

表6. 統合失調症における FZD-3 遺伝子多型の相関解析結果

	n	Genotype			P	Allele		P
- 11493A > G								
Control	218	AA (89.4)	AG (10.1)	GG (0.5)		A (94.5)	G (5.5)	
Schizophrenia	200	170 (85.0)	29 (14.5)	1 (0.5)	0.32	369 (92.2)	31 (7.8)	0.21
Paranoid type	91	73 (80.2)	18 (19.8)	0 (0.0)	0.037	164 (90.1)	18 (9.9)	0.055
Hebephrenic type	107	96 (89.7)	10 (9.4)	1 (0.9)	0.93	202 (94.4)	12 (5.6)	1.00
Catatonic type	2	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)		3 (75.0)	1 (25.0)	
IVS3 + 258T > C								
Control	209	TT (24.9)	TC (53.1)	CC (22.0)		T (51.4)	C (48.6)	
Schizophrenia	200	72 (36.0)	104 (52.0)	24 (12.0)	0.0061	248 (62.0)	152 (38.0)	0.0024
Paranoid type	91	31 (34.1)	49 (53.8)	11 (12.1)	0.071	111 (61.0)	71 (39.0)	0.033
Hebephrenic type	107	39 (36.4)	55 (51.4)	13 (12.2)	0.031	133 (62.1)	81 (37.9)	0.011
Catatonic type	2	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		4 (100.0)	0 (0.0)	
435G > A								
Control	215	GG (27.9)	GA (50.7)	AA (21.4)		G (53.3)	A (46.7)	
Schizophrenia	197	62 (31.5)	105 (53.3)	30 (15.2)	0.27	229 (58.1)	165 (41.9)	0.16
Paranoid type	88	26 (29.5)	46 (52.3)	16 (18.2)	0.83	98 (55.7)	78 (44.3)	0.59
Hebephrenic type	107	35 (32.7)	58 (54.2)	14 (13.1)	0.18	128 (59.8)	86 (40.2)	0.13
Catatonic type	2	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)		3 (75.0)	1 (25.0)	

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

統合失調症におけるDRP-2遺伝子との関連研究からは、*2236Cの遺伝子と1506T-*2236Cのハプロタイプが、統合失調症、特に妄想型統合失調症のリスクへの保護的に関与している可能性が示唆された。しかし、DRP-2遺伝子の3'UTR (非翻訳領域) に存在する*2236T>C多型の生物学的機能については全く知られていない。近年、mRNAの3'UTRも、5'UTRと同様に、転写後の遺伝子発現の制御において重要な役割を果たすという知見が集積されてきている。3'UTRには、mRNAの安定性や翻訳効率を制御する働きを有する数多くの配列が存在すると考えられている⁷⁾。従って、3'UTRに存在する*2236T>C多型自体が、mRNAの安定性や翻訳効率に直接的な影響を与え得る機能的な多型である可能性が考えられる。また、この*2236T>C多型と連鎖不平衡にあり、DRP-2遺伝子の発現に影響を与えるような未知の機能的な多型が近傍に存在し、この多型が統合失調症の発症予防に関わっているのかもしれない。Johnston-Wilson et al¹⁴⁾は、成人死後脳研究で統合失調症において、前頭葉皮質におけるDRP-2発現レベルの有意な減少を報告しており、今回のゲノム研究で見出された多型がこれと関連する可能性があり、今後はポストゲノム解析が必要である。Johnston-Wilsonら¹⁴⁾は統合失調症のみならず、双極性障害、うつ病性障害者の死後脳前頭葉でもDRP-2発現レベルの有意な減少を報告している。

双極性障害は、統合失調症と並ぶ二大精神病の一つであり、両疾患の臨床徴候は大きく異なっているが、その病因、特に遺伝的要因については一部両疾患でオーバーラップしていることを示唆する報告が複数存在する。例えば、連鎖研究において両疾患との有意な連鎖が、染色体3q、10p13-p12、13q32、18p、22q11-q13領域において報告されている^{1, 19)}。DRP-2遺伝子が存在する染色体8p21領域も、両疾患でオーバーラップする候補遺伝子座位の一つである⁶⁾。最近、双極性障害の病態の一つとして海馬での神経細胞や神経突起の減少、神経可塑性の低下が注目されている。海馬は成人期においても神経新生が続いている部位の一つであり、双極性障害ではこれの機能不全が生じている

表7. 統合失調症における FZD-3 遺伝子ハプロタイプ解析

Haplotype		Estimated frequency	
		Control	Schizophrenia
IVS3 + 258T > C	435G > A		
T	G	0.458915	0.539359 ^a
T	A	0.060502	0.079930
C	G	0.072638	0.041859
C	A	0.407944	0.338852

^a P = 0.022 for difference in haplotype frequency between control and schizophrenia.

と推定されている⁹⁾。双極性障害の治療に使用される炭酸リチウムは、神経突起の増加や神経新生の活性化を促すことが報告されている⁵⁾。また、炭酸リチウム、バルプロ酸やカルバマゼピン投与にて、神経細胞軸索成長円錐の崩壊が減少し、成長円錐サイズの拡大がもたらされることが報告されており²⁰⁾、そのため双極性障害では軸索の成長障害が存在することが推定される。これらのことより、双極性障害においてもDRP-2の関与が想定されるため、DRP-2遺伝子と双極性障害との関連研究を行ったが、双極性障害との有意な関連性は認められなかった。

覚せい剤依存・精神病の臨床像およびその経過は慢性の統合失調症と類似することから、両疾患には共通する危険因子が存在する可能性は推定されている。本研究で、統合失調症の防禦因子であることが明らかとなったDRP2遺伝子の*2236C多型を覚せい剤依存・精神病患者で調べたが、有意な相関はなかった。今回の結果は、軸索の伸長のガイダンスといった早期の神経分化・成熟に重要なDRP-2遺伝子は、覚せい剤といった外因による精神病形成にはあまり重要ではないということが明らかとなり、少なくとも、DRP-2遺伝子が統合失調症と覚せい剤精神病での共通する脆弱性には寄与していないことが明らかとなった。

FZD3 遺伝子多型と統合失調症との間において、IVS3+258T の遺伝子頻度が、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く、そのオッズ比は 1.54 (95%信頼区間 1.17-2.04)であった。加えて、IVS3+258T 遺伝子を含む IVS3+258T-435G 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く、IVS3+258T 遺伝子と IVS3+258T-435G ハプロタイプの、統合失調症の発症脆弱性との関連が強く見出された。しかし、この IVS3+258T>C 多型の生物学的機能については全く知られていない。IVS3+258T>C 多型は、FZD3 遺伝子のイントロン3に存在する。近年、イントロン及びスプライソームによるイントロン除去作用が、遺伝子の初期転写や、pre-mRNA の編集とポリアデニル化や、mRNA 産物の核輸送、翻訳、崩壊などの、mRNA 代謝の多くの段階に影響を与えうるという知見が集積

されてきている¹⁶⁾。従って、イントロン3に存在する IVS3+258T>C 多型自体が、mRNA 代謝の調節に対して直接的または間接的な作用を及ぼす多型である可能性が考えられる。また、この IVS3+258T>C 多型を含む IVS3+258T-435G ハプロタイプと連鎖不均衡にあり、FZD3 遺伝子産物の機能に影響を与えるような未知の機能的な多型がエクソン部位に存在する可能性も考えられる。いずれにせよ、Wnt シグナル経路の調節異常が、統合失調症への疾病脆弱性に関与している可能性を示す、初めてのゲノム解析からの証拠を見出した。今後は統合失調症の病因、病態における FZD3 遺伝子の正確な役割を更に検討し、治療応用に向けての検索が必要と思われる。

