

比較に用いた。グルタミン酸の放出量は、HPLCによって測定した。グルタミン酸放出を促進するために高カリウム刺激を行った。また、dysbindinの神経細胞に対する生存維持効果をみるために血漿除去処置後にMTTアッセイを行った。

結果

1) 関連研究

コントロール群の遺伝子型分布は全て、Hardy-Weinberg法則からの有意な偏りはみられなかった。対立遺伝子頻度と患者群—コントロール群との比較検定の結果をTable 1に示す。1つのSNP (P1635)において有意な関連を認めた。すなわち、P1635のGアリルは、コントロール群と比較して患者群に多かった ($p=0.022$, odds ratio=2.45, 95%CI 1.06-6.95)。

さらにpermutation法によるハプロタイプ解析を行ったところ、有意な関連を認めた (Table 2)。すなわち、ハプロタイプ A-C-T-A (P1763-P1320-P1325-P1635)は、患者群に26.3%であるのに対し、コントロール群では、33.6%と推定された ($p=0.0004$)。P1635のGアリルをもつ C-T-C-G ハプロタイプ (P1763-P1320-P1325-P1635)は、患者群 (2.8%)でコントロール群 (0.8%)と比較して有意に多いと推定された ($p=0.003$)。

2) Dysbindin強制発現による機能解析

ウェスタンブロットによる解析では、dysbindinを過剰発現させた細胞では、過剰発現させない場合と比較して、SNAP-25とsynapsin Iの発現が著明に増加していた。しかし、synaptotagmin や syntaxin の発現レベルに変化はみられなかった。過剰発現の有無によってTUJ1 (神経細胞のマーカー)の発現に違いはなかった。

以上のような前シナプスタンパクの発現量の増加は、伝達物質であるグルタミン酸の放出量の増加を予測させる。実際、グルタミン酸放出量を測定したところ、dysbindinを過剰発現させた場合は、そうでない場合と比較して、グルタミン酸の基礎分泌量が増加していた (図1)。さらに、グルタミン酸放出を高カリウムで刺激した場合でも、dysbindinを発現させた場合にはコントロールと比較して放出量が増加した。

次に、dysbindinの神経細胞生存維持効果について検討した。興味深いことに、PI3-kinase 経路の分子であるAKtのリン酸化レベルが、dysbindinの過剰発現によって上昇していたが、総Akt量は変化がみられなかった。PI3-kinase拮抗薬であるLY294002を投与すると、AKtのリン酸化レベルの上昇はみられなくなった。血漿除

去処置を行った後に、行ったMTTアッセイでは、*dysbindin*は生存維持効果をもち、この作用はLY294002の投与によって消失した(図2)。

考察と結論

本研究の関連研究およびそのハプロタイプ解析の結果から、*dysbindin*は日本人においても統合失調症と関連している可能性が支持された。

また、過剰発現による細胞生物学的機能解析から、*dysbindin*は大脳皮質ニューロンにおけるSNAP-25やsynapsin Iなどのプレシナプス分子の発現の増加とグルタミン酸の放出の増加が認められた。これは、*dysbindin*が、グルタミン酸を介する興奮性神経伝達を促進する作用があることを示唆する。また、神経細胞の基本的な機能である生存度について検討したところ、*dysbindin*の強制発現は、血清除去による神経細胞死を減少させ、その効果は、PI3-kinaseの阻害剤であるLY294002によって抑制された。以上より、*dysbindin*はPI3K-Aktシグナル伝達系を介して神経細胞死を抑制することが示唆された。このような結果は、統合失調症のグルタミン酸仮説に一致する。

今後、さらに*dysbindin*の機能解析を進めるとともに、*dysbindin*の機能的変異を

明らかにする必要がある。

文献

- 1) O'Donovan, M. C., Williams, N. M. & Owen, M. J. (2003) *Hum Mol Genet* 12, R125-33.
- 2) Straub, R. E., Jiang, Y., MacLean, C. J., Ma, Y., Webb, B. T., Myakishev, M. V., Harris-Kerr, C., Wormley, B., Sadek, H., Kadambi, B., et al. (2002) *Am J Hum Genet* 71, 337-48.
- 3) Morris, D. W., McGhee, K. A., Schwaiger, S., Scully, P., Quinn, J., Meagher, D., Waddington, J. L., Gill, M. & Corvin, A. P. (2003) *Schizophr Res* 60, 167-72.
- 4) Schwab, S. G., Knapp, M., Mondabon, S., Hallmayer, J., Borrmann-Hassenbach, M., Albus, M., Lerer, B., Rietschel, M., Trixler, M., Maier, W., et al. (2003) *Am J Hum Genet* 72, 185-90.
- 5) Tang, J. X., Zhou, J., Fan, J. B., Li, X. W., Shi, Y. Y., Gu, N. F., Feng, G. Y., Xing, Y. L., Shi, J. G. & He, L. (2003) *Mol Psychiatry* 8, 717-8.
- 6) Van Den Bogaert, A., Schumacher, J., Schulze, T. G., Otte, A. C., Ohlraun, S., Kovalenko, S., Becker, T., Freudenberg, J., Jonsson, E. G., Mattila-Evenden, M., et al. (2003) *Am J Hum Genet* 73, 1438-43.

- 7) van den Oord, E. J., Sullivan, P. F., Jiang, Y., Walsh, D., O'Neill, F. A., Kendler, K. S. & Riley, B. P. (2003) *Mol Psychiatry* 8, 499-510.
- 8) Coyle, J.T., Tsai, G., & Goff, D. (2003) *Ann N Y Acad Sci* 1003: 318-27.

Table 1. Allele frequencies of five dysbindin SNPs between the patients with schizophrenia and controls

Marker Name	dbSNP ID	Polymorphism Major/Minor	Minor Allele frequency		P value	odds ratio (95%CI)
			in controls	in patients		
P1763	rs2618522	A/C	0.074	0.100	0.108	1.39 (0.95-2.07)
P1320	rs760701	C/T	0.074	0.100	0.109	1.39 (0.93-2.13)
P1325	rs1011313	C/T	0.146	0.160	0.606	0.90 (0.64-1.22)
P1635	rs3213207	A/G	0.014	0.034	0.022	2.46 (1.06-6.95)
P1655	rs2618538	G/C	0.306	0.318	0.605	1.07 (0.83-1.38)

Table 2. Estimated haplotype frequencies and case-control haplotype results

Markers	Haplotype	p value		Haplotype frequency	
		Global	Individual	Controls	Patients
P1763-P1320	A-C	0.096	0.077	0.961	0.807
P1320-P1325	C-T	0.026	0.0015	0.336	0.266
P1325-P1635	T-A	0.0071	0.0048	0.179	0.334
P1635-P1655	A-G	0.0028	0.019	0.905	0.414
P1763-P1320-P1325	A-C-T	0.028	0.0018	0.336	0.266
P1320-P1325-P1635	C-T-A	0.0082	0.0008	0.336	0.266
P1325-P1635-P1655	T-A-G	0.0021	0.017	0.183	0.144
P1763-P1320-P1325-P1635	A-C-T-A	0.0071	0.0004	0.336	0.263
P1320-P1325-P1635-P1655	C-T-A-G	0.001	0.000	0.186	0.140
P1763-P1320-P1325-P1635-P1655	A-C-T-A-G	0.0018	0.020	0.186	0.139

Case-control haplotype analysis was performed using the permutation method to obtain empirical p values. Global p values and individual p values (lowest p values among the haplotypes) are indicated. Estimated frequency for the haplotype with significant association in controls and patients were shown. All haplotypes with relative frequency not exceeding 5% were excluded in this table.

