めなかった。これと一致して、組織染色でもGFAP陽性細胞は幼若期の前頭皮質で増加していた。一方、線条体と海馬では、幼若期および成長後ともにGFAPに有意差を認めなかった。前頭皮質ではニューロンのマーカーであるNSE、オリゴデンドロサイトのマーカーであるMBP、D1およびD2受容体を測定したが、いずれも変化がなかった。また、成長後の前頭皮質、線条体、海馬でDA、DOPAC、HVAをHPLCにより測定したが、変化を認めなかった。

2) 行動実験

3週齢では幼若期LIF投与ラットは対照群よりも水平および垂直方向の運動量が有意に低下していたが、8週齢では両群間の運動量に有意差を認めなかった。120dBの音刺激に対する驚愕反応は3, 4, 6, 8週齢のいずれも両群間に有意差がなかった。PPIは3週齢では両群間に有意差を認めなかったが、4, 6, 8週齢ではLIF投与

群で有意に低下していた。6週齢のAAでは両群間の回避反応率に有意差を認めなかった。

D. 考察

LIFがLIF受容体に結合すると、LIF受容体とgp130が二量体化し、JAK-STAT経路を通じて細胞内のシグナル伝達が行われる。幼若期に末梢投与されたLIFにより脳内のリン酸化STAT3が誘導されることから、末梢投与されたLIFが中枢に作用していることが確認された。幼若期に末梢投与されたLIFは前頭皮質のアストロサイトを増殖させたが、ニューロンのマーカーやオリゴデンドロサイトのマーカーには変化がなく、顕微鏡的に観察された成長後の脳組織構造にも粗大な影響は与えなかった。PPIの異常は統合失調症などの精神・神経疾患で報告されており、脳内情報処理回路の障害を反映していると考えられている。PPIはヒトと動物でほぼ同じ試験デザインが適応できるという利点があり、統合失調病態モデル動物の評価法として使用されている。LIFを幼若期に慢性投与したラットは成長過程においてPPIの低下を示したが、幼若期に投与されたLIFがアストロサイトの増殖を介して神経発達に障害を引き起こし、その結果として脳内情報処理回路の障害が顕在化したものと解釈できる。本研究の結果から、幼若期LIF投与ラットは統合失調症のモデル動物となりうることが示された。今後は抗精神病薬によるPPI異

常の改善効果を調べるなどモデル動物としての妥当性をさらに検討する、統合失調症患者におけるLIFの異常について検索を行うなどの研究を推進する必要がある。

E. 結論

幼若期にLIFを慢性投与したラットは、アストロサイトの増殖を介した神経発達の障害によりPPIの異常を呈することが示唆され、統合失調症のモデル動物としての利用が期待される。

F. 健康危険情報

幼若期の実験動物に対するLIF投与は、その後の神経発達に影響を与える可能性がある。

G. 研究成果発表

1. 論文発表

- 1) Toyooka, K., Watanabe, Y., Iritani, S., Shimizu, E., Iyo, M., Nakamura, R., Asama, K., Makifuchi, T., Kakita, A., Takahashi, H., Someya,

T. and Nawa, H.: A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients. *Neurosci Res* 46: 299-307, 2003.

- 2) Watanabe, Y., Hashimoto, S., Kakita, A., Takahashi, H., Ko, J., Mizuno, M., Someya, T., Patterson, P. H. and Nawa, H.: Neonatal impact of leukemia inhibitory factor on neurobehavioral development in rats. *Neurosci Res* (in press).

2. 学会発表

- 1) <9th International Congress on Schizophrenia Research 2003. 04. 01. Colorado Springs> ○Watanabe, Y., Tohmi, M., Someya, T. and Nawa, H.: Stress vulnerability of the rats receiving neonatal administration of interleukin-1.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- (1) 特許取得

なし

- (2) 実用新案

なし

- (3) その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

分担研究報告書

ゲノム情報の利用による自殺防止を目指した抗精神病薬開発に関する研究

「モデルマウス QTL ゲノム解析によるうつ状態感受性遺伝子の同定」

分担研究者 吉川 武男 理化学研究所脳科学総合研究センター

研究要旨：今年度は、昨年度に引き続いて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の各 QTL 領域から責任遺伝子を同定するために、以下の2つのアプローチをとった。(1) コンソミックマウスの作成継続。QTL が載っているマウス染色体4番、6番、8番、11番、14番、17番、X染色体を対象に、C57/BL6 (B6), C3H/He (C3)間で「表」と「裏」合計14系統の作成を昨年度から継続し、常染色体に関してはN4世代、X染色体はN3世代まで到達した。(2) ゲノムワイド遺伝子発現解析との組み合わせ。Affymetrix社のGeneChipを用いて、B6とC3マウスの前頭葉で発現量が2倍以上異なる遺伝子を約3,600遺伝子の中から選択し、それらの中でQTL領域に載っている遺伝群を選別した。以上とは別に、(3)今年度はさらに新しいアプローチとしてラットでうつ病のモデルである学習性無力を作成し、GeneChipを用いてうつ状態に関与する可能性のある遺伝子を調べた。(2)と(3)の結果から、うつ病の病態生理としてアクチン細胞骨格遺伝子の代謝変調が基盤の1つにある可能性が示唆された。