E. 結論

自殺を含むメンタルヘルスに関わる精神疾患発症における感受性遺伝子の検索において、DRP-2 および FZD-3 遺伝子多型にて相関解析した。その結果、DRP-2 遺伝子の*2236C 多型および 1506T-*2236C ハプロタイプが統合失調症の発症防禦因子であること、双極性障害、覚せい剤依存症には関連しないこと、FZD-3 遺伝子の IVS3+258T および IVS3+258T-435G ハプロタイプが統合失調症発症危険因子であることを見出した。

【参考文献】

- 1) Bailer, U., Leisch, F., Meszaros, K., et al.: Genome scan for susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder. *Biol Psychiatry*, 52: 40-52., 2002.
- 2) Bhanot, P., Brink, M., Samos, C.H., et al.: A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*, 382: 225-30, 1996.
- 3) Brown, J.D. and Moon, R.T.: Wnt signaling: why is everything so negative? *Curr Opin Cell Biol*, 10: 182-7, 1998.
- 4) Byk, T., Dobransky, T., Cifuentes-Diaz, C., et al.: Identification and molecular characterization of Unc-33-like phosphoprotein (Ulip), a putative mammalian homolog of the axonal

- guidance-associated unc-33 gene product. *J Neurosci*, 16: 688-701., 1996.
- 5) Chen, G., Rajkowska, G., Du, F., et al.: Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. *J Neurochem*, 75: 1729-34, 2000.
 - 6) Cichon, S., Schumacher, J., Muller, D.J., et al.: A genome screen for genes predisposing to bipolar affective disorder detects a new susceptibility locus on 8q. *Hum Mol Genet*, 10: 2933-44., 2001.
 - 7) Day, D.A. and Tuite, M.F.: Post-transcriptional gene regulatory mechanisms in eukaryotes: an overview. *J Endocrinol*, 157: 361-71, 1998.
 - 8) Deardorff, M.A., Tan, C., Saint-Jeannet, J.P., et al.: A role for frizzled 3 in neural crest development. *Development*, 128: 3655-63, 2001.
 - 9) Duman, R.S.: Synaptic plasticity and mood disorders. *Mol Psychiatry*, 7 Suppl 1: S29-34, 2002.
 - 10) Fukata, Y., Kimura, T. and Kaibuchi, K.: Axon specification in hippocampal neurons. *Neurosci Res*, 43: 305-15, 2002.
 - 11) Goshima, Y., Nakamura, F., Strittmatter, P., et al.: Collapsin-induced growth cone collapse mediated by an intracellular protein related to UNC-33. *Nature*, 376: 509-14., 1995.
 - 12) Hamajima, N., Matsuda, K., Sakata, S., et al.: A novel gene family defined by human dihydropyrimidinase and three related proteins with differential tissue distribution. *Gene*, 180: 157-63., 1996.
 - 13) Henderson, M.J., Ward, K., Simmonds, H.A., et al.: Dihydropyrimidinase deficiency presenting in infancy with severe developmental delay. *J Inherit Metab Dis*, 16: 574-6, 1993.
 - 14) Johnston-Wilson, N.L., Sims, C.D., Hofmann, J.P., et al.: Disease-specific alterations in frontal cortex brain proteins in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. The Stanley Neuropathology Consortium. *Mol Psychiatry*, 5: 142-9., 2000.
 - 15) Le Hir, H., Nott, A. and Moore, M.J.: How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. *Trends Biochem Sci*, 28: 215-20, 2003.
 - 16) Minturn, J.E., Fryer, H.J., Geschwind, D.H., et al.: TOAD-64, a gene expressed early in neuronal differentiation in the rat, is related to unc-33, a *C. elegans* gene involved in axon outgrowth. *J Neurosci*, 15: 6757-66., 1995.
 - 17) Putman, C.W., Rotteveel, J.J., Wevers, R.A., et al.: Dihydropyrimidinase deficiency, a progressive neurological disorder? *Neuropediatrics*, 28: 106-10, 1997.
 - 18) Wang, Y., Thekdi, N., Smallwood, P.M., et al.: Frizzled-3 is required for the development of major fiber tracts in the rostral CNS. *J Neurosci*, 22: 8563-73, 2002.
 - 19) Wildenauer, D.B., Schwab, S.G., Maier, W., et al.: Do schizophrenia and affective disorder share susceptibility genes? *Schizophr Res*, 39: 107-11., 1999.
 - 20) Williams, R.S., Cheng, L., Mudge, A.W., et al.: A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. *Nature*, 417: 292-5, 2002.
 - 21) Wodarz, A. and Nusse, R.: Mechanisms of Wnt signaling in development. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 14: 59-88, 1998.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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) Ujike H, Nakata K. Genetic study of schizophrenia: new targets for therapy. *Expert Review of Neurotherapeutics* 3(1): 41-50, 2003
- 3) T. Arinami, H. Ishiguro, Y. Minowa, T. Ohtsuki, T. Tsujita, A. Imamura, T. Yoshikawa, T. Toyota, K. Yamada, H. Shimizu, K. Yoshitsugu, H. Shibata, Y. Fujii, Y. Fukumaki, N. Tashiro, T. Inada, Y. Iijima, Y. Kitao, T. Furuno, T. Someya, T. Muratake, N. Kaneko, S. Tsuji, M. Mineta, M. Takeichi, H. Ujike, Y. Takehisa, Y. Tanaka, K. Nakata, T. Kitajima, T. Nishiyama, Y. Yamanouchi, N. Iwata, N. Ozaki, K. Ohara, H. Shibuya, K. Ohara, Y. Suzuki, O. Ohmori, T. Shinkai, H. Hori, J. Nakamura, T. Kojima, S. Takahashi, E. Tanabe, K. Yara, S. Nanko, H. Yoneda, J. Koh, J. Sakai, Y. Inada, I. Kusumi, K. Kameda, T. Koyama, H. Fukuzako, T. Hashiguchi, K. Tanabe, Y. Okazaki. Initial genome-wide scan for linkage with schizophrenia in the Japanese schizophrenia sib-pair linkage group (JSSLG) families. *Am J Med Genet.* 120B(1):22-28. 2003
- 4) Itokawa M, Arai M, Kato S, Ogata Y, Furukawa A, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T. Association between a novel polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene and schizophrenia in humans. *Neurosci Lett.* 347(3):202-204. 2003
- 5) Nakata K, Ujike H, Sakai A, Takaki M, Imamura T, Tanaka Y, Kuroda S. Association Study Between the Fibronectin Gene and Schizophrenia. *Am J Med Genet,* 116: 41-44, 2003
- 6) Nakata K, Ujike H, Sakai A, Uchida N, Nomura A, Imamura T, Katsu T, Tanaka Y, Hamamura T, Kuroda S. Association study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene with bipolar disorder. *Neurosci Lett* 337(1):17-20, 2003
- 7) Nakata K, Ujike H, Sakai A, Takaki M, Imamura T, Tanaka Y, Kuroda S. The human dihydropyrimidinase-related protein 2 gene on chromosome 8p21 is associated with paranoid-type schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 53(7):571-6. 2003
- 8) Nakata K, Ujike H, Tanaka Y, Takaki M, Sakai A, Nomura A, Katsu T, Uchida N, Imamura T, Fujiwara Y, Hamamura T, Kuroda S. No association between the dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRP-2) gene and bipolar disorder in humans. *Neurosci Lett.* 2003, 349(3):171-174.
- 9) Katsu T, Ujike H, Nakano T, Tanaka Y, Nomura A, Nakata K, Takaki M, Sakai A, Uchida N, Imamura T, Kuroda S. The human frizzled-3 (FZD3) gene on chromosome 8p21, a receptor gene for Wnt ligands, is associated with the susceptibility to schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2003 Dec 15;353(1):53-6.
- 10) Uchida N, Ujike H, Nakata K, Takaki M, Nomura A, Katsu T, Tanaka Y, Imamura T, Sakai A, Kuroda S. No association between the sigma receptor type 1 gene and schizophrenia: results of analysis and meta-analysis of

case-control studies. BMC Psychiatry. 2003 Oct 21;3(1):13.