図 1

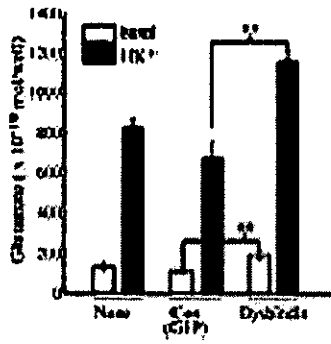
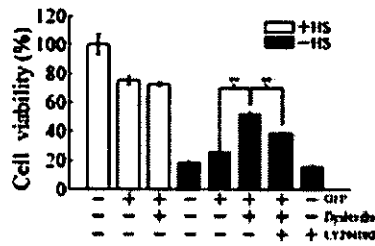


図 2



健康危険情報

特になし

論文発表

Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Tatsumi M, Kamijima K, Straub RE, Weinberger DR, Kunugi H, Hashimoto R: Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. (投稿中)

知的財産の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

Rho GTPase 活性化タンパク chimerin 2 遺伝子 と統合失調症との関連

主任研究者 功刀 浩*

共同研究者：橋本亮太*、尾崎紀夫**、岩田仲生***、山之内芳雄***、鈴木竜世***、
北島剛司***、巽雅彦****、上島国利****

*国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第三部

**名古屋大学大学院医学研究科精神医学講座

***藤田保健衛生大学医学部精神医学教室

****昭和大学医学部精神医学教室

研究要旨

統合失調症と精神遅滞は、臨床的によく合併し、共通の認知機能障害が認められることから、なんらかの共通の病態基盤が存在すると考えられている。統合失調症の原因遺伝子はいまだ不明であるが、精神遅滞においては Rho ファミリーの低分子量 G タンパク質に関連した分子であるオリゴフレニン1、PAK3、GDI1 などが原因遺伝子として同定されている。RhoGAP (Rho GTPase activating protein)である chimerin2 遺伝子は、様々な組織で発現しているが、脳における発現が最も高く、ジアシルグリセロール/ホルボールエステル結合部位をもち、シグナル伝達において重要な働きをしていることが知られている。そこで、我々は、chimerin2 遺伝子の H204R ミスセンス多型について、患者群 293 例（平均年齢 43.7 歳、男性 55.2%）とコントロール 450 例（平均年齢 36.5 歳、男性 49.3%）を用い、統合失調症との関連を検討した。その結果、男性において遺伝子多型分布が、患者群とコントロール群で有意に ($p < 0.05$) に異なるが、女性ではその違いは認められなかった。また、男性において R204 型は、コントロール (16.9%) と比較して、統合失調症患者 (23.8%) により多く認められた ($p < 0.05$, odds ratio 1.53, 95%CI 1.07-2.20)。H204R ミスセンス多型は、chimerin2 のジアシルグリセロール/ホルボールエステル結合部位の近傍にあり、その結合能に影響を与える可能性がある。以上から、chimerin2 遺伝子の H204R ミスセンス多型は、男性の統合失調症の脆弱性に寄与している可能性が示唆された。

目的

統合失調症では、神経発達や可塑性に関連する過程が障害されている可能性が示唆されている (DeLisi, 2000)。知的障害者は統合失調症発病危険性が高いことが指摘されており、両者は共通の遺伝的素因をもつ可能性がある。X連鎖性の知的発達障害では、Rho シグナル伝達系が関与することが知られており (Ramakers, 2002)、Rho GTPase 関連遺伝子は統合失調症の候補遺伝子であるといえる。GTP 結合タンパクである Rho ファミリーは神経ネットワークを制御しており、神経突起や成長円錐の形成に関与する (Negishi and Katoh, 2002)。Chimerin 2 遺伝子 (CHN2) は、GTPase 活性化タンパクの 1 つであり、脳に豊富に発現している (Yuan *et al.*, 1995)。したがって、CHN2 遺伝子の変異は統合失調症と関連する可能性がある。そこで、本研究はこの仮説を検証した。

対象と方法

対象は、293 名の統合失調症患者 (男 162、女 131、平均年齢 43.7 [SD 14.2]) と 450 名の健常者 (男 222、女 228、平均年齢 36.5 [SD 12.6]) である。診断は DSM-IV に基づいて行った。

研究について十分説明した上で、研究

参加について書面で同意を得た。また、検体は匿名化された状態で実験を行った。文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、各共同研究施設での倫理委員会において承認に基づいて上で研究を行った。

CHN2 遺伝子は染色体 7p15.3 にあり、13 エクソンからなる (Yuan *et al.*, 1995)。一塩基置換のデータベースで多型を探索したところ、エクソン 7 のアミノ酸置換 (H204R) を伴う変異が見いだされた (A611G; NCBI SNP ID: rs3750103) (Haga *et al.*, 2002)。他にミスセンス変異は見出されなかった。この変異は遺伝子産物の機能に影響する可能性があることから、この SNP について統合失調症との関連研究を行った。

遺伝子型の決定は、TaqMan 法を用いて行った (Hashimoto *et al.*, in press)。プライマーとプローブは、5'-CAGATCTCCTCCCTGGTTTCGA-3'、5'-TGCTTACCTTAAAGTTGTGTGTCTTCT-3'、5'-VIC-CCCTCACACACAACGA-MGB-3'、5'-FAM-CCTCACACGCAACGA-MGB-3' である。

結果

遺伝子型分布と対立遺伝子頻度を表 1

に示す。遺伝子型分布は、患者群、コントロール群ともに、男女共に Hardy-Weinberg 平衡からの有意な偏りはなかった。コントロール群と比較して患者群では R204 アリルの頻度が高い傾向がみられた($\chi^2=3.74$, $df=1$, $p=0.053$, $odds\ ratio=1.29$, $95\%CI\ 1.00-1.66$)。R204 アリルのホモ接合は、コントロール群と比較して患者群に有意に多かった($\chi^2=3.94$, $df=1$, $p=0.049$, $odds\ ratio=2.07$, $95\%CI\ 0.99-4.33$)。