A. 研究目的

自殺の主たる原因として、うつ病あるいはうつ状態を背景にもった希死念慮、自殺企図がある。うつ病脆弱性、ストレス脆弱性に関係する遺伝子が見い出され、それに対する薬物が開発されれば、自殺を未然に防ぎ社会の損失を大幅に抑制するのに大いに貢献するものと期待される。そこで我々は、うつ病脆弱性、ストレス脆弱性に関係する遺伝子を動物モデルを援用することによって同定することを目指している。昨今、マウスゲノムのドラフトが明らか

かとなり、またラットゲノムの解読も進んでいるため、動物モデルを用いた感受性遺伝子同定のアプローチが現実的となっている。

一昨年度以来、強制水泳テストと尾懸垂テストにおける「無動時間」を制御している遺伝子群をヒトでのうつ病感受性遺伝子の重要なヒントと考え、マウスでQTL (quantitative trait loci)解析を行い、無動時間を支配している遺伝子座を検出し、各 QTL 上にある責任遺伝子に到達すべく複数のアプローチを試みてきて

いるが、今年度はさらにゲノムワイド遺伝子発現解析およびラットのうつ病モデル解析も加えた。

B. C. 研究方法および研究結果

[コンソミックマウスの作成]

コンソミックマウスとは、受容系統のある染色体丸ごと1本を供与系統の染色体で置き換えたマウスで、コンソミック系統はこれまで一般的だったコンジュニク系統、リコンビナント・インブレット系統の弱点を克服し利点を合わせ持ったものと言える。コンソミック系統が樹立されると、精神疾患を含めて多因子疾患の原因遺伝子の系統的絞り込み・遺伝子の単離に非常に役立つ。我々は、C57BL/6 (B6) と C3H/He (C3) マウス近交系間でそれぞれを受容系統、供与系統とした「表」・「裏」のコンソミックラインを染色体2番、4番、6番、8番、11番、14番、17番、X染色体について昨年度より作成を開始した。N2世代、N4世代で「best male/female」個体を選択する「スピードコンソミック」という手法を用いるため、N5世代で目的の染色体がほぼ100%置き換わった系統が得られる予定である。

本年度は、N3世代個体を親系統に戻し交配して各染色体につき以下の数の雄を確保した（「表」+「裏」）：染色体2番- 51

匹、4番- 82匹、6番- 92匹、8番- 95匹、11番- 107匹、14番- 109匹、17番- 70匹。全個体をゲノムワイドマーカー（80個のマイクロサテライト）を用いてタイピングして、best male (N4世代) を各染色体あたり2匹ずつ選択した。X染色体に関しては、N2世代を307匹（「表」+「裏」）作成し、やはり80個のゲノムワイドマイクロサテライトマーカーを用いてタイピングし、best female 個体を「表」と「裏」につき各2匹ずつ選択した。

コンソミックマウスの作成は非常に大きなプロジェクトであり、開始2年間で我々の技術の確からしさが証明され、最終段階まで7合目あたりという地点に無事たどり着いた。この段階で、常染色体ラインについては精子凍結、X染色体ラインに関しては4分割胚を凍結保存し、将来に備えた。

[ゲノムワイド遺伝子発現]

各 QTL 領域から候補責任遺伝子を同定する別のアプローチとして、我々は B6 と C3 マウスの前頭葉で発現量が2倍以上異なっている遺伝子を Affymetrix 社の GeneChip を用いて調べ、それら遺伝子のうち QTL 領域に載っている遺伝群を選別した。QTL 領域内の責任遺伝子であれば、B6 と C3 間で遺伝子多型があり、それが機能的差異、発現量の差異につながってい

ると考えられるためである。GeneChipには約36,000個の遺伝子が載っている。マウス前頭葉からtotal RNAを抽出しcDNAに変換して蛍光ラベルしたあとGeneChipにハイブリダイズした。B6、C3マウス系統とも各6匹分のRNAをプールして解析した。

B6に比べてC3で発現が上昇しているQTL領域遺伝子群は以下のようであった。

Signal Log Ratio (C3/B6)	Gene name (criteria = 2 ¹ = 2)	Mouse Chromosome
-1.1	RIKEN cDNA 2410112008 gene (Dnrf2, mitochondrial transcriptional initiation factor 2)	11 (29.7 Mb)
-1.2	nuclear factor 1X (transcription factor)	8 (94.0 Mb)
-1.7	RIKEN cDNA 2310222M17 gene	11
-1.9	cysteine-rich motor neuron 1	17 (78.8 Mb)
-2.7	integral membrane protein 25 (ATP binding, neurogenesis)	14 (23.8 Mb)