11) 氏家 寛: カンナビノイド受容体. 分子精神医学, 3: 52-53, 2003

12) 氏家 寛: ヒロポンラットから統合失調症へ. 分子精神医学, 3: 60-61, 2003

13) 氏家 寛: 覚せい剤精神病. Key Word 精神第3版, 先端医学社, 樋口輝彦, 神庭重信, 染矢俊幸, 宮岡 等編, 40-42, 2003

14) 氏家 寛, 稲田俊也, JGIDA: ゲノム解析からみた覚せい剤精神病患者の細胞内情報伝達. 日本アルコール・薬物医学会雑誌, 38, 178-179, 2003

15) 氏家 寛, 勝 強志, 関根吉統, 稲田俊也: Methamphetamine 精神病の分子遺伝学. 臨床精神薬理 6, 1135-1141, 2003

16) 氏家 寛, 野村 晃: 薬物依存の生物学的背景, 薬物依存者の脳で何が起きているのか. 心の科学 111, 33-38, 2003

17) 氏家 寛, 高木 学: 精神医学症候群Ⅲ, 基質・症状性精神障害など. 精神刺激薬 (アンフェタミン系薬物) 関連精神障害, 逆耐性現象. 別冊日本臨床, 領域別症候群シリーズ 40, 517-521, 2003

18) 氏家 寛, 高木 学, 児玉匡史: 逆耐性現象と神経可塑性に関わる遺伝子群. 覚せい剤精神病と麻薬依存, 56-67, 佐藤光源, 櫻井映子編, 東北大学出版会, 仙台, 2004

2. 学会発表

1) Nakamura K, Sekine Y, Osada N, Suzuki A, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N: An association

study of MAO-A gene polymorphism in methamphetamine psychosis

第25回日本生物学的精神医学会, 金沢, 4月, 2003

2) 新井 誠, 糸川昌成, 新井麻友美, 加藤修平, 尾形容子, 羽賀誠一, 山田和男, 豊田倫子, 氏家寛, 曾良一郎, 池田和彦, 吉川武男

統合失調症とNCAM遺伝子多型との関連研究

第25回日本生物学的精神医学会, 金沢, 4月, 2003

3) 糸川昌成, 新井 誠, 吉川愛造, 加藤修平, 尾形容子, 羽賀誠一, 氏家 寛, 曾良一郎, 池田和彦, 吉川武男

統合失調症におけるニューロペプチドYの遺伝子解析

第25回日本生物学的精神医学会, 金沢, 4月, 2003

4) 新井 誠, 糸川昌成, 新井麻友美, 加藤修平, 尾形容子, 羽賀誠一, 山田和男, 豊田倫子, 氏家寛, 曾良一郎, 池田和彦, 吉川武男

気分障害とNCAM遺伝子多型との関連研究

第25回日本生物学的精神医学会, 金沢, 4月, 2003

5) 中田謙二, 氏家 寛, 坂井 歩, 田中有史, 野村 晃, 内田有彦, 今村貴樹, 勝 強志, 濱村貴史, 藤原 豊, 黒田重利

双極性障害における脳由来神経栄養因子 (BDNF)

遺伝子の関連研究

第25回日本生物学的精神医学会, 金沢, 4月, 2003

6) 内村直尚, 原野睦生, 安陪等思, 石橋正彦, 飯田信夫, 田中得雄, 前田久雄, 氏家寛, 小宮山徳太郎, 関根吉統, 稲田俊也, 飯嶋良味, 伊豫雅臣, 橋本謙二, 尾崎紀夫, 曾良一郎, 山田光彦, JGIDA: 覚せい剤精神病患者の脳画像所見と遺伝的多型性の相関研究. 福岡精神科集談会, 2003年5月, 北九州

7) 鈴木敦子, 中村和彦, 関根吉統, 長田奈穂子, 竹林淳和, 三辺義雄, 武井教使, 鈴木勝昭, 岩田泰秀, 河合正好, 伊豫雅臣, 尾崎紀夫, 稲田俊也, 原野睦正, 小宮山徳太郎, 山田光彦, 曾良一郎, 氏家 寛, 森 則夫, JGIDA. 覚醒剤精神病における

MAO-A の相関研究. 第 30 回 日本脳科学会 6 月 6-7 日、久留米、2003

8) 氏家 寛、稲田俊也、JGIDA: ワークショップ「覚せい剤中毒における細胞内情報伝達系の変化」. ゲノム解析からみた覚せい剤精神病患者の細胞内情報伝達. 第 38 回日本アルコール・薬物医学会総会、東京、7 月、2003

9) Ujike H: Plenary Lecture: Roles of Behavioral Sensitization in Psychoses and its Molecular Mechanisms. The International Society for Neurochemistry Satellite Meeting (Current Status of Dependence/Abuse Studies: Cellular and Molecular Mechanisms of Drugs of Abuse and Neurotoxicity.) Kyoto, 7.30-8.1, 2003

10) Ozaki N, Iwata N, Yamanouchi Y, Suzuki T, Kitajima T, Ikeda M, Maeno N, Ujike H, Sekine Y, Inada Y, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Sora I. CANDIDATE GENE ANALYSIS OF AMPHETAMINE-RELATED DISORDERS. The International Society for Neurochemistry Satellite Meeting, Kyoto, 7.30-8.1, 2003

11) Kobayashi H, Hasegawa J, Ide S, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I.: No association for the alpha-synuclein gene polymorphism in methamphetamine abuser/psychosis in Japan. The International Society for Neurochemistry Satellite Meeting, Kyoto, 7.30-8.1, 2003

12) Inada T, Iijima Y, Kikuchi K, Maeda T, Iwashita S, Arinami T, Otsuki T, Ozaki N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H: Search for the susceptibility genes to methamphetamine psychoses: A collaboration study by the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA). The International Society for Neurochemistry

Satellite Meeting, Kyoto, 7.30-8.1, 2003

13) Harano M, Uchimura N, Abe H, Ishibashi M, Iida N, Tanaka T, Maeda H, Sora I, Iyo M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Ujike H: TaqI A POLYMORPHISM OF DRD2 GENE AND BRAIN ATROPHY IN METHAMPHETAMINE PSYCHOSIS. The International Society for Neurochemistry Satellite Meeting, Kyoto, 7.30-8.1, 2003

14) Ide S, Tanaka YK, Kobayashi H, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I: A118G single nucleotide polymorphism of opioid receptor gene in Japanese methamphetamine abuser. The International Society for Neurochemistry Satellite Meeting, Kyoto, 7.30-8.1, 2003

15) 覚せい剤精神病患者における DRD2 遺伝子 TaqI A 多型と脳 MRI 画像所見の相関研究: 内村直尚、原野睦生、安陪等思、石橋正彦、飯田信夫、田中得雄、前田久雄、曾良一郎、伊豫雅臣、小宮山徳太郎、山田光彦、関根吉統、稲田俊也、尾崎紀夫、氏家 寛、薬物依存ゲノム解析研究グループ. 第 15 回アルコール精神医学会、2003 年 9 月、京都

16) 井手 聡一郎、小林 秀明、田中 慶子、沈 昊偉、氏家 寛、関根 良統、尾崎 紀夫、稲田俊也、原野 睦正、小宮山 徳太郎、山田 光彦、伊豫 雅臣、糸川 昌成、池田 和隆、曾良 一郎: μ オピオイド受容体遺伝子多型と覚醒剤依存との相関. 第 24 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、東京、9 月、2003

17) Nakamura K, Sekine Y, Osada N, Suzuki A, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata N, Kawai M, Takebayashi K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N: An association study of SOD2 gene polymorphism in methamphetamine psychosis.

Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting,
New Orleans, Louisiana, L. A., U. S. A., November
8-12, 2003

18) Ujike H, Harano M, Inada T, Yamada M,
Komiyama T, Sekine Y, Sora I, Iyo M, Katsu T,
Nomura A, Otani K, Morita Y, Ozaki N, Kuroda
S. Nine- or fewer repeat alleles in VNTR
polymorphism of the dopamine transporter gene
is a strong risk factor for prolonged
methamphetamine psychosis.

16th Congress of the European College of
Neuropsychopharmacology, Prague, September
20-24, 2003

19) 新井 誠、糸川昌成、山田和男、氏家 寛、
曾良一郎、吉川武男
双極性気分障害における神経細胞接着因子 (NCAM
1) 遺伝子の関連研究
第11回日本精神・行動遺伝医学会、長崎、10月、
2003

20) 勝 強志、氏家 寛、中野貴光、田中有史、
野村 晃、中田謙二、高木 学、坂井 歩、内田

有彦、今村貴樹、黒田重利

Wnt リガンドに対する受容体遺伝子 frizzled-3
(FZD3)は、統合失調症の発症素因に関与している
21) 第11回日本精神・行動遺伝医学会、長崎、10
月、2003

22) 氏家 寛: シンポジウム「精神疾患感受性遺
伝子同定の近道は何か」精神疾患の薬物相同モデ
ル疾患研究から. 第11回日本精神・行動遺伝医学
会、長崎、10月、2003

23) 氏家 寛: 覚醒剤精神疾患の生物学的病態.
平成15年度(第17回)薬物依存臨床医師研修会、
市川、10月、2003

24) Ujike H: Methamphetamine psychosis;
clinical features and molecular mechanism
Drug Abuse Prevention Activities (Under the
US-Japan Cooperation), Tokyo, 2003.10

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

統合失調症の臨床症状における Chromogranin B 遺伝子多型の影響

(分担研究者 稲田俊也 名古屋大学大学院医学系研究科精神生物学分野助教授)

研究要旨：自殺を惹起する精神疾患としては、統合失調症、躁うつ病、覚醒剤精神病などがある。昨年度われわれは、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 遺伝子について、5'側調節領域および翻訳領域に存在する SNPs を用いて関連解析を行い、統合失調症との関連を報告した。このほか、躁うつ病および覚醒剤精神病についても健常対照者との症例群間比較を行ったが有意な関連は見いだせなかった。本年は、統合失調症患者にみられる各種臨床症状や副作用脆弱性における Chromogranin B 遺伝子多型の及ぼす影響について報告する。

研究協力者：飯嶋良味¹⁾、有波忠雄²⁾、大槻露華²⁾、吉尾 隆³⁾、中谷真樹³⁾、妹尾 久³⁾、尾崎 紀夫⁴⁾

研究協力者所属施設：

- 1) 国立精神・神経センター精神保健研究所、
- 2) 筑波大学基礎医学系遺伝医学、
- 3) 社会福祉法人桜ヶ丘記念病院
- 4) 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野

A. 研究目的

本研究の目的は統合失調症、覚醒剤精神病、躁うつ病などの自殺を惹起する精神疾患と Chromogranin B 遺伝子との間に関連がみられるかどうかを検討することである。臨床遺伝学的研究から、統合失調症や躁うつ病などの精神疾患には遺伝要因の関与が示されているが、全ゲノムスキャンによるそれら精神疾患の遺伝子連鎖研究では、最近急速にその報告数が増加しているにもかかわらず、一貫して連鎖陽性を示す所見が得られないことから、多くの集団に共通する Major gene は存在しないことが示唆されている。我々は、統合失調症の発症脆弱性に関連する遺伝子座位の系統的なスクリーニング解析を行い、20 番染色体上のマーカー D20S95 において症例・対照間に有意な差を見いだした(Kitao Y *et al.*, 2000)。この D20S95 の最も近傍の位置的候補遺伝子は Chromogranin B 遺伝子である。

Chromogranin family (A, B, C) は可溶性分泌タンパクで、種々の神経細胞や脳脊髄液中に分布し、シナプスからの伝達物質の放出をコントロールしていると考えられている。Chromogranin A および B が、統合失調症患者脳脊髄液中で有意に減少しているとの報告や(Landen M *et al.*, 1999)、reserpine, clozapine, haloperidol などの抗精神病薬に反応して、脳内におけ

る mRNA の発現増加や発現の局在変化が観察されることから(Mahata SK *et al.*, 1993, Kroesen S *et al.* 1995)、薬物反応性のマーカーとして、さらには精神疾患病態に関与する機能的候補遺伝子として重要な役割を担っていると考えられる。昨年度われわれは、統合失調症において Chromogranin B 遺伝子の変異検索および関連解析を行い、Exon4 に位置する 3 つの SNPs (1 塩基多型) と統合失調症との強い関連を報告した。さらに双極性障害および統合失調症と類似の精神症状を示す覚醒剤精神病について、Chromogranin B 遺伝子がそれら疾患と関連するかを検討したが、関連は見いだされなかった。統合失調症については中国人グループからも Chromogranin B 遺伝子 Exon4 に位置する別の SNPs において、統合失調症との関連が報告されている(Zhang B *et al.*, 2002)。本年は、統合失調症患者にみられる各種臨床症状や副作用脆弱性における Chromogranin B 遺伝子多型の及ぼす影響についての検討を行った。

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統合失調症患者 192 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、これまでに抗精神病薬服用歴のない、年齢・性別のマッチした健常対照者 192 名である。このうち統合失調症患者からは、可能な限り薬原性錐体外路症状の発現状況について、カルテ調査や AIMS 及び DIEPSS を用いた評価を行った。各対象者の末梢血から DNA を抽出し、PCR-Direct Sequence 法にて Chromogranin B 遺伝子 Exon4 領域に存在する 1058G/C, 1104G/A, 1250G/A の遺伝子型を解析した。両群の多型出現頻度をそれぞれ集計し、2×2, 2×3 の χ^2 検定を行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。なお、本研究は名古屋大学医学部および各共同研