統合失調症では、発症年齢、経過などにおいて性差が見られることから、男女別に CHN2 遺伝子との関連を検討したところ、R204 アリルは、男性では患者群がコントロール群と比較して有意に多かった($\chi^2=5.57$, $df=1$, $p=0.018$, $odds\ ratio=1.53$, $95\%CI\ 1.07-2.19$)。遺伝子型分布も男性では有意差がみられた($\chi^2=6.12$, $df=2$, $p=0.047$; $\chi^2=5.56$, $df=1$, $p=0.018$ by Mantel Haenszel テスト)。しかし、女性では、対立遺伝子頻度、遺伝子型分布ともに、患者群とコントロール群との間に有意差はみられなかった。

考察

CHN2 は、diacylglycerol / phorbol エステルとして働き、Rho GTPase ファミリーの1つである Rac GTPase の活性を

制御している(Caloca *et al.*, 2003)。CHN2 は、上皮成長因子(EGF)を刺激し、Rac-GTP 活性を抑制する。EGF は、統合失調症の前頭葉前野で減少しており、EGF 受容体発現は上昇していることが報告されている(Futamura *et al.*, 2002)。血漿 EGF 濃度は、統合失調症患者では著明に減少しているという(Futamura *et al.*, 2002)。さらに、ラット新生仔の EGF の変動は、sensorimotor gating や社会性の異常が生じるという報告もある(Futamura *et al.*, 2003)。EGF ファミリーの1つである neuregulin-1 は、統合失調症の感受性遺伝子である可能性が報告されており(Harrison and Owen, 2003)、統合失調症死後脳では、neuregulin-1 の発現の異常が認められている(Hashimoto *et al.*, 2003)。CHN2 遺伝子の H204R 多型は、neuregulin のシグナル伝達の異常をもたらすかもしれない。H204R アミノ酸置換は、diacylglycerol / phorbol エステル結合ドメイン(214-264 アミノ酸)の近傍にあることから、この多型はセンカンドメッセンジャーシグナルに影響を与える可能性がある。

以上、本研究によって、CHN2 遺伝子のミスセンス多型(H204R)と男子統合失調症との関連が見出された。しかし、有意水準は5%と弱い関連であったので、

今後独立なサンプルで関連の有無を確認する必要がある。また、このミスセンス多型が、実際に遺伝子産物の機能に影響を与えるか否かについては、今後検討していく予定である。

文献

- Caloca, M.J., Wang, H., and Kazanietz, M.G., 2003. Characterization of the Rac-GAP (Rac-GTPase-activating protein) activity of beta2-chimaerin, a 'non-protein kinase C' phorbol ester receptor. *Biochem J.* 375, 313-321.
- DeLisi, L.E., 2000. Critical overview of current approaches to genetic mechanisms in schizophrenia research. *Brain Res Brain Res Rev.* 31, 187-192.
- Futamura, T., Toyooka, K., Iritani, S., Niizato, K., Nakamura, R., Tsuchiya, K., Someya, T., Kakita, A., Takahashi, H., and Nawa, H., 2002. Abnormal expression of epidermal growth factor and its receptor in the forebrain and serum of schizophrenic patients. *Mol Psychiatry.* 7, 673-682.
- Futamura, T., Kakita, A., Tohmi, M., Sotoyama, H., Takahashi, H., and Nawa, H., 2003. Neonatal perturbation of neurotrophic signaling results in abnormal sensorimotor gating and social interaction in adults: implication for epidermal growth factor in cognitive development. *Mol Psychiatry.* 8, 19-29.
- Haga, H., Yamada, R., Ohnishi, Y., Nakamura, Y., and Tanaka, T., 2002. Gene-based SNP discovery as part of the Japanese Millennium Genome Project: identification of 190,562 genetic variations in the human genome. *Single-nucleotide polymorphism. J Hum Genet.* 47, 605-610.
- Harrison, P.J., and Owen, M.J., 2003. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet.* 361, 417-419.
- Hashimoto, R., Straub, R.E., Weickert, C.S., Hyde, T.M., Kleinman, J.E., and Weinberger, D.R., 2003. Expression Analysis of Neuregulin-1 in the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Schizophrenia. *Mol Psychiatry* advance online publication.
- Hashimoto, R., Yoshida, M., Ozaki, N., Yamanouchi, Y., Iwata, N., Suzuki, T.,

- Kitajima, T., Tatsumi, M., Kamijima, K., and Kunugi, H., in press. Association analysis of the -308G>A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor alpha (TNF- α gene in Japanese patients with schizophrenia. *Journal of Neural Transmission*.
- Negishi, M., and Katoh, H., 2002. Rho family GTPases as key regulators for neuronal network formation. *J Biochem (Tokyo)*. 132, 157-166.
- Ramakers, G.J., 2002. Rho proteins, mental retardation and the cellular basis of cognition. *Trends Neurosci*. 25, 191-199.
- Yuan, S., Miller, D.W., Barnett, G.H., Hahn, J.F., and Williams, B.R., 1995. Identification and characterization of human beta 2-chimaerin: association with malignant transformation in astrocytoma. *Cancer Res*. 55, 3456-3461.
- Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H: A missense polymorphism (H204R) of a Rho GTPase-activating protein, the chimerin 2 gene, is associated with schizophrenia in men. *Schizophr Res (in press)*

知的財産の出願・登録状況
特になし

健康危険情報

特になし

論文発表

Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N,

表1 CHN2 遺伝子 204R 多型に関する患者群と健常者群での対立遺伝子頻度と遺伝子型分布

Group	N	対立遺伝子頻度			遺伝子型分布			P
		His	Arg	P	His/His	His/Arg	Arg/Arg	
男性								
患者群	162	0.76	0.24	0.018	0.59	0.35	0.06	0.047
健常者群	222	0.83	0.17		0.68	0.29	0.02	
女性								
患者群	131	0.78	0.22	0.681	0.61	0.34	0.05	0.703
健常者群	228	0.79	0.21		0.62	0.35	0.03	
合計								
患者群	293	0.77	0.23	0.053	0.60	0.34	0.06	0.087
健常者群	450	0.81	0.19		0.65	0.32	0.03	

セロトニントランスポーター遺伝子の変異検索と精神疾患との関連

分担研究者 尾崎紀夫 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野

研究要旨：5-HT系シグナル伝達を調整する重要なファクターであり、SSRI等の向精神薬の標的でもある5HTT遺伝子(SLC6A4)を候補として、新たな変異検索を行い、精神障害との関連を検討した。またSLC6A4上のSNPをもちいてLdmappingを行った後、統合失調症のhaplotype 関連解析を行った。その結果、SLC6A4上にまれであるが機能的変化をもたらすアミノ酸置換Ile425Valを同定した。Valを有する個体は難治性・家族性強迫性障害があり、同時に5HTTLPRにおいてはLLであった。一方、SLC6A4を候補遺伝子としてLD mappingを行った結果、選出したrepresentative SNPsでhaplotypeを推定し日本人統合失調症との関連解析を行ったが、haplotype頻度に有意差は認められなかった。