上記の遺伝子群の発現レベル変化を確かめるため、ABI TaqMan法によるRT-PCRでさらに検討した。マウス系統間比較にはB6、C3各24匹ずつ解析した。lipoprotein lipaseとtransmembrane 7 superfamily member 3遺伝子についてはTaMan probeがなく検討出来なかったが、それ以外の検討した遺伝子のうち、◎印の5つの遺伝子に関しては、発現レベルの差異の有意性が確かめられた。

B6に比べてC3で発現が低下しているQTL領域遺伝子群は以下のようであった。

Signal Log Ratio (C3/B6)	Gene name (criteria = 2 ¹ = 2)	Mouse Chromosome
3.0	adherin to heck2 protein (embryonic)	8 (34.3 Mb)
2.8	guanine nucleotide binding protein, beta 1	4 (152.1 Mb)
2.5	CD32 antigen	4 (122.8 Mb)
1.9	adenylyl cyclase-associated GAP protein homolog 1	4 (120.8 Mb)
1.7	campase 9	4 (140 Mb)
1.6	RIKEN cDNA 873043G02 gene	4
1.3	RIKEN cDNA 8130222E25 gene (ATP binding)	4
1.2	lipoprotein lipase (fatty acid metabolizer)	8 (87.8 Mb)
1.1	RIKEN cDNA 2310008E14 gene (Tm7nf3, transmembrane 7 superfamily member 3)	8 (147 Mb)

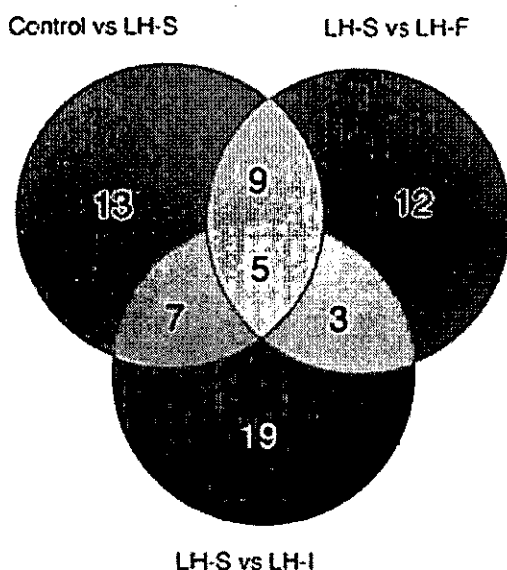
上記遺伝子のうち、RIKEN cDNA 2310022M17 geneとcysteine-rich motor neuron 1遺伝子についてはTaMan probeがなく検討出来なかったが、それ以外の検討した遺伝子のうち、◎印の遺伝子に関しては、発現レベルの差異の有意性が確かめられた。

[ラット学習性無力モデルのゲノムワイド遺伝子発現]

ラットを仕切り板のあるシャトルボックスに入れ、床グリッドから電流を与える。通常ラットはこのフットショックから回避しようと隣の部屋に逃げ込むが、電流は切れなくなっているため隣の部屋でもフットショックを受け、連続的なストレスを受けることになる。この試行を繰り返すと回避が「無力」である事を学習し、いずれ回避することを諦めるようになる(learned helplessness: LH)。この状態は抗うつ薬で回復するため、反応性うつ病のモデルとして考えられている。我々はLHラットを作成し、その後生理食塩水投与群(LH-S)、fluoxetine投与群(LH-F)、imipramine投与群(LH-I)の3つのグループに分け、電気刺激回避実験を行った。LH-Sではコントロール群に比べ有意に回避失敗数が増加しており、imipramineおよびfluoxetine投与により回避失敗数は有意に減少した。

fluoxetine 投与群では回避失敗数の減少率が imipramine 投与群に比べ小さかったが、これは臨床において imipramine が fluoxetine より重度のうつ病患者に有効であることに対応しているものと思われる。

行動実験の後、前頭葉から RNA を抽出し、ラット用の GeneChip にハイブリダイズさせ、ベン図をもとに両薬剤でコントロールレベルに発現量が回復した遺伝子、fluoxetine だけで回復した遺伝子および imipramine だけに反応した遺伝子、あるいは両薬剤に対して反応しなかった遺伝子を選んだ（下図参照）。



前頭葉では EST を含む 34 遺伝子が LH-S 群でコントロール群に比べ有意に変化していた。それらの中で、脳の発達や細胞骨格に関与するといわれている *Limk1* 遺

伝子が

LH-S ラットでコントロール群に比べ有意に減少 (9.5 倍) しており、統計的に有意ではなかったものの、imipramine 投与によりコントロールレベルにまで回復する傾向が見られたことが注目に値する。

D. E. 考察および結論

マウスの QTL 解析から、系統的にかつポジショナルに責任遺伝子まで絞り込んでいくのはコンソミックマウスが有用である。我々は常染色体のコンソミックマウスを作成するのに N2, N4 世代で best male を選択するという“スピードコンソミックマウス”の手法を用いているので、N5 世代で hemisomic mice が完成する予定である。その後、hemisomic mice どうしをかけあわせてコンソミックとする。本年度で、常染色体コンソミックに関しては N4 世代まで到達した。今後も可能な限りコンソミックマウス系統の作成を継続していくが、完成すれば精神疾患のみならず多くの多因子疾患の感受性遺伝子同定に役立つ重要なバイオリソースとなるため、本厚生労働科学研究費補助金で取り組んだ意義は大きいといえる。