究施設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

Chromogranin B 遺伝子 Exon4 領域には 11 個の SNPs が存在し、そのうち 9 個はアミノ酸置換を伴っている。昨年、統合失調症患者 187 名、健常対照者 192 名について関連解析を行い、Exon4 内の 3 つの SNPs(1058G/C, 1104G/A, 1250G/A)において、アリル頻度、遺伝子型頻度ともに症例対照間で有意な差が見られたことを報告した。1058G/C と 1104G/A は完全に連鎖しており、これら 3 つの SNPs の間では強い連鎖不平衡が見られた。また、マイクロサテライトマーカー-D20S95 とこれら SNPs との間にも連鎖不平衡が確認された。本年は、さらに統合失調症患者群を臨床症状別に分け、Chromogranin B 遺伝子多型の及ぼす影響についての検討を行った。検討した臨床症状は、遅発性ジスキネジア脆弱群(TD)、急性錐体外路症状脆弱群(EPS)、特定の精神症状を呈する 4 つの統合失調症患者部分群(幻覚・妄想、奇異な行動、解体、陰性症状)、若年発症群(22歳未満発症)、喫煙習慣の有無、などである(表1)。

その結果、抗精神病薬投与初期における錐体外路症状発症の有無の確認できた患者65名(有30 vs 無35)については、1058G/C, 1104G/A, 1250G/Aにおいて有意な差が認められた。また、若年発症群48名についてもこれら3つのSNPs全てにおいて有意な差が認められた。さらに、初回エピソード時に解体の症状がみられた患者46名については、1058G/C, 1104G/A多型において健常対照群との間に有意な差が認められた。喫煙習慣の有無が確認できた患者60名(有30 vs 無23)については、1250G/A多型においてのみ有意な差が認められた(表2)。

D. 考察

Chromogranin は、内分泌細胞および神経細胞に広く分布する酸性可溶性タンパク質で、その生体内での役割は十分解明されているわけではないが、trans-Golgi network においてホルモンやニューロペプチドの分泌顆粒内への取り込み、さらに濃縮や貯蔵を行っていると考えられている(Ozawa *et al.*, 1995)。最近の報告では、ニューロンの細胞内 Ca^{2+} シグナル伝達において、IP3 受容体と関連して重要な役割を担っているとの報告もある(Thrower *et al.*, 2003)。ヒトの Chromogranin B は 657 個のアミノ酸からなり(Benedum *et al.*, 1987)、神経内分泌細胞に特異的な遺伝子発現プロモーター領域 cyclic adenosine monophosphate response element (CRE) と GC-rich domains を持つことが明らかにされている(Mahata *et al.*, 2002)。Landen ら(1999)は、前述の慢性の統合失調症患者における Chromogranin A および Chromogranin B の脳脊髄液中の減少について、統合失調症の初期には Chromogranin が増加し、病状が慢性化して神経変性のプロセスが進行すると減少する可能性

があると考察している。

今回の結果から、Chromogranin B 遺伝子は統合失調症発症の危険因子であるのみならず、各種臨床症状、特に錐体外路症状発症脆弱性に影響を及ぼすタンパクである可能性が示唆された。Chromogranin B 遺伝子は自殺を惹起する精神疾患の中でも統合失調症の病態生理に関連する有力な候補遺伝子の一つであると考えられ、今後は双極性障害および覚醒剤依存症については、症例を増やして再検討するとともに、別の部位についての検討や Chromogranin 自体の生理的意義についても考察を行っていく予定である。

E. 参考文献

1. Kitao Y, Inada T, Arinami T, et al (2000): A contribution to genome-wide association studies: search for susceptibility loci for schizophrenia using DNA microsatellite markers on chromosomes 19, 20, 21 and 22. *Psychiatr Genet* 10:139-43.
2. Landen M, Grenfeldt B, Davidsson P, et al (1999): Reduction of chromogranin A and B but not C in the cerebrospinal fluid in subjects with schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 9:311-5.
3. Mahata SK, Mahata M, Fischer-Colbrie R, et al (1993): Reserpine causes differential changes in the mRNA levels of chromogranin B, secretogranin II, carboxypeptidase H, alpha-amidating monooxygenase, the vesicular amine transporter and of synaptin/synaptophysin in rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 19: 83-92.
4. Kroesen S, Marksteiner J, Mahata SK, et al (1995): Effects of haloperidol, clozapine and citalopram on messenger RNA levels of chromogranins A and B and secretogranin II in various regions of rat brain. *Neuroscience* 69:881-891.
5. Zhang B, Tan Z, Zhang C, et al (2002): Polymorphisms of chromogranin B gene associated with schizophrenia in Chinese Han population. *Neurosci Lett* 323:229-33.
6. Ozawa H and Takata, K (1995): The granin family-its role in sorting and secretory granule formation. *Cell Struct Funct* 20:415-420.
7. Thrower EC, Choe CU, So SH, et al (2003): A functional interaction between chromogranin B and the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor/ Ca^{2+} channel. *J Biol Chem* 278:49699-706.
8. Benedum UM, Lamouroux A, Konecki DS, et al (1987): The primary structure of human secretogranin I (chromogranin B): comparison with chromogranin A reveals homologous terminal domains and a large intervening variable region. *EMBO J* 6:1203-1211.
9. Mahata SK, Mahapatra NR, Mahata M, et al (2002): Neuroendocrine cell type-specific and inducible expression of chromogranin/secretogranin genes: crucial promoter motifs. *Ann NY Acad Sci* 971:27-38.

F. 研究発表

1. Kokai M, Inada T, Ohara K, Shimizu M, Iwado H,

- Morita Y: Inter-rater and test-retest reliability of the Japanese version of the subjective deficit syndrome scale. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 18: 145-149, 2003.
2. Hori K, Oda T, Tominaga I, Inada T: "Awakening" in demented patients. *Psychiatr Clin Neurosci* 57: 237, 2003.
 3. Inada T, Beasley C, Tanaka Y, Walker D: Extrapyramidal Symptom Profiles Assessed with DIEPSS: Comparison with Western Scales in the Clinical Double-Blind Studies of Schizophrenic Patients Treated with either Olanzapine or Haloperidol. *Int Clin Psychopharmacol* 18(1): 39-48, 2003.
 4. Hori K, Inada T, Sengan S, Ikeda M: Is Charles Bonnet syndrome an early manifestation of dementia? *Acta Neuropsychiatr* 15: 102, 2003.
 5. 河野稔明, 稲田俊也, 高 国子, 山之内芳雄, 野畑綾子, 栗田 廣, 上島国利, 尾崎紀夫, 伊豫雅臣, 樋口輝彦: DIGS 日本語版信頼性確立のための予備的検討. *脳と精神の医学* 14: 51-58, 2003.
 6. Suzuki E, Kitao Y, Ono Y, Iijima Y, Inada T: Cytochrome P450 2D6 Polymorphism and Character Traits. *Psychiatr Genet* 13(2): 111-113, 2003.
 7. Inada T, Nakamura A, Iijima Y: Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Polymorphism and Schizophrenia: Possible relation with the treatment-resistant subgroup. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 120B(1): 35-39, 2003.
 8. The Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group (JSSLG)(Arinami T, Ishiguro H, 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, 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, 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.
 9. Inada T, Nozaki S, Inagaki A, Furukawa T: Efficacy of diazepam as an anti-anxiety agent: meta-analysis of the double-blind randomized controlled trials in Japan. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 18(6): 483-487, 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 Journal* 3(4): 242-247, 2003.
 11. Inada T, Senoo H, Iijima Y, Yamauchi T, Yagi G: Cytochrome P450IID6 gene polymorphism and the neuroleptic-induced extrapyramidal symptoms in schizophrenic patients. *Psychiatr Genet* 13(3): 163-168, 2003.
 12. Hori K, Tominaga I, Inada T, Oda T, Hirai S, Hori I, Onaya M, Teramoto H: Donepezil-responsive alcohol related prolonged delirium. *Psychiatr Clin Neurosci* 57(6): 603-604, 2003.
 13. 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: 126-127, 2004.
 14. Ohtsuki T, Tanaka S, Ishiguro H, Tanabe E, Yara K, Okubo T, Takahashi S, Matsuura M, Sakai T, Muto M, Matsushima E, Noguchi E, Toru M, Inada T, Kojima T, Arinami T: Failure to find association between PRODH deletion and schizophrenia: population screening using simple PCR method. *Schizophr Res* 67: 111-113, 2004.
 15. Koizumi H, Hashimoto K, Kumakiri C, Shimizu E, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Takei N, Iyo M. Association between the glutathione S-transferase M1 gene deletion and female methamphetamine abusers. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)*, in press.
 16. Takahashi N, Tomita K, Higuchi T, Inada T: The inter-rater reliability of the Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) using a Structured Interview Guide for Montgomery-Asberg Depression Scale (SIGMA). *Hum Psychopharmacol Clin Exp*, in press.
 17. 中村 中, 稲田俊也: Catechol-O-Methyltransferase (COMT) 遺伝子多型と精神科疾患. *分子精神医学* 3(1): 54-58, 2003.
 18. 氏家 寛, 勝 強志, 関根吉統, 稲田俊也: Methamphetamine 精神病の分子遺伝学. *臨床精神薬理* 6(9): 1135-1141, 2003.
 19. 三浦英樹, 稲田俊也: クロモグラニンと精神疾患. *精神科* 3(3): 293-295, 2003.
 20. 高橋長秀, 稲田俊也: ドパミン D3 (DRD3) 遺伝子多型と精神科疾患. *分子精神医学* 4(1): 68-76, 2004.
 21. 斉藤信二, 稲田俊也: ドパミン D4 (DRD4) 遺伝子多型と精神科疾患. *分子精神医学*, 印刷中.