A. 研究目的

これまで多くの研究成果により、セロトニン(5-HT)は自殺行為との関連が報告されていることから、我々は5-HT系遺伝子と精神障害との関連を検討してきた。5-HT系システムの中でも、5-HTトランスポーター(5HTT)はシナプス間隙に放出された5-HTを再取り込みする機能を持ち、5-HT系シグナル伝達を調整する重要なファクターである。また、抗うつ薬であるselective serotonin reuptake inhibitor(SSRI)を始めとする多くの薬剤の作用点であることも知られており、5-HT系の異常が病態生理に関与する可能性がある様々な精神障害との関連が注目されている。したがって、5HTTをコードする遺伝子(SLC6A4)を候補遺伝子として多様な精神疾患との関連研究が現在までに数多く行われてきた。

一方、精神障害の多くは発症頻度の高いcommon diseasesであり、その発症脆弱性に関与する遺伝子も多型性に富んだcommon variants

によるとするCD-CV仮説により検討されてきた。

その結果、SLC6A4上では2つの多型性に富み、機能に影響するとされる多型、5HTTLPR(5HTT-linked polymorphic region)と5HTTVNTR(5HTT variable number of tandem repeat)を用いた報告がほとんどである。しかし、最近、CD-CV仮説に対する疑義も提唱され、rare variantsの意義が再確認されつつある。さらに、連鎖不平衡(linkage disequilibrium; LD)解析は統合失調症をはじめとするcomplex diseasesの疾患感受性遺伝子を同定する方法として注目されているが、現在までのところ、SLC6A4において、single nucleotide polymorphism(SNP)を用いた詳細なLD mappingは行われていない。

そこで我々は1)まれであっても機能に影響する可能性のある変異を同定し、精神障害との関連を検討するために、Caucasianおよび様々な日本人精神障害患者を対象にSLC6A4上の変異検索を行い、精神障害との関係を検討した。

2) 5-HT 系の異常が病態生理に関連があるとされる統合失調症患者を対象に LD mapping を行い、その結果 representative SNP を選出し、統合失調症と正常対照者との haplotype 関連解析を行った。

B. 研究方法

1. 変異検索には多様な Caucasian 精神障害患者(強迫性障害 30 人、摂食障害 30 人、季節性感情障害 30 人)と日本人精神障害患者(統合失調症 37 人、双極性障害 27 人、大うつ病性障害 2 人、パニック障害 10 人、強迫性障害 10 人、アンフェタミン関連障害 10 人)を対象に行った。SLC6A4 の coding region をカバーする primer を設計した。SSCP もしくは DHPLC 法にて多型パターンを検出し、direct sequencing 法にて SNP を同定した。

2. LD mapping には日本人統合失調症患者 96 人、関連解析には新たに統合失調症患者 96 人(LD mapping の対象を加えて計 192 人)と、日本人正常対照者 192 人を対象とした。Genotyping には PCR-RFLP 法、TaqMan 法、direct sequencing 法を用いた。診断はすべて DSM-IV に基づき行われた。

3. なお、本研究は米国 NIH と三省合同のゲノム研究に関する倫理指針に則った名古屋大学倫理審査委員会、藤田保健衛生大学倫理審査委員会の承認を得ており、対象者には本研究に関して十分な説明を行い、文書にて同意を取得した。

C. 研究結果

1. 変異検索

Caucasian の家族内発症型強迫性障害において、SLC6A4 上に新たなアミノ酸置換を伴う稀な変異、

Ile425Val を同定した。Val を有する個体は難治性・家族性強迫性障害があり、同時に 5HTTLPR においては LL であった。また、日本人精神障害患者において SLC6A4 上に 1 個のアミノ酸置換を伴わない変異、134A>C を同定した。

2. LD mapping

検出力の観点から、LD mapping には今回我々が同定した変異は使用しなかった。従って、Database から 6 個の SNPs (rs1050565, rs2020934, rs2066713, rs140701, rs3794808, 3' UTRG>T) を選出し、96 人の日本人統合失調症患者の遺伝子型を確定した。すべての多型は Hardy-Weinberg 平衡から逸脱していなかった。exon と intron を cover する領域はほぼ perfect LD にあったが、翻訳開始点より 5' 上流は D' が約 0.7 と intermediate LD にあった。

3. 統合失調症との関連解析

LD mapping の結果、exon と intron 領域は 3' UTR G>T が、5' 上流領域は 2 つの SNPs (rs1050565, rs2020934) が、representative SNP として適切と考えた。これらの SNPs について新たに 96 人統合失調症患者(計 192 人)と正常対照者 192 人の genotype を行い、haplotype 関連解析を行った。しかし、haplotype 頻度に関して有意差は認められなかった。

D. 考察と結論

1. Caucasian の家族内発症型重症強迫性障害において、稀な変異、Ile425Val を同定した。この変異 Val/Val は培養細胞の検討結果において、5-HT 取り込み能が高かった。さらに、今回 Val 体を持つと同定され、強迫性障害を有する対象は、発現が 2-3 倍に増える 5HTTLPR の L allele を同じ DNA strand 上に持っていた。す

なわち、今回の特異な強迫性障害家族例は Val 体による 5-HT 取り込み能亢進のみならず、5HTTLPR の L 型を有することで 5HTT 量が増え、二重に 5-HT 取り込みが亢進し、結果的に 5-HT 神経系活動の低下に繋がり、その病態生理に影響を与えていると考えられる。

2. SLC6A4 を候補遺伝子として LD mapping を行った結果、選出した representative SNPs で haplotype を推定し日本人統合失調症との関連解析を行ったが、haplotype 頻度に有意差は認められなかった。したがって、日本人統合失調症の病態には本遺伝子が関与している可能性は薄いと考える。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada M, Northup J, Ozaki N, Russell J, Linnoila M, Goldman D: Modification of Human 5-HT_{2C} Receptor Function by Cys23Ser, an Abundant, Naturally Occurring Amino Acid Substitution. *Mol Psychiatry* 9 (1) :55-64, 2004

2. Iwata N, Suzuki T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Inada T, Ozaki N: No Association With the Neuregulin 1 Haplotype to Japanese Schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 9 (2) :126-127, 2004

3. Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H: Association analysis of the G308A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene in Japanese

patients with schizophrenia. *Journal of Neural Transmission* 111 (2) :217-222, 2004

4. Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Ikeda M, Ozaki N: Effect of DRD2, 5-HT_{2A}, and COMT genes on antipsychotic response to risperidone. *Pharmacogenomics J* 3 (6) :356-361, 2003

5. The Japanese Schizophrenia Sib-pairLinkageGroup (JSSLG) (Arinami T, IH, Minowa Y, Ohtsuki T, Tsujita T, Imamura A, Yoshikawa T, Toyota T, Yamada K, Shimizu H, Yoshitsugu K, Shibata H, Fujii Y, Fukumaki Y, Tashiro N, Inada T, Iijima Y, Kitao Y, Furuno T, Someya T, Mumtaka 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, 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)* 120B (1) :22-28, 2003