系統的アプローチと平行して、今年度はゲノムワイドな遺伝子発現解析を取り入れた。(1) B6 と C3 の前頭葉で発現レベルが 2 倍以上違う、(2) QTL 領域にコ

ードされている、(3) RT-PCR で発現量の差の有意性が再現される、という3つの条件を設定したことにより、候補遺伝子が36,000個の中から6個に絞られた。この中にCap1という遺伝子が含まれていた。一方、別のうつ病動物モデルであるラット学習性無力を作成し、やはりゲノムワイドな遺伝子発現解析を行ったところ、limk1という遺伝子がうつ状態で最も発現レベルが低下することが見いだされた。Cap1もLimk1も細胞骨格タンパクであるアクチンの動的な重合—脱重合を調整する遺伝子である。QTL領域にコードはされていないものの、ベータアクチン遺伝子そのものの発現量をマウス前頭葉で測定したところ、B6に比較してC3で有意に発現が低下していた。アクチン代謝を直接調節するもう1つの重要な遺伝子としてcofilin1があるが、この遺伝子の発現をラット学習性無力で検討したところ有意に上昇していた。

以上の遺伝子発現結果を総合的に勘案すると、C3に比べてB6系統マウスのストレス感受性が高いことの分子基盤として、アクチンの重合—脱重合サイクルが高進している可能性が考えられる。この分子病態が今後さらに確認されれば、今までとは全く作用機序の異なる抗うつ薬の開発につながることを期待される。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

(1) Yoshitsugu K, Meerabux JMA, Asai K, Yoshikawa T. Fine mapping of an isodicentric Y chromosomal breakpoint from a schizophrenic patient. *Am J Med Genet Neuropsychiatric Genet* 116B: 27-31, 2003

(2) 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 SD, Yoshikawa T. Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese schizophrenic patients. *Am J Med Genet Neuro-psychiatric Genet* 118B: 20-24, 2003

(3) Ebihara M, Ohba H, Hattori E, Yamada K, 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

(4) 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* 8: 467-469, 2003

(5) 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

(6) 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 Neuropsychiatric Genet* 120B: 22-28, 2003
- (7) Itokawa M, Yamada K, Yoshitsugu K, Toyota T, Suga T, Ohba H, Watanabe A, Hattori E, Shimizu H, Kumakura T, Ebihara M, Meerabux JMA, 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* 13: 271-278, 2003
- (8) Segurado R, Detera-Wadleigh SD, Levinson DF, Lewis CM, Gill M, Nurnberger JIJr., Craddock N, Raymond DePaulo J, Baron M, Gershon ES, Ekholm J, Cichon S, Tureck G, Claes S, Kelsoe JR, Schofield PR, Badenhof RF, Morissette J, Coon H, Blackwood D, Curtis D, McInnes LA, Foroud T, Edenberg HJ, Reich T, Rice JP, Goate A, McInnis MG, McMahon FJ, Badner JA, Goldin LR, Bennett P, Willour VL, Zand PP, Jianjun Liu J, Gilliam C, Joo S-H, Berrettini WH, Yoshikawa T, Peltonen L, Lonndnqvist J, Nothen MM, 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 MA, Luebbert H, Adams LJ, Donald JA, Mitchell PB, Barden N, Shink E, Byerley W, Muir W, Visscher PM, Macgregor S, Gurling H, Kalsi G, McQuillan A, Escamilla MA, Reus VI, Leon P, Freimer NB, Ewald H, Kruse TA, Mors O, Radhakrishna U, Blouin J-L, Antonarakis SE, Akarsu N. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder part III: bipolar disorder. *Am J Hum Genet* 73: 49-62, 2003
- (9) Itokawa M, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Ishitsuka Y, Detera-Wadleigh SD, Yoshikawa T. Genetic analysis of a functional GRIN2A promoter (GT)_n repeat in bipolar disorder pedigrees in humans. *Neurosci Lett* 345: 53-56, 2003
- (10) Yamada K, Watanabe A, Iwayama-Shigeno Y, Yoshikawa T. Evidence of association between gamma-amino-butyric acid type A receptor genes located on 5q34 and female patients with mood disorders. *Neurosci Lett* 349: 9-12, 2003
- (11) Kikuchi M, Yamada K, Toyota T, Yoshikawa T. C18orf located on chromosome 18p11.2 may confer susceptibility to schizophrenia. *J Med Dent Sci* 50: 225-229, 2003
- (12) Ebihara T, Ohba H, Kikuchi M, Yoshikawa T. Structural characterization and promoter analysis of human potassium channel Kv8.1 (KCNV1) gene. *Gene* 325: 89-96, 2004
- (13) Arai M, Itokawa M, Yamada K, Toyota T, Arai M, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T. Association of neural cell adhesion molecule 1 gene polymorphisms with bipolar affective disorder in Japanese. *Biol Psychiatry*

(in press).