表 1 統合失調症患者群の人口統計学的データ

Group name	Age				Gender		
	MIN	MAX	AVG	n	男	女	
Control	24	87	49.82	192	96	96	
Schizophrenia	19	90	57.18	192	91	101	
Sのみ	TD (+)	27	90	64.16	31	16	15
	TD (-)	28	81	56.29	98	50	48
	EPS (+)	27	76	56.90	30	18	12
	EPS (-)	28	90	59.46	35	17	18
Delusion Hallucination (+)	28	90	58.19	58	34	24	
Bizarre behavior (+)	28	90	59.52	62	34	28	
Disorganization (+)	28	90	58.45	47	24	23	
Negative Symptom (+)	28	90	58.90	59	31	28	
Family History (+)	26	90	58.68	34	11	23	
Onset<22	28	76	56.00	48	26	22	
Disease Onset data (+)	28	90	58.66	87	41	46	
HPD data Present	19	78	55.94	82	39	43	
Stady State daily NLP dose	28	90	58.59	75	34	41	
Recent 1year Cummurative NLP dose	19	90	57.37	141	67	74	
Smoke=1	26	70	49.43	23	10	13	
Smoke=0	33	78	58.18	28	2	26	

表 2 統合失調症の各種臨床症状と Chromogranin B 遺伝子多型(1058G/C, 1104G/A, 1250G/A)との関連

1058G/C	GT				AF		Odds ratio	P value		
	GG	GC	CC	N	G	C		AF	GT	
Control	54	89	49	192	0.51	0.49	(vs Cont)			
Schizophrenia	87	82	21	190	0.67	0.33	0.510	0.000	0.000	
Sのみ	TD (+)	14	15	1	30	0.72	0.28	(vs TD+)		
	TD (-)	40	40	17	97	0.62	0.38	1.560	0.166	0.148
	EPS (+)	20	8	1	29	0.83	0.17	(vs EPS+)		
	EPS (-)	12	13	9	34	0.54	0.46	4.022	0.001	0.010

Delusion Hallucination (+)	18	32	7	57	0.60	0.40	0.713	0.117	0.107	
Bizarre behavior (+)	22	30	9	61	0.61	0.39	0.683	0.071	0.183	
Disorganization (+)	18	23	5	46	0.64	0.36	0.589	0.027	0.078	
Negative Symptom (+)	19	30	9	58	0.59	0.41	0.744	0.166	0.284	
Family History (+)	12	18	3	33	0.64	0.36	0.602	0.064	0.114	
Onset<22	24	22	2	48	0.73	0.27	0.391	0.000	0.001	
Smoke(+)	13	9	1	23	0.76	0.24	(vs Smoke+)			
Smoke(-)	13	11	4	28	0.66	0.34	1.634	0.269	0.467	
1104G/A	GG	GA	AA	N	G	A				
Control	54	89	49	192	0.51	0.49	(vs Cont)			
Schizophrenia	91	76	20	187	0.69	0.31	0.474	0.000	0.000	
	TD (+)	14	15	1	30	0.72	0.28	(vs TD+)		
	TD (-)	43	36	17	96	0.64	0.36	1.451	0.248	0.122
	EPS (+)	21	7	1	29	0.84	0.16	(vs EPS+)		
	EPS (-)	12	12	9	33	0.55	0.45	4.537	0.000	0.007
Delusion Hallucination (+)	19	30	7	56	0.61	0.39	0.682	0.079	0.121	
Bizarre behavior (+)	24	27	9	60	0.63	0.38	0.632	0.032	0.117	
Disorganization (+)	20	21	5	46	0.66	0.34	0.535	0.009	0.042	
Negative Symptom (+)	20	28	9	57	0.60	0.40	0.713	0.117	0.276	
Family History (+)	12	17	3	32	0.64	0.36	0.591	0.058	0.125	
Onset<22	25	20	2	47	0.74	0.26	0.361	0.000	0.000	
Smoke=1	13	9	1	23	0.76	0.24	(vs Smoke+)			
Smoke=0	15	8	4	27	0.70	0.30	1.340	0.521	0.429	
1250G/A	GG	GA	AA	N	G	A				
Control	71	84	37	192	0.59	0.41	(vs Cont)			
Schizophrenia	42	98	47	187	0.49	0.51	1.509	0.005	0.008	
	TD (+)	4	20	6	30	0.47	0.53	(vs TD+)		
	TD (-)	28	44	24	96	0.52	0.48	0.805	0.464	0.108
	EPS (+)	3	15	11	29	0.36	0.64	(vs EPS+)		
	EPS (-)	14	14	5	33	0.64	0.36	0.324	0.002	0.010
Delusion Hallucination (+)	12	32	12	56	0.50	0.50	1.430	0.096	0.086	
Bizarre behavior (+)	13	38	9	60	0.53	0.47	1.252	0.286	0.026	
Disorganization (+)	11	24	11	46	0.50	0.50	1.430	0.123	0.245	
Negative Symptom (+)	14	31	12	57	0.52	0.48	1.333	0.178	0.209	
Family History (+)	7	17	8	32	0.48	0.52	1.523	0.119	0.249	

Onset<22	7	25	15	47	0.41	0.59	2.017	0.002	0.010
Smoke=1	3	10	10	23	0.35	0.65	(vs Smoket+)		
Smoke=0	9	13	5	27	0.57	0.43	0.396	0.024	0.092

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

自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子の解明

〔分担研究課題〕 不一致一卵性双生児の遺伝子発現差異解析による
統合失調症感受性遺伝子の研究

分担研究者 岡崎 祐士（三重大学医学部精神神経科学・教授）

研究要旨

統合失調症の成因に遺伝因子が関与していることは、多数の遺伝疫学研究（家系研究、双生児研究、養子研究）によりほぼ確かめられているが、連鎖研究や相関研究は収斂したとはいえない。遺伝的異質性の存在が想定されており、民族的均質性がある多数例のサンプルか、家系個別性に対応できる遺伝子探索研究方法論の確立が望まれる。