6. Suzuki T, Iwata N, Kitamura Y, Kitajima T, Yamanouchi Y, Ikeda M, Kamatani N, Ozaki N: Association of a haplotype in the serotonin 5-HT₄ receptor gene (HTR₄) with Japanese schizophrenia. *Am J Med Genet* 121B (1) :7-13, 2003

7. Ozaki N, Goldman D, Kaye WH, Plotnicov K, Greenberg BD, Lappalainen J, Rudnick G,

Murphy DL: Serotonin transporter missense mutation associated with a complex neuropsychiatric phenotype. *Mol Psychiatry* 8 (11) :933-936, 2003

8. Okada M, Irie S, Sawada M, Urae R, Urae A, Iwata N, Ozaki N, Akazawa K, Nakanishi H: Pepstatin A induces extracellular acidification distinct from aspartic protease inhibition in microglial cell lines. *Glia* 43 (2) :167-74, 2003

9. Noda M, Yasuda S, Okada M, Higashida H, Shimada A, Iwata N, Ozaki N, Nishikawa K, Shirasawa S, Uchida M, Aoki S, Wada K: Recombinant human serotonin 5A receptors stably expressed in C6 glioma cells couple to multiple signal transduction pathways. *J Neurochem* 84 (2) :222-232, 2003

10. Ujike H, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Sora I, Iyo M, Katsu T, Nomura A, Nakata K, Ozaki N: Nine- or fewer repeat alleles in VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene is a strong risk factor for prolonged methamphetamine psychosis. *Pharmacogenomics J* 3 (4) :242-247, 2003

2. 学会発表

1. Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Ikeda M: Effect of Dopaminergic and Serotonergic Gene Polymorphisms on Antipsychotic Response to Risperidone, in 11th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE PACIFIC RIM ASSOCIATION FOR CLINICAL PHARMACOGENETICS, Applications of

Pharmacogenomics to Psychiatry. LA, 2003

2. 鈴木竜世, 西山毅, 山之内芳雄, 北島剛司, 池田匡史, 前野信久, 岩田仲生, 尾崎紀夫: 5-HT_{2A} 受容体遺伝子の多型検索と統合失調症との関連研究, in 第25回日本生物学的精神医学会, 2003

3. Okada M, Goldman D, Linnoila M, Iwata N, Ozaki N, Northup J: COMPARISON OF G-PROTEIN PROMISCUITY TOWARD HUMAN 5-HT_{2C} AND 5-HT_{1A} RECEPTORS, in Satellite Meeting of the International Society of Neurochemistry: Kyoto, 2003

4. Kitajima T, Suzuki T, Iwata N, Ikeda M, Yamanouchi Y, Ozaki N: Pharmacogenetic Study of Fluvoxamine Response in Major Depression using 5-HTT, HTR_{2A} and HTR_{3A} Gene Polymorphisms, in 11th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE PACIFIC RIM ASSOCIATION FOR CLINICAL PHARMACOGENETICS. LA, 2003

5. 尾崎紀夫, 岩田仲生, 北島剛司, 山之内芳雄, 鈴木竜世, 池田匡志, 前野信久: SSRI 反応性とセロトニン(5-HT)系遺伝子多型, in 第13回日本臨床精神神経薬理学会 シンポジウム 遺伝子多型と臨床応用. 弘前, 2003

6. 尾崎紀夫, 岩田仲生: 統合失調症の神経発達障害・神経変性仮説とゲノム研究の統合, in 第35回脳の医学・生物学研究会. 名古屋, 2003

7. 尾崎紀夫, 岩田仲生, 内藤宏, 鈴木竜世, 野畑綾子: うつ病の発症・経過において環境が果たす役割, in 第10回日本産業精神保健学会・シンポジウム「生活習慣病とメンタルヘル

ス』．東京，2003

8. 池田匡史，太田龍朗，鈴木竜世，山之内芳雄，西山毅，北島剛司，前野信久，岩田仲生，尾崎紀夫：GABAA受容体 $\alpha 1$ サブユニット遺伝子多型検索と関連解析，in 第25回日本生物学的精神医学会 ，2003

9. Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Ikeda M, Inada T, Ozaki N: MUTATION SCREENING OF THE HUMAN CANNABINOID RECEPTOR 1 (CNR1) IN JAPANESE SCHIZOPHRENI, in 11th World Congress on Psychiatric Genetics. Quebec, 2003

10. Iwata N, Ozaki N, Yamanouchi Y, Suzuki S, Kitajima T, Ikeda M, Maeno H, Ujike H, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Sora I, Abuse) JGIMD: Candidate Gene Analysis of Amphetamine-related Disorders, in Satellite Meeting of the International Society of Neurochemistry: Symposium (Molecular Genetics of Substance-related Disorders). Kyoto, 2003

11. 前野信久，楠和憲，小野雄一郎，今井真，李嵐，粥川祐平，尾崎紀夫，太田龍朗：三次元人格評価尺度（TPQ）を用いた季節性感情障害（SAD）の人格特性の解析，in 第25回日本生物学的精神医学会 ，2003

12. 新田真理，阿部徳一郎，尾崎紀夫：パニック障害の人格特性と、薬剤反応性がTCI得点に及ぼす影響，in 第13回日本臨床精神神経薬理学会．新潟，2003

H. 知的財産権の出願。登録状況

なし。

自殺を惹起する精神疾患における dihydropyrimidinase-like 2 および frizzled-3 遺伝子相関研究

分担研究者: 氏家 寛¹⁾

共同研究者: 中田謙二^{1, 2)}、勝 強志¹⁾、坂井 歩^{1, 3)}、野村 晃¹⁾、田中有史¹⁾、黒田重利¹⁾、JGIDA⁴⁾

(¹⁾岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野、²鳥取市立病院、³笠岡病院、⁴Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse)

【研究要旨】

平成 14 年に行った覚醒剤精神病および統合失調症の動物モデルでの研究で、これら疾患の発症にはシナプス新生や神経発芽など長期可塑性にかかわる分子が関与していることが明らかになった。この動物実験の知見から本年度では、神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる 2 つの分子、dihydropyrimidinase-related protein 2 と frizzled-3 遺伝子をヒトゲノムで解析した。その結果、dihydropyrimidinase-related protein 2 の 3'非翻訳部分の*2236T>C および 1506T-*2236C ハプロタイプが統合失調症発症の防禦因子であることを発見した。一方、この遺伝子は双極性障害や覚醒剤精神病においては影響しない事も明らかにした。また、frizzled-3 遺伝子では、イントロン 3 の IVS3+258T>C および IVS3+258T-435G のハプロタイプが発症危険因子であることを明らかにした。