(14) Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Yoshida Y, Toyota T, Itokawa M, Hattori E, Shimizu H, Yoshikawa T. Family-based association study of schizophrenia with 444 markers and analysis of a new susceptibility locus mapped to 11q13.3. *Am J Med Genet Neuropsychiatr Genet* (in press).

(15) Toyota T, Yoshitsugu K, Ebihara M, Yamada K, Ohba H, Fukasawa M, Minabe Y, Nakamura K, Sekine Y, Takei N, Suzuki K, Itokawa M, Meerabux JMA, Iwayama-Shigeno Y, Tomaru Y, Shimizu H, Hattori E, Mori N, Yoshikawa T. Association between schizophrenia with ocular misalignment and polyalanine length variation in PMX2B. *Hum Mol Genet* (in press).

(16) Itokawa M, Kasuga T, Yoshikawa T, Matsushita M Identification of a male schizophrenic patient carrying a de novo balanced translocation, t(4;13)(p16.1; q21.31). *Psychiatry Clin Neurosci* (in press).

(17) Nakatani N, Aburatani H, Nishimura K, Semba J, Yoshikawa T. Comprehensive expression analysis of a rat depression model. *Pharmacogenomics J* (in press).

(18) 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.

(19) 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.

(20) 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, 161-169, 2003.

(21) 糸川昌成、吉川武男：遺伝子研究からみた統合失調症のグルタミン酸仮説. *精神神経学雑誌*, Vol. 105, No. 11, 1349-1362, 2003.

(22) 中谷紀章、吉川武男：うつ病の病態動物モデル *CLINICAL NEUROSCIENCE*, vol. 22, 170-172, 2004.

(23) 糸川昌成、吉川武男：臨床遺伝と病態理解（医学のあゆみ）in press

H. 知的財産権の出願・登録状況

(1) 特許取得

なし

(2) 実用新案

なし

(3) その他

(1) なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

分担研究報告書

ゲノム情報の利用による自殺防止を目指した向精神薬開発に関する研究

「自殺の生物学的マーカーとなる自殺関連遺伝子の探索」

分担研究者 前田 潔 神戸大学大学院医学系研究科精神神経科学分野・教授

研究要旨:自殺には精神疾患の疾患単位を越えた共通の生物学的機序の存在が考えられる。自殺に至る生物学的背景として、セロトニン（5-HT）神経系の低活性が想定されている。今年度我々は、自殺者死後脳・扁桃体における遺伝子発現プロファイル解析（GeneChip 解析）を行い、発現が変化している遺伝子の中から、5-HT 神経系に関するものとして、5-HT6 受容体遺伝子を同定した。5-HT6 受容体の自殺への関与を検討する目的で、5-HT6 遺伝子多型と自殺との相関研究を行った。5-HT6 受容体遺伝子における 267C/T ならびに (GCC) 2/3 多型の遺伝子型、遺伝子頻度は自殺群、コントロール群においても有意差はなかった。両多型のハプロタイプの分布についても、両群間で有意差は認められなかった。以上より、自殺者では、5-HT6 受容体の変化が示唆されるが、少なくとも既知の遺伝子多型による相関研究からは遺伝子レベルでの関与は否定的と考えられた。

研究協力者	所属施設・職名
白川治	神戸大学大学院・助教授
西口直希	神戸大学医学部附属病院・助手
主田英之	神戸大学大学院・助教授
上野易弘	神戸大学大学院・教授
那波宏之	新潟大学脳研究所・教授

は精神疾患の存在が重要であるが、原因となる精神疾患は単一ではなく、自殺には精神疾患の疾患単位を越えた共通の生物学的機序の存在が示唆されている。自殺に至る共通の生物学的背景として、セロトニン（5-HT）神経系の低活性が最も重要と考えられている。

今回我々は、自殺者死後脳・扁桃体における遺伝子発現プロファイル解析（gene chip 解析）を行い、発現が変化しているものの中から、5-HT 神経系に関するものとして、5-HT6 受容体遺伝子を同定した。5-HT6 受容体の自殺への関与を検討する目的で、5-HT6 遺伝子多型と自殺との相

A. 研究目的

自殺に至る機序としては、衝動性や攻撃性の高さといった自殺に至る気質の関与とストレスによって強い不安・焦燥・絶望感をきたすというストレス反応性の脆弱さが考えられる。自殺の背景として

関研究を行った。

B. 研究方法

・ gene chip 解析

神戸大学医学部法医学教室において法医学剖検が行われた自殺既遂者死後脳・扁桃体（4例）と精神疾患の既往のない対照者死後脳・扁桃体（2例）およびクロンテック社対照脳・扁桃体を比較とした。自殺既遂者（4例）×対照脳（2例）との組み合わせにおいて、自殺既遂者が50%以下の減少を示す遺伝子を探索・同定した。