本研究では、効率的に統合失調症感受性遺伝子をマッピングするために、分担研究者らが考案した、DNA マイクロアレイによる一卵性双生児統合失調症不一致例の末梢血リンパ芽球における遺伝子発現プロファイルの差異から、感受性遺伝子をマッピングする方法を採用する。本方法により最近双極性障害感受性遺伝子を発見した（Kakiuchiら、Nature Genetics 35(10), 2003）。統合失調症についても、末梢血リンパ芽球に脳病理と共通する病態が発現する可能性があり、DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析によって感受性遺伝子候補をマッピングし、それらを RT-PCR で発現の変化を確認し、変異解析、相関研究により当該遺伝子の病因的関与を確認し、その分子生物学的解析を行う。本年度は、男性 1 卵性双生児統合失調症不一致例のビーズマイクロアレイにより発現解析を行い、発現低下と亢進している感受性遺伝子候補を抽出した。

A. 本研究の目的

統合失調症は、罹患率 1%と高率に発生し、青年期から成人前期に発症、その生産的な生活を破壊、深刻な苦悩を惹起する。ために人類への被害と社会への負担は甚大である。原因には環境因とともに遺伝因関与が遺伝疫学(家系研究、双生児研究、養子研究)による強く推定されている。しかし、連鎖／関連研究はなお収斂せず、研究経費は膨大である。分担者らは一卵性双生児不一致例の遺伝子発現差異の解析により、感受性遺伝子同定が可能なことを双極性障害で実証した(Kakiuchiら, Nature Genet, 35:171-175, 2003)。15年度は末梢血リンパ芽球がAchによる支配、ドーパミン3受容体の存在など統合失調症病態の一部が表現される可能性を前提に、同じ方法を適用し、感受性遺伝子候補を探索した。

B. 方法・対象

対象は、44歳一卵性双生児統合失調症不一致例で、弟は非罹患(既婚、内気・心氣的)、兄は罹患(23歳発症、入院・保護的就労反復、未婚)というペアである。また、対照は32歳一卵性双生児健常ペアである。卵性診断はキット(Applied Biosystems)を用いて行った。

被験者の末梢血よりリンパ球を分取し、EBウイルスによりトランスフォームした。採血後8週間の時点で細胞よりtotal RNAを抽出し、cDNAを作製した。ピオチン化cRNAを合成し、ビーズマイクロアレイ(Takara)を用いて遺伝子発現の差異解析を行った。

C. 結果

ビーズアレイ解析の結果は、対象と対照双生児の発現プロフィールは類似していたが、発現低下及び亢進しているクローン(3クローン以上の差異が認められたものとした)が18個(統合失調症双生児が相手の双生児より発現亢進14個、発現低下4個であった。これらを検討したところ、発現低下していたProfilin 1遺伝子(座位:17p13.3)、及び亢進していたAPOL1(apolipoprotein)(22q 12.3)を見出した。

Profilin 1遺伝子は、Profilin 1遺伝子は、アクチンの重合を阻害するアクチン結合蛋白で、脳特異的なホモログProfilin 2が、プレシナプ

スからのNMDA刺激に伴ってスパインに移動し、樹状突起スパインの形態形成維持に関与することが示されている。Profilin 1はProfilin 2と相互作用する(Witke 1998)。

APOL1は、コレステロール輸送に関連した分子で、染色体上の位置が22q12.3であること、統合失調症患者の死後脳、特に前頭葉でのup-regulationが報告されている(Mimmack 2002)。

D. 考察

この2つの遺伝子発現の変化をRT-PCRで確認したところ、いずれも発現が変化していた。したがって、今後変異・多型解析、相関研究等を実施する価値がある。しかし、他のペアで再現性を検討する必要がある。今回見出した感受性遺伝子候補が、異なる双生児ペアに共通した発現変化か個別性があるものかも確かめる必要がある。

いずれにしても、双極性障害で実証されたように一卵性双生児表現型不一致ペア内の遺伝子発現差異を解析する本方法によって、各種多因子病の病態の解明が可能と思われる。

E. 結論

15年度は初期の目的をほぼ達成した。16年度はDNAマイクロアレイによる複数の一卵性双生児ペアの遺伝子発現解析による統合失調症感受性遺伝子の捕捉とその機能解析により、目的を達成しようとするものである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし(WFSBP2004, Seoulにて発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

I. 参考文献

○岡崎祐士・辻田高宏・加藤忠史：双生児・同

胞研究が明らかにした統合失調症の成因: 臨床精神医学 32(11): 1315-1321, 2003

○Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M, Bundo M, Kasahara T, Kusumi I, Tsujita T, Okazaki Y, Nanko S, Kunugi H, Sasaki T & Kato T: Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder1. *Nature Genet* 35:171-175, 2003

○Yokota H, Tsujita T, Okazaki Y, Kikuya E, and Oishi M: Polymorphic 33-bp Repeats with Promoter-like Activity in Synaptotagmin 11 Gene. *DNA RESEARCH* 10(6): 263 - 275, 2003

○Tochigi M, Okazaki Y, Kato N, Sasaki T: What causes seasonality of birth in schizophrenia? *Neuroscience Research* 48:1-11, 2004

【研究協力者】

谷井久志 (三重大学・医学部)

加藤忠史・垣内千尋・石渡みずほ (理化学研究所・脳科学総合研究センター)

今村 明 (長崎大学大学院・医歯薬学専攻)

辻田高宏 (廣中病院)

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子の解明：
神経発達障害仮説による遺伝子解析

分担研究者 今村明 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析制御学講座

研究要旨

我々は、統合失調症の候補遺伝子として、疾患の神経発達障害仮説に基づき brain-derived neurotrophic factor(BDNF)、neurotrophin-3(NT-3)および ciliary neurotrophic factor 遺伝子 (CNTF) を想定し、これらの遺伝子内の CA リピート多型と疾患との関連研究を行っている。Minor physical Anomalies(MPAs)を疾患の背景にある神経発達障害の一つの指標と仮定し、統合失調症患者男性 26 名、女性 39 名を対象として、高 MPA 群、低 MPA 群に分け、解析を行った。今回の結果では有意差は認められなかったが、今後は対象数を増やし、また健常対照者との比較も行う予定である。

A.研究目的

統合失調症は、生涯罹患率がおよそ 1%と非常に高率であることが知られているが、その中でも 10~15%が自殺という不幸な転帰をたどるとされている。近年、統合失調症の成因として、人生早期の軽微な静止的脳障害の存在を想定し、好発期までの年月のあいだの神経発達の結果、その病理的役割が触発されて発症に至るとする神経発達障害仮説が有力視されている。この脳障害には感染・周産期障害などの結果の他、遺伝性の脳病変や侵襲的な環境に対する脆弱性の亢進も含まれる。われわれは、この仮説に基づいて、brain-derived neurotrophic factor 遺伝子 (BDNF)と Neurotrophin -3 遺伝子(NT-3)、ciliary neurotrophic factor 遺伝子 (CNTF) に注目し、疾患との関連を調べ、さらに、Minor physical Anomalies(MPAs)を疾患の背景にある神経発達障害の一つの指標と仮定し、統合失調症患者群を高 MPA 群、低 MPA 群に分けた解析を行うことにした。

