

200400727A

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子の解明

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 功刀 浩

平成17(2005)年4月

目 次

I.	総括研究報告	
	自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子の解明.....	3
	功刀 浩	
II.	分担研究報告	
1.	脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子変異と双極性障害との関連研究---	20
	功刀 浩	
2.	Gem interacting Protein 遺伝子変異とうつ病との関係-----	24
	功刀 浩	
3.	AKT1 遺伝子と統合失調症・覚醒剤使用障害との関連研究-----	30
	尾崎 紀夫	
4.	自殺を惹起する精神疾患における fatty acid amide hydrolase および GABA _A 受容体 α 5サブユニット遺伝子相関研-----	35
	氏家 寛	
5.	自殺を惹起する精神疾患における Chromogranin A 遺伝子の解析-----	46
	稲田 俊也	
6.	自殺既遂者の遺伝子候補の解明-----	52
	白川 治	
7.	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-----	56
	岡崎 祐士	
8.	神経発達障害仮説による遺伝解析-----	59
	今村 明	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	62

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
総括研究報告書

自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子の解明

主任研究者 功刀 浩

研究要旨

近年、自殺が増加している。そこで本研究は、自殺を惹起する精神疾患として統合失調症、躁うつ病、薬物依存症などをとりあげ、これらの疾患感受性遺伝子を見出すことを目的とする。方法論的には、患者のゲノム DNA を多数収集し、神経発達に関与する遺伝子、セロトニン(5-HT)系遺伝子などを候補遺伝子として、遺伝子変異と疾患やその臨床症状との関連を検討している。感受性遺伝子であることが示唆されたものの一部については、細胞生物学的手法を用いて機能解析を行っている。また、遺伝子発現解析からの候補遺伝子の検索も行われた。

その結果、本年度は以下のような成果が得られた。

- 1) ニューロトロフィンの一つ脳由来神経栄養因子 (BDNF) 遺伝子を双極性障害の候補遺伝子として、この遺伝子のマイクロサテライト多型について詳細に調べた。その結果、新たな変異を多数見出し、双極性障害と有意な関連があること、遺伝子転写活性と関連があることを明らかにした。本研究結果から、BDNF が双極性障害の感受性遺伝子であると結論した。
- 2) GMIP (gem interacting protein) 遺伝子の 5' 上流領域の変異(-525G/A)がうつ病発症と有意に関連し、この変異が遺伝子の転写活性に影響を与えることを示した。
- 3) BCR (breakpoint cluster region) 遺伝子が双極性障害、特に II 型双極性障害の感受性遺伝子であることを見出した。
- 4) 細胞内シグナル伝達において重要な働きをなす AKT1 遺伝子と統合失調症・覚醒剤使用障害との関連を検討し、AKT1 遺伝子変異が両疾患の感受性遺伝子であることを見出した。
- 5) 抑制性神経伝達物質 GABA の A 型受容体 $\alpha 5$ サブユニット (GABRA5) 遺伝子の多型が双極 I 型障害と関連することを見出した。

- 6) H14・15年度に報告したchromogranin Bと統合失調症との関連に引き続いて、chromogranin A遺伝子について自殺を惹起する精神疾患との関連について検討し、統合失調症患者ではrs9658635、rs729940多型部位の間に有意な関連が認められ、ハプロタイプ解析で強い関連が認められた ($p=0.000114$)。
- 7) 自殺既遂者のゲノムサンプルを用いてCOMT (catechol-O-methyl transferase) の158Val/Metミスセンス多型について検討した結果、男性においてのみ、自殺既遂群と対照群において遺伝子型の分布に有意差がみられた。遺伝子頻度でも高活性を示すとされるG(Val)アレルが自殺既遂者群で少ない傾向を認めたことから、男性では高COMT活性が自殺に抑制的に働いている可能性が示唆された。
- 8) 自殺者死後脳における遺伝子発現解析によって発現が増加している遺伝子のうち14-3-3 ϵ に着目し、自殺との関連研究を行った。その結果、T-5424CおよびC38340A多型の遺伝子頻度の分布に有意差を認め、ハプロタイプ解析においても有意差を認めた ($p=0.0005$) ことから、14-3-3 ϵ 遺伝子の自殺への関与の可能性が示唆された。
- 9) 昨年度に統合失調症不一致一卵性双生児のビーズアレイを用いた遺伝子発現解析を行い、profilin 1遺伝子 (染色体17p13.3) 発現低下とAPOL1 (22q.12.3) 発現増強が認められたが、本年度は本結果をリアルタイムPCR 法によってさらに確認した。
- 10) 統合失調症の身体小奇形と神経栄養因子(BDNF, NT-3, CNTF)遺伝子の2塩基繰り返し配列多型との関連を検討したところ、NT-3, CNTFの多型が統合失調症と有意に関連していたが、身体小奇形との関連は認められなかった。