・ 5-HT6 受容体遺伝子と自殺の相関研究
神戸大学医学部法医学教室において行った法医学剖検例での自殺既遂者163例（男性112例、平均年齢±標準偏差：48.7±17.0歳；女性51例：47.13±20.0歳）を対象とした。健常対照群166例（男性114例：45.3±15.5歳；女性52例：48.9±18.7歳）は、自殺既遂者と性別・年齢を対照させるため無作為抽出した。既報告よりエクソン領域に位置する267C/Tならびに翻訳開始上流域に位置する(GCC)2/3リピート多型に着目し、自殺者群、対照群で多型頻度を比較検討した。自殺既遂者群、健常対照群の遺伝子型ならびに遺伝子頻度を χ^2 検定にて比較検討した。

本研究は、神戸大学大学院医学系研究科遺伝子解析倫理審査委員会の承認のもとに行われ、検体の採取にあたっては、ご遺族に研究の趣旨を説明し文書による同意を得た。

C. 研究結果

自殺者死後脳・扁桃体における gene chip 解析により、対照者と比べ発現が低下しているもののうち、5-HT 神経系に関するものとして、5-HT6 受容体を同定した。5-HT6 受容体遺伝子における 267C/T ならびに(GCC)2/3 多型の遺伝子型、遺伝子頻度は自殺群、コントロール群において有意差はなかった。両多型のハプロタイプの分布についても、両群間で有意差は認められなかった（表1・表2）。

D. 考察

5-HT6 受容体は、脳内で辺縁系、大脳皮質を中心に発現している。また、自殺予防効果が示唆されているクロザピン、オランザピンといった非定型抗精神病薬、あるいは一部の抗うつ薬が高親和性を示し、これらの薬剤の作用点である可能性がある。gene chip 解析結果からは、自殺者における 5-HT6 受容体の変化が示唆されるが、少なくとも今回検討した遺伝子多型による相関研究からは遺伝子レベルでの関与は否定的と考えられた。

自殺者死後脳・扁桃体における gene chip 解析により、対照者と比べ発現が低下しているもののうち、5-HT 神経系に関する以外の遺伝子も約 20 種同定されており、現在自殺との関連を解析中である。

E. 結論

gene chip 解析により、自殺者死後脳で減少している遺伝子として、5-HT₆ 受容体遺伝子が同定されたが、遺伝子多型による相関研究からは遺伝子レベルでの自殺への関与は否定的と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Aoyama, S., Shirakawa, O., Ono, H., Hashimoto, T., Kajimoto, Y., Maeda, K.: A novel polymorphism in the coding region of the DAP-1 gene (hDLG and PSD-95 associated protein-1 gene): analysis of association with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 57(5):545-7. 2003
(2) Kajimoto, Y., Shirakawa, O., Lin, X-H., Hashimoto, T., Kitamura, N., Murakami, N., Takumi, T., Maeda, K. Synapse-associated protein 90/ postsynaptic-density-95-associated protein (SAPAP) is expressed differentially in the nucleus accumbens of phencyclidine-treated rats and is increased in the nucleus accumbens of patients with schizophrenia *Neuropsychopharmacology* 28(10):1831-9 2003

(3) 白川 治、小野久江、青山慎介、菱本明豊、岡村健二、柳雅也、服部晴起、山本康二、主田英之、上野易弘、前田潔：自殺と気質規定遺伝子との相関研究 *精神薬療年報* 35:88-92 2003

(4) 白川 治：自殺の生物学的側面 *ストレス科学* 17 (4) 238-244 2003

2. 学会発表

(1) 青山慎介、白川 治、小野久江、橋本健志、梶本康雄、前田 潔：統合失調症におけるDAP-1遺伝子の変異・多型解析 第25回日本生物学的精神医学会 2003. 4. 17 (金沢)

(2) 柳 雅也、林 賢浩、白川 治、北村登、橋本健志、梶本康雄、村上直也、前田 潔：統合失調症の上側頭回におけるshank proteinの変化 第25回日本生物学的精神医学会2003. 4. 17 (金沢)

(3) 梶本康雄、白川 治、橋本健志、北村登、村上直也、前田 潔：ファンサイクリジン投与ラットおよび統合失調症死後脳における

SAPAP (SAP90/PSD-95-associated protein) の変化 第25回日本生物学的精神医学会2003. 4. 17 (金沢)

(4) 山本康二、白川 治、小野久江、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺者におけるウロコルチン遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型 第25回日本生物学的精神医学会2003. 4. 17 (金沢)

(5) 菱本明豊、白川 治、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺とAEC遺伝子多型との相関研究 第25回日本生物学的精神医学会2003. 4. 17 (金沢)

(6) 岡村健二、白川 治、小野久江、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺者におけるアポリポ蛋白E遺伝子多型 第25回日本生物学的精神医学会2003. 4. 17 (金沢)

(7) 服部晴起、小野久江、白川 治、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺とチロシン水酸化酵素遺伝子多型との相関研究 第25回日本生物学的精神医学会 2003. 4. 17 (金沢)