A. 目的

薬物依存症はその薬物が体に悪いことを知りながらも薬物を摂取し続けることから「慢性自殺」とも言われる。アルコール依存症で肝硬変症や糖尿病を合併し、医師から最終勧告を受けながら断酒しないのはその端的な例である。また、統合失調症やうつ病では実際に自殺率が非常に高い。こういった疾患の発症メカニズムを解明することはメンタルヘルスにおいて最重要課題である。これら心の病の発症に遺伝要因が関与していることは、多くの家族研究、双生児研究などから確立されている。一方で、これら疾患の病態生理の一つとして神経発達障害や神経突起の伸長低下などといった神経分化、可塑性の異常が関与していることが推定されている。昨年度は覚醒剤精神病および統合失調症の動物モデルを用いた基礎研究により、これら疾患の発症にはシナプス新生や神経発芽など長期可塑性にかかわる分子が関与していること

が明らかになった。そこで、本年度はこの結果をふまえて、神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる 2 つの分子、dihydropyrimidinase-related protein 2 (以下 DRP0-2) と frizzled-3 (FZD-3) 遺伝子をその候補遺伝子として、ヒトゲノムでの解析を行った。DRP-2 は、dihydropyrimidinase のホモログとして同定された DRP 遺伝子ファミリーの一つで¹²⁾、神経細胞軸索の伸長やガイダンスに関与している蛋白である^{4, 11, 16)}。この dihydropyrimidinase 自体の欠損においても、神経発達の遅延や停止、髄鞘化の遅延による二次的な神経変性などが生じ、重篤な神経学的欠陥が起こることが知られている^{13, 17)}。DRP-2 は、発生時期の神経組織で高レベルに発現しており、神経細胞軸索の成長円錐を退縮させることで軸索の伸長方向を制御する反発性のガイダンス因子である Collapsin の細胞内でのシグナル伝達に関与しており、神経発達過程において重要な役割を担って

いる。そのため、collapsin response mediator protein-2 (CRMP-2) とも呼ばれている¹⁶⁾。近年、培養海馬神経細胞を用いた実験において、DRP-2は神経細胞軸索のより遠位部分に濃縮して存在しており、DRP-2を過剰に発現させることで軸索様突起が複数本形成され、DRP-2のC末側を欠いたフラグメントを発現させると軸索伸長の阻害や軸索形成の抑制がみられるなど、DRP-2は軸索の運命決定や伸長において極めて重要な役割を担っていることが実証されている¹⁰⁾。

FZD-3はfrizzledファミリーの一つであり、7回膜貫通型の膜蛋白で、Wntリガンドに対する受容体として同定されている²⁾。Wnt蛋白は、胎生期のパターンニングや細胞の増殖、極性、発生運命決定の調節を含む多くの様々な過程において確立された役割を有している^{3, 21)}。中枢神経系では、大脳皮質発達間のパターンニング調節、神経堤の形成、軸索の発達においてWnt/FZDシグナル経路が重要な役割を果たしていることが知られている^{8, 18)}。どちらの遺伝子も8p21に位置しており、これは統合失調症で連鎖が複数報告されている部位の一つである。こういった背景から、DRP-2およびFZD-3遺伝子多型が統合失調症、双極性障害、覚せい剤依存症においてゲノム関連研究を行った。

B. 方法

1. 対象

統合失調症患者は200名で、男性108名、女性92名、平均年齢45.1±12.5歳である。健常対照群は患者群と年齢・性別・居住地域を一致させた218名、男性112名、女性106名、平均年齢46.5±15.7歳である。健常対照群は、精神神経疾患の既往歴及び家族歴のない者とした。診断はICD-10の診断基準に基づき判定し、統合失調症の下位分類では、妄想型91名、破瓜型107名、緊張型2名から構成されている。双極性障害患者は101名、男性53名、女性48名で、平均年齢は52.2±14.1歳である。下位分類ではI型双極性障害が80名、II型双極性障害が21名である。健常対照者は167名で、男性85名、女性82名で、平均年齢は46.1±11.8歳である。覚せい剤使用者はJGIDA多施設共同研究としてゲノム収集し、現在までに198名

の患者ゲノムを収集できた(男性158名、女性40名、平均年齢36.6±11.8歳)。これは、国内外でも最大のゲノムバンクとなった。非使用対照者は221名で、男性171名、女性50名で、平均年齢は36.6±10.6歳である。患者の内訳は依存症(F15.2)が184名、そのうち精神病性障害(F15.5)を合併しているものが168名(以下、単に覚せい剤精神病と呼ぶ)、使用のみで依存症のない者が14名である。研究に先立ち、岡山大学及び各参加病院、施設で倫理委員会の審査、承認を受け、すべての対象者からは文書によるインフォームドコンセントを得ている。

2. ゲノム解析による関連研究

対象者から末梢血6mlを採血し、スタンダードな方法でゲノムDNAを抽出し、以後の解析に使用した。

DRP-2遺伝子では5つの多型、-975C>G、352G>A、426C>T、1506T>C、*2236T>Cを検討した。-975C>G多型は5'のflanking領域に存在するが、この多型がプロモーター活性に影響を与える変異であるかどうかは確認されていない。エクソン4に存在する352G>A多型はミスセンス変異(Ala118Thr)で、エクソン4の426C>T多型とエクソン13の1506T>C多型はサイレント変異である。*2236T>C多型は、エクソン14の3'非翻訳領域(UTR)に存在する多型である。PCRで増幅後、多型部分を認識する制限酵素で消化後、アガロースゲルによる電気泳動でgenotypingした。FZD-3遺伝子では、-11493A>G、1VS3+258T>C、435G>Aの3ヶ所を解析した。435G>Aはエクソン5に存在するが、サイレント変異である。

統計には χ^2 乗検定、Fisher's exact testおよびモンテカルロ法によるCLUMPを用いた。連鎖不平衡およびハプロタイプ解析にはEII programとArlequin programを用いた。