B.研究方法

対象者：

対象者は、DSM-IV 統合失調症の診断基準

をみたす患者 65 名（男性 26 名、女性 39 名：平均年齢 47.8 ± 10.8 歳）である。長崎大学倫理委員会で承認を受けた方法に基づき、文書による説明を行い、書面および口頭で同意を得た。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。Waldrop スケールを用いて、診断やその他の情報についてブラインドの状態、2 人の評価者が評価した。総 MPA 値が 2 以下と 3 以上で高 MPA 群 (41 名)、低 MPA 群 (24 名) に分けた。上記 3 つの遺伝子について Genome Data Base(<http://www.gdb.org>)から得た情報により、以下のような dinucleotide repeats の多型を含む領域を増幅するプライマーをつくり、PCR を行った。

BDNF 多型

5'-GCCACTTTATCTAATCCAGT-3'
5'-AGCACTAGCTGCCTATTCCA-3'

NT-3 多型：

5'-GGCTTGTGTCTTCCCCAAAGTT-3'
5'-AGGGGAGGAGGTGGAGAA-3'

CNTF 多型：

5'-CTCACTGGAGATACCAGAGA-3'
5'-GCTTCCTAACAAACCTGGGA-3'

PCR は、denaturation 94°C 45 sec、annealing 57°C 45 sec、extension 72°C 60 sec、40 cycles でおこない、PCR 産物を ABI 377 (DNA sequencer) で解析した。

C. 研究結果

結果として、BDNF と NT-3、CNTF にそれぞれ 8、9、4 の allele がみられ、その分布は Genome Data Base に公開されているものと類似していた。それぞれの allele で高 MPA 群と低 MPA 群との比較をカイ 2 乗検定で行ったが、有意差は認められなかった (表 1、表 2、表 3)。

D. 考察

われわれの共同研究者である Fujimaru は、日本人統合失調症患者 313 人と健常対照者 128 人を対象に Waldrop スケールで MPAs を調査し、変形耳介、溝状舌、小頭囲、高尖塔口蓋が患者群において健常対照者群より有意に多いことを報告した。これは、統合失調症患者に妊娠第一、第二 3 半期に起源する形態異常、その中でも特に頭蓋顔面部の異常が多いということを示すものであり、神経発達障害仮説を間接的に支持するものといえる。

一方、神経栄養因子の遺伝子は統合失調症の神経発達障害仮説から関連研究の対象として注目されてきた。それぞれの遺伝子で統合失調症との関連について様々な報告があるが、現在のところ統一した見解には至っていない。これは統合失調症が均一な一群ではなく、おそらくは病因を異にした疾患の集まりであることから、明確な結果が出ないのではないかと考えられる。

われわれは、候補遺伝子の神経発達障害仮説における役割をより明確にするために、対象者

を MPA の量的・質的差異によって絞ることにより、少なくとも統合失調症のある一群では、これらの遺伝子が発症に関与していることを示したいと考えている。今回はまず上記

のように対象を高 MPA 群、低 MPA 群に分けて解析を行った。

E. 結論

BDNF 多型、NT-3 多型、CNTF 多型と統合失調症との関連を調査中である。今回、統合失調症患者男性 26 名、女性 39 名の血液試料から DNA を抽出し解析を行ったが有意差は認められなかった。今後は対象者を増やし、健常者との比較も検討している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

今村明、秋月誠一、橋田あおい、藤丸浩輔、辻田高宏、林田雅希、岡崎祐士：双生児・家系（同胞）研究によるパニック障害の成因についての検討。臨床精神医学 32、1349-1352、2003

橋田あおい、今村明、松尾勝久、辻田高宏、岡崎祐士：鏡像的な MRI 異常所見を有する一卵性双生児不一致例。臨床精神医学 32、1443-1448、2003

藤丸浩輔、今村明、林田雅希、中根允文：統合失調症の合理的薬物選択アルゴリズムの開発。脳の科学、25:417-423,2003

Fujimaru K., Imamura A., Tsujita T., Uruguchi M., Hashida A., Mori T., Matsumoto S., Okazaki Y., Nakane Y.: Minor Physical Anomalies in Japanese Patients with Schizophrenia. Acta Medica Nagasakiensia Vol.47:133-137,2002

今村明、森貴俊、辻田高宏、中根允文、岡崎祐士：統合失調症の病前性格と脆弱性。精神科 1、269-274、2002

今村明、藤丸浩輔、辻田高宏、中根允文、浅香昭雄、岡崎祐士。胎生期・周産期のストレ

ス指標と精神分裂病との関係. (小椋 力 編. 精神障害の予防をめぐる最近の進歩. 東京: 星和書店; 2002. p 39-41.)

今村明、岡崎祐士: 精神分裂病の病態の変化～最近の知見～. 医薬ジャーナル 38 巻 3 号、983-986、2002.

Matsumoto S, Sasaki T, Imamura A, Matsuo K, Kayashima T, Hashida A, Ono S, Tsujita T, Matsumoto S, Nakane Y, Tokunaga K, Okazaki Y. HLA class I distribution in Japanese patients with schizophrenia. *Am J Med Genet* 2002 Jan 8;114(1):42-45

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):227-229

2. 学会発表

CA リピートマーカーを用いた一卵性双生児統合失調症不一致例の差異の検討—第 2 報—
田崎真也、古賀利香、橋田あおい、菊池妙子、与那城竹亮、藤丸浩輔、今村明、辻田高宏、岡崎祐士 (第 56 回九州精神神経学会、2003 年 11 月 6 日—7 日、久留米)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 (主要なものを選択)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Ozaki N	Psychopharmacogenetics.	Cooper DN	ENCYCLOPEDIA OF THE HUMAN GENOME	Nature Publishing Group	New York	2003	917-922
岡崎祐士・三好修・佐々木司	精神病(統合失調症、双極性気分障害)	一瀬白帝・鈴木宏治	図説 分子病態学	中外医学社	東京	2003	372-359
氏家 寛、高木 学	精神医学症候群Ⅲ、基質・症状性精神障害など 精神刺激薬(アンフェタミン系薬物)関連精神障害、逆耐性現象.	(なし)	別冊日本臨床、領域別症候群シリーズ 40	日本臨床社	大阪	2003	517-521

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
T. Arinami, H. Ishiguro, Y. Minowa, T. Ohtsuki, T. Tsujita, A. Imamura, T. Yoshikawa, T. Toyota, K. Yamada, H. Shimizu, K. Yoshitsugu, H. Shibata, Y. Fujii, Y. Fukumaki, N. Tashiro, T. Inada, Y. Iijima, Y. Kitao, T. Furuno, T. Someya, T. Muratake, N. Kaneko, S. Tsuji, M. Mineta, M. Takeichi, H. Ujike, Y. Takehisa, Y. Tanaka, K. Nakata, T. Kitajima, T. Nishiyama, Y. Yamanouchi, N. Iwata, N. Ozaki, K. Ohara, H. Shibuya, K. Ohara, Y. Suzuki, O. Ohmori, T. Shinkai, H. Hori, J. Nakamura, T. Kojima, S. Takahashi, E. Tanabe, K. Yara, S. Nanko, H. Yoneda, J. Koh, J. Sakai, Y. Inada, I. Kusumi, K. Kameda, T. Koyama, H. Fukuzako, T. Hashiguchi, K. Tanabe, Y. Okazaki	Initial genome-wide scan for linkage with schizophrenia in the Japanese schizophrenia sib-pair linkage group (JSSLG) families.	Am J Med Genet	120	22-28	2003