(8)小野久江、白川 治、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺者における Catechol-O-methyltransferase (COMT) 158Val/Met 遺伝子多型 第 25 回日本生物学的精神医学会 2003. 4. 18 (金沢)

(9)服部晴起、青山慎介、小野久江、西口直希、白川 治、山本康二、岡村健二、橋本健志、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺既遂者におけるカテコラミン関連遺伝子多型の相関研究 第 22 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2003. 6. 5 (神戸)

(10)菱本明豊、白川 治、西口直希、柳

雅也、大下 隆、福武将映、主田英之、上野易之、前田 潔：自殺者と ACE 遺伝子多型、GNB3 遺伝子多型の相関研究 第 22 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会 2003. 6. 5 (神戸) 阪 2002

H. 知的所有権の出願・登録状況

- | | |
|------------|----|
| (1) 特許取得 | なし |
| (2) 実用新案登録 | なし |
| (3) その他 | なし |

表 1. Genotype and Allele Frequencies of the 267C/T and (GCC)_{2/3} Polymorphisms of the 5HT₆ Receptor Gene in Suicide Victims and Controls

	Suicide Victims (n=163)	Controls (n=166)
267C/T		
Genotypes*		
C/C	67 (41.1%)	65 (39.2%)
C/T	79 (48.5%)	83 (50.0%)
T/T	17 (10.4%)	18 (10.8%)
Allele frequency**		
C	213 (65.3%)	213 (64.2%)
T	113 (34.7%)	119 (35.8%)
(GCC)_{2/3}		
Genotypes#		
(GCC) ₃ /(GCC) ₃	85 (52.2%)	85 (51.2%)
(GCC) ₃ /(GCC) ₂	69 (42.3%)	67 (40.4%)
(GCC) ₂ /(GCC) ₂	9 (5.5%)	14 (8.4%)
Allele frequency##		
(GCC) ₃	239 (73.3%)	237 (71.4%)
(GCC) ₂	87 (26.7%)	95 (28.6%)

* $\chi^2=0.130$, $df=2$, $p=0.937$, ** $\chi^2=0.100$, $df=1$, $p=0.751$
 # $\chi^2=1.089$, $df=2$, $p=0.580$, ## $\chi^2=0.305$, $df=1$, $p=0.581$)

表 2. Estimated Haplotype Frequencies of the Two Polymorphisms in Suicide Victims and Controls

Haplotypes	Suicide Victims	Controls
C-(GCC) ₃	0.643	0.618
T-(GCC) ₂	0.257	0.263
T-(GCC) ₃	0.090	0.096
C-(GCC) ₂	0.010	0.024

$\chi^2=0.738$, $df=3$, $p=0.864$

研究成果の刊行に関する一覧表

1. 書籍

著者氏名	論文タイトル名	編集者名	書籍名	出版社	出版地	出版年	頁
山田光彦、樋口輝彦	うつ病の分子生物学的研究の進歩	杉田秀夫、高橋清久編集	脳科学研究の現状と課題—脳とこころの病気の解明はここまで進んだ—	じほう	東京	2003	27-38
吉川武男、糸川昌成、山田和男	機能性精神疾患の遺伝子研究の進歩	杉田秀夫、高橋清久編集	脳科学研究の現状と課題—脳とこころの病気の解明はここまで進んだ—	じほう	東京	2003	53-69
渡部雄一郎、染矢俊幸	統合失調症の発達障害仮説	樋口輝彦、神庭重信、染矢俊幸、宮岡等	KEY WORD 精神第3版	先端医学社	東京	2003	124-125
豊岡和彦、染矢俊幸	マイクロアレイ	樋口輝彦、神庭重信、染矢俊幸、宮岡等	KEY WORD 精神第3版	先端医学社	東京	2003	190-191
小野久江、白川 治、前田 潔	自殺の生物学的研究の現状	樋口輝彦	自殺企図、その病理と予防・管理	永井書店	東京	2003	230-239
白川 治	双極性障害、躁状態	山口徹、北原光夫	今日の治療指針2003年版	医学書院	東京	2003	653-655
白川 治	自殺の予防	山口徹、北原光夫	今日の治療指針2004年版	医学書院	東京	2004	694-695