C. 結果

1.1 DRP-2遺伝子多型と統合失調症

表 1. DRP-2 遺伝子多型と統合失調症の相関解析結果

	n	Genotype			P	Allele		P
		CC	CG	GG		C	G	
-975C>G (5'-flanking)								
Control	208	125 (60.1)	75 (36.1)	8 (3.8)		325 (78.1)	91 (21.9)	
Schizophrenia	200	116 (58.0)	74 (37.0)	10 (5.0)	.80	306 (76.5)	94 (23.5)	.62
Paranoid	91	54 (59.3)	33 (36.3)	4 (4.4)	1.00	141 (77.5)	41 (22.5)	.91
Hebephrenic	107	61 (57.0)	40 (37.4)	6 (5.6)	.71	162 (75.7)	52 (24.3)	.55
Catatonic	2	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0)		3 (75.0)	1 (25.0)	—
352G>A (exon 4)								
		GG	GA	AA		G	A	
Control	185	170 (91.9)	14 (7.6)	1 (0.5)		354 (95.7)	16 (4.3)	
Schizophrenia	194	177 (91.2)	16 (8.3)	1 (0.5)	.93	370 (95.4)	18 (4.6)	.86
Paranoid	90	79 (87.8)	10 (11.1)	1 (1.1)	.49	168 (93.3)	12 (6.7)	.30
Hebephrenic	103	97 (94.2)	6 (5.8)	0 (0)	.77	200 (97.1)	6 (2.9)	.50
Catatonic	1	1 (100.0)	0 (0)	0 (0)		2 (100.0)	0 (0)	—
426C>T (exon 4)								
		CC	CT	TT		C	T	
Control	208	170 (81.7)	36 (17.3)	2 (1.0)		376 (90.4)	40 (9.6)	
Schizophrenia	200	173 (86.5)	27 (13.5)	0 (0)	.17	373 (93.2)	27 (6.8)	.16
Paranoid	91	78 (85.7)	13 (14.3)	0 (0)	.47	169 (92.9)	13 (7.1)	.35
Hebephrenic	107	93 (86.9)	14 (13.1)	0 (0)	.32	200 (93.5)	14 (6.5)	.23
Catatonic	2	2 (100.0)	0 (0)	0 (0)		4 (100.0)	0 (0)	—
1506T>C (exon 13)								
		TT	CT	CC		T	C	
Control	208	100 (48.1)	86 (41.3)	22 (10.6)		286 (68.8)	130 (31.2)	
Schizophrenia	200	93 (46.5)	86 (43.0)	21 (10.5)	.96	272 (68.0)	128 (32.0)	.82
Paranoid	91	41 (45.0)	37 (40.7)	13 (14.3)	.65	119 (65.4)	63 (34.6)	.45
Hebephrenic	107	52 (48.6)	48 (44.9)	7 (6.5)	.49	152 (71.0)	62 (29.0)	.58
Catatonic	2	0 (0)	1 (50.0)	1 (50.0)		1 (25.0)	1 (75.0)	—
*2236T>C (3'UTR)								
		TT	CT	CC		T	C	
Control	208	136 (65.4)	64 (30.8)	8 (3.8)		336 (80.8)	80 (19.2)	
Schizophrenia	200	152 (76.0)	46 (23.0)	2 (1.0)	.023	350 (87.5)	50 (12.5)	.0097
Paranoid	91	74 (81.3)	15 (16.5)	2 (2.2)	.023	163 (89.6)	19 (10.4)	.0083
Hebephrenic	107	76 (71.0)	31 (29.0)	0 (0)	.097	183 (85.5)	31 (14.5)	.15
Catatonic	2	2 (100.0)	0 (0)	0 (0)		4 (100.0)	0 (0)	—

Numbers in parentheses indicate percentages. Statistical analysis was performed by Fisher's Exact Test.
DRP-2, dihydropyridinase-related protein 2.

すべての群で、検討した DRP-2 遺伝子多型分布は Hardy-Weinberg 平衡から逸脱していなかった。疾患との関連では 4 種の多型 (-975C>G、352G>A、426C>T、1506T>C) においては、統合失調症との統計学的有意な関連は認められなかったが、*2236T>C 多型では、統合失調症群との間で、遺伝子型頻度 ($\chi^2=7.28$, $P=0.023$) 及び対立遺伝子頻度 ($\chi^2=6.67$, $P=0.0097$) に有意な関連が見出された (表 1)。また、統合失調症の下位分類での検討では、妄想型統合失調症と有意な関連を認めたが (遺伝子型頻度; $\chi^2=7.69$, $P=0.023$ 、対立遺伝子頻度; $\chi^2=6.92$, $P=0.0083$)、破瓜型統合失調症とは関連は認めなかった。*2236C の遺伝子型頻度は、正常対照群で統合失調症群及び妄想型統合失調症群に比べて有意に高く、それぞれのオッズ比は 0.60 (95%信頼区間 0.41-0.88)、0.49 (95%信頼区間 0.29-0.84) と 1 以下であり、統合失調症にお

ける発症予防因子であることが明らかとなった。また、*2236T>C 多型と 1506T>C 多型とが強い連鎖不平衡にあることが認められたため ($R^2=0.00001$)、ハプロタイプ解析を行ったところ、1506T-*2236C のハプロタイプ頻度は、やはり正常対照群で統合失調症群 ($P=0.014$) 及び妄想型統合失調症群 ($P=0.011$) に比べて有意に高かった (表 2)。

表 2. 統合失調症における DRP-2 遺伝子ハプロタイプ解析

Haplotype		Estimated Frequency		
1506T>C	*2236T>C	Control	SZ	Paranoid
C	C	.004808	.000000	.000000
C	T	.307692	.320000	.346154
T	C	.187500	.125000*	.104396*
T	T	.500000	.555000	.549451

* $p < .014$ for differences in haplotype frequency between control and schizophrenia.

* $p < .011$ for differences in haplotype frequency between control and paranoid-type schizophrenia.

1.2 DRP-2 遺伝子多型と双極性障害

統合失調症と同様に双極性障害患者群においても、すべての多型分布はHardy-Weinberg 平衡から逸脱していなかった。疾患との関連では、DRP-2 遺伝子多型の調べた5ヶ所のSNPはいずれも有意な相関はなかった(表3)。下位分類の検討でも、双極I型およびII型においても有意な相関を示した多型はなかった。*2236T>C 多型と1506T>C 多型との間に強い連鎖不平衡にあったので、この部位でのハプロタイプ解析を行ったが、やはり有意な相関はなかった(表4)。

1.3 DRP-2 遺伝子多型と覚せい剤依存症

覚せい剤依存症及び精神病においては、統合失調症で有意な相関を示した DRP-2 遺伝子の3'UTR の*2236T>C 多型のみを検討した。その結果、覚せい剤依存症、覚せい剤精神病のいずれとも有意な相関はなかった(表5)。また、各臨床特性である初回薬物使用年齢、薬物使用から精神病発現まで

の潜時、治療後の予後(遷延性精神病の有無)、いわゆるフラッシュバック合併の有無、多剤乱用の有無においても有意な相関はなかった。

2.1 FZD-3 遺伝子多型と統合失調症

すべての群で、検討した FZD-3 遺伝子の各多型における遺伝子型の分布は、Hardy-Weinberg 平衡から逸脱していなかった。

-11493A>G 多型においては、健常対照群と統合失調症群との間で、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度に統計学的有意な差は認められなかった(表6)。統合失調症の下位分類との関連においては、健常対照群と妄想型統合失調症群との間で、遺伝子型頻度に統計学的有意な差が検出された(遺伝子型頻度： $\chi^2 = 5.70$, d. f. = 2, $P = 0.037$) が、これはボンフェローニ多重検定補正後には統計学的有意な差は認められなかった。