2. 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	頁	出版年
Kudo, K., Yamada, M., Takahashi, K., Nishioka, G., Tanaka, S., Hashiguchi, T., Fukuzako, H., Takigawa, M., Higuchi, T., Momose, K., Kamijima, K. and Yamada, M.	Differential expression of kf-1 after repetitive transcranial magnetic stimulation in rat frontal cortex and hippocampus.	manuscript submitted for publication			
Yamada, M., Iwabuchi, T., Takahashi, K., Kurahashi, K., Ohata, H., Momose, K., Kamijima, K., Higuchi, T. and Yamada, M.	Identification and characterization of frizzled-3 protein: decrease in rat frontal cortex after antidepressant or electroconvulsive treatment.	manuscript submitted for publication			
Takahashi, K., Yamada, M., Ohata, H., Higuchi, T., Yamada, M. and Momose, K.	Differential expression of NDRG2-S and NDRG2-L after antidepressant and electroconvulsive treatment in rat frontal cortex.	manuscript submitted for publication			
山田光彦, 上島国利, 樋口輝彦, 百瀬和享	神経回路網の再編成に注目した新規抗うつ薬ターゲット分子の機能評価	精神薬療研究年報		印刷中	2004
Yamada M, Yamada M, Higuchi T	Antidepressant-elicited changes in gene expression -Remodeling of neuronal circuits as a new hypothesis for drug efficacy.	Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry		印刷中	2004
Yamada, M., Takahashi, K., Tsunoda, M., Iwabuchi, T., Kobayashi, S., Tsukahara, N., Nakagawa, T., Awatsu, M., Yamazaki, S., Hirano, M., Ohata, H., Nishioka, G., Kudo, K., Tanaka, S., Kamijima, K., Higuchi, T., Yamada, M. and Momose, K.	Antidepressant research in the era of functional genomics. Farewell to the monoamine hypothesis.	Biogenic Amines		印刷中	2004
Nishioka, G., Yamada, M., Kudo, K., Takahashi, K., Kiuchi, Y., Higuchi, T. Momose, K., Kamijima, K. and Yamada, M.	Induction of kf-1 after repeated electro-convulsive treatment and chronic antidepressant treatment in rat frontal cortex and hippocampus.	J Neural Transm	110	277-285	2003

山田光彦, 上島国利, 樋口輝彦, 百瀬和享	神経可塑的变化に注目 した新規抗うつ薬ター ゲット分子の探索と機 能評価	精神薬療 研究年報	34	45-51	2003
那波宏之, 二村隆史, 水野 誠, 高橋誠, 豊岡和彦, 染矢俊幸	神経栄養因子とサイト カインの統合失調症へ の関与.	日本臨床	61	521-52 8	2003
Toyooka, K., Watanabe, Y., Iritani, S., Shimizu, E., Iyo, M., Nakamura, R., Asama, K., Makifuchi, T., Kakita, A., Takahashi, H., Someya, T. and Nawa, H.	A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients.	Neurosci Res	46	299-30 7	2003
Watanabe, Y., Hashimoto, S., Kakita, A., Takahashi, H., Ko, J., Mizuno, M., Someya, T., Patterson, P. H. and Nawa, H.	Neonatal impact of leukemia inhibitory factor on neurobehavioral development in rats.	Neurosci Res	in press		2004
Yoshitsugu K, Meerabux JMA, Asai K, Yoshikawa T	Fine mapping of an isodicentric Y chromosomal breakpoint from a schizophrenic patient.	Am J Med Genet Neuropsyc hiatric Genet	116B	27-31	2003
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 SD, Yoshikawa T	Distribution of haplotypes derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese schizophrenic patients.	Am J Med Genet Neuropsyc hiatric Genet	118B	20-24	2003
Ebihara M, Ohba H, Hattori E, Yamada K, Yoshikawa T	Transcriptional activities of cholecystinin promoter haplotypes and their relevance to panic disorder susceptibility.	Am J Med Genet Neuropsyc hiatric Genet	118B	32-35	2003
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 Psychiatr y	8	467-46 9	2003
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

<p>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.</p>	<p>Initial genome-wide scan for linkage with schizophrenia in the Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group (JSSLG) families.</p>	<p>Am J Med Genet Neuropsychiatric Genet</p>	<p>120B</p>	<p>22-28</p>	<p>2003</p>
<p>Itokawa M, Yamada K, Yoshitsugu K, Toyota T, Suga T, Ohba H, Watanabe A, Hattori E, Shimizu H, Kumakura T, Ebihara M, Meerabux JMA, Toru M, Yoshikawa T</p>	<p>A microsatellite repeat in the promoter of the NMDA receptor 2A subunit (GRIN2A) gene suppresses transcriptional activity and correlates with chronic outcome in schizophrenia.</p>	<p>Pharmacogenetics</p>	<p>13</p>	<p>271-278</p>	<p>2003</p>
<p>Segurado R, Detera-Wadleigh SD, Levinson DF, Lewis CM, Gill M, Nurnberger JIJr., Craddock N, Raymond DePaulo J, Baron M, Gershon ES, Ekholm J, Cichon S, Tureck G, Claes S, Kelsoe JR, Schofield PR, Badenhop RF, Morissette J, Coon H, Blackwood D, Curtis D, McInnes LA, Foroud T, Edenberg HJ, Reich T, Rice JP, Goate A, McInnis MG, McMahon FJ, Badner JA, Goldin LR, Bennett P, Willour VL, Zand PP, Jianjun Liu J, Gilliam C, Juo S-H, Berrettini WH, Yoshikawa T, Peltonen L, Lonndqvist J, Nothen MM, 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 MA, Luebbert H, Adams LJ, Donald JA, Mitchell PB, Barden N, Shink E, Byerley W,</p>	<p>Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder part III: bipolar disorder.</p>	<p>Am J Hum Genet</p>	<p>73</p>	<p>49-62</p>	<p>2003</p>