表3. DRP-2 遺伝子多型の双極性障害における相関解析結果

	n	Genotype			P	Allele		P
-975C > G (5' -flanking)		CC	CG	GG		C	G	
Control	167	100 (59.9)	60 (35.9)	7 (4.2)		260 (77.8)	74 (22.2)	
Total BPD	101	69 (68.3)	26 (25.8)	6 (5.9)	0.22	164 (81.2)	38 (18.8)	0.38
Bipolar I	80	52 (65.0)	23 (28.8)	5 (6.2)	0.50	127 (79.4)	33 (20.6)	0.72
Bipolar II	21	17 (80.9)	3 (14.3)	1 (4.8)	0.13	37 (88.1)	5 (11.9)	0.16
352G > A (exon 4)		GG	GA	AA		G	A	
Control	153	142 (92.8)	10 (6.5)	1 (0.7)		294 (96.1)	12 (3.9)	
Total BPD	99	93 (93.9)	6 (6.1)	0 (0)	1.00	192 (97.0)	6 (3.0)	0.64
Bipolar I	78	73 (93.6)	5 (6.4)	0 (0)	1.00	151 (96.8)	5 (3.2)	0.80
Bipolar II	21	20 (95.2)	1 (4.8)	0 (0)	0.93	41 (97.6)	1 (2.4)	0.72
426C > T (exon 4)		CC	CT	TT		C	T	
Control	167	138 (82.6)	27 (16.2)	2 (1.2)		303 (90.7)	31 (9.3)	
Total BPD	101	78 (77.2)	23 (22.8)	0 (0)	0.27	179 (88.6)	23 (11.4)	0.46
Bipolar I	80	62 (77.5)	18 (22.5)	0 (0)	0.31	142 (88.8)	18 (11.2)	0.52
Bipolar II	21	16 (76.2)	5 (23.8)	0 (0)	0.99	37 (88.1)	5 (11.9)	0.78
1506T > C (exon 13)		TT	CT	CC		T	C	
Control	167	81 (48.5)	69 (41.3)	17 (10.2)		231 (69.2)	103 (30.8)	
Total BPD	101	54 (53.5)	39 (38.6)	8 (7.9)	0.67	147 (72.8)	55 (27.2)	0.38
Bipolar I	80	44 (55.0)	31 (38.8)	6 (6.2)	0.50	119 (74.4)	41 (25.6)	0.25
Bipolar II	21	10 (47.6)	8 (38.1)	3 (14.3)	0.84	28 (66.7)	14 (33.3)	0.86
*2236T > C (exon 14)		TT	CT	CC		T	C	
Control	167	108 (64.7)	51 (30.5)	8 (4.8)		267 (79.9)	67 (20.1)	
Total BPD	101	71 (70.3)	29 (28.7)	1 (1.0)	0.23	171 (84.7)	31 (15.3)	0.20
Bipolar I	80	53 (66.3)	26 (32.5)	1 (1.2)	0.43	132 (82.5)	28 (17.5)	0.54
Bipolar II	21	18 (85.7)	3 (14.3)	0 (0)	0.12	39 (92.9)	3 (7.1)	0.06

Numbers in parentheses indicate percentages. Statistical analysis was performed by chi-square test or Fisher's exact test.

表4. 双極性障害における DRP-2 遺伝子ハプロタイプ解析

Haplotype		Estimated frequency	
		Control	BPD
332G > A	1506T > C		
G	T	0.689540	0.727271
G	C	0.271244	0.242426
A	T	0.000002	0.000001
A	C	0.039213	0.030302
1506T > C	*2236T > C		
T	T	0.496543	0.574264
T	C	0.195074	0.153459
C	T	0.302849	0.272271
C	C	0.005525	0.000006

IVS3+258T>C 多型においては、健常対照群と統合失調症群との間で、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度に統計学的有意な差が検出された (遺伝子型頻度: $\chi^2 = 10.2$, d. f. = 2, $P = 0.0061$; 対立遺伝子頻度: $\chi^2 = 9.29$, d. f. = 1, $P = 0.0024$)。統合失調症の下位分類との関連においては、健常対照群と妄想型統合失調症群との間で、遺伝子型頻度に統計学的有意な差は認められなかったが、対立遺伝子頻度に統計学的有意な差が検出された (対

立遺伝子頻度: $\chi^2 = 4.66$, d. f. = 1, $P = 0.033$)。また、健常対照群と破瓜型統合失調症群との間で、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度に統計学的有意な差が検出された (遺伝子型頻度: $\chi^2 = 7.01$, d. f. = 2, $P = 0.031$; 対立遺伝子頻度: $\chi^2 = 6.57$, d. f. = 1, $P = 0.011$)。これらのうち、健常対照群と統合失調症群との間での、対立遺伝子頻度には、ボンフェローニ補正後もなお統計学的有意な差が認められた ($P < 0.05$)。435G>A 多型においては、健常対照群と統合失調症群及びその下位分類 (妄想型、破瓜型) との間で、遺伝子型頻度、対立遺伝子頻度に統計学的有意な差は認められなかった。

各多型間での連鎖不平衡の存在有無を検討したところ、IVS3+258T>C と 435G>A の両多型は強い連鎖不平衡にあることが認められた ($P < 0.00001$)。そこで、これら2箇所の多型からハプロタイプ解析を行ったところ、IVS3+258T-435G のハプロタイプ頻度は、統合失調症群において健常対照群に比べて統計学的に有意に高かった (表7, $P = 0.022$)。

D. 考察

表5. 覚せい剤依存・精神病における Dihydropyrimidinase like-2 遺伝子の相関解析結果

DRP-2 *2236T>C	N	Genotype			P	Allele		P
		TT	TC	CC		T	C	
Control	221	70.1%	27.1%	2.7%	0.93	83.7%	16.3%	0.85
METH Dependence	198	70.7%	27.3%	2.0%		84.3%	15.7%	
METH Psychosis	164	70.7%	27.4%	1.8%		84.5%	15.5%	
Age of First Use					0.98			0.91
20y<	98	70.8%	27.1%	2.1%		84.4%	15.6%	
20y≥	103	69.9%	28.2%	1.9%		84.0%	16.0%	
Latency of Psychosis					0.57			0.29
3y<	76	72.4%	26.3%	1.3%		85.5%	14.5%	
3y≥	82	64.6%	32.9%	2.4%		81.1%	18.9%	
Prognosis of Psychosis					0.52			0.88
Transient	91	69.2%	29.7%	1.1%		84.1%	15.9%	
Prolonged	67	73.1%	23.9%	3.0%		85.1%	14.9%	
Spontaneous Relapse					0.83			0.41
+	71	67.6%	29.6%	2.8%		82.4%	17.6%	
-	95	72.6%	26.3%	1.1%		85.8%	14.2%	
poly-drug abuse					0.71			0.51
-	59	71.2%	25.4%	3.4%		83.9%	16.1%	
mild	62	66.1%	32.3%	1.6%		82.3%	17.7%	
heavy	71	76.1%	22.5%	1.4%		87.3%	12.7%	