以上の成果から、BDNF、GMIP、BDR、AKT1、GABRA5、chromogranin A、COMT、14-3-3 ϵ 、profilin 1、APOL1、NT-3、CNTFなどの遺伝子が、自殺行動やうつ病、統合失調症、覚醒剤使用障害などの自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子である可能性を明らかにした。特に1)のBDNFは、先行結果と本研究による機能解析から、双極性障害の感受性遺伝子であることが強く示唆される。他の遺伝子も独立のサンプルによって関連が確認されれば、遺伝子変異が遺伝子産物の機能にどのような影響を与えるかについて解析を行うことで、病態メカニズムを解明する上で極めて重要な知見が得られる可能性がある。それによって新しい診断・治療法の開発につながることを期待される。

なお、全分担研究施設において、ゲノムDNAが順調に集まっている。今後、遺伝子解析研究をさらに発展させる上でわが国における貴重なリサーチ・リソースとなる。

分担研究者	
功刀 浩	国立精神・神経センター・部長
岡崎祐士	三重大学医学部・教授
尾崎紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科・教授
氏家 寛	岡山大学大学院医歯学総合研究科・助教授
稲田俊也	名古屋大学大学院医学系研究科・助教授
白川 治	神戸大学大学院医学系研究科・助教授
今村 明	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・講師

A. 研究目的

近年、自殺者数が急増している。人口動態統計（厚生労働省）によれば、1980年、1990年、1995年、2000年の自殺者数は20542人、20088人、21420人、30251人であり、1980～90年代前半までは概ね横ばいであったものが、1995年頃より急増し、年間3万人台に達している。これによって失われる寿命、経済への影響などは甚大であり、自殺によって親を失った子供への経済的・精神的影響なども社会問題となっている。従って、自殺や自殺を生じやすい精神疾患への対応策を探ることは、厚生労働行政において緊急な重

要課題である。

自殺においては心理社会的要因が強く関連することは明らかであり、家族や職場から得られるソーシャル・サポートが自殺予防に重要であることは言うまでもない。他方、自殺を生じやすい遺伝的素因が存在することも明らかにされており、それにストレスが加わることによって特有の脳の生物学的変化を生じ、自殺に至ると考えられている。事実、家系研究、双生児研究、養子研究によって自殺には遺伝的要因が強く働いていることが示されている。自殺の心理社会的側面に注目した対応策に関してはわが国でもいくつかの研究がなされつつあるが、遺伝的素因などの生物学的側面に関する研究は不十分である。

本研究は、分子遺伝学的手法を用いて、自殺行動ならびに自殺を生じやすい精神疾患の遺伝的素因を明らかにすることを目的とする。本研究では自殺を生じやすい精神疾患として、躁うつ病、統合失調症と薬物依存症を中心にとりあげた。自殺者の2/3以上が躁うつ病（単極型ないし双極型）であるとされ、躁うつ病患者のおよそ1 / 5は自殺するとされる。また、統合失調症は、生涯罹患率がおよそ1%であり、常時およそ70万人の患者がいるとされるが（厚生労働省推計）、そのう

ち10～15%が自殺という不幸な転帰をたどることが知られている。欧米による統計によれば、薬物依存症では概して一般人口より自殺の危険性が4倍以上高まることが知られている。

本研究によって、自殺行動や自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子が明らかになれば、自殺に至る脳の生物学的変化に関する重要な手がかりとなり、自殺の予防薬の開発などにおいて重要な知見を提供することが期待される。

B. 研究方法

1. サンプル収集 (担当：全員)

自殺を惹起し易い精神疾患の患者のDNAサンプルを多数収集し、各症例について自殺未遂歴に関する情報を得ている。

サンプル収集に際しては倫理的側面に十分配慮した。すなわち、本研究は精神疾患患者、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究であり、試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、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、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。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理(匿名化)などを徹底した。

2. 脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子変異と双極性障害との関連 (担当：功刀)

神経発達や神経可塑性において重要な働きをする神経栄養因子やその受容体は、近年統合失調症や躁うつ病などの機能性精神病の病態発生やその治療において重要な役割を果たしていることが示唆されている。そこで、功刀らは、ニューロトロフィンの1つであるBDNF遺伝子と双極性障害との関連について詳細な検討を行った。BDNFにはVal66Metミスセンス多型、マイクロサテライト多型などが存在するが、Val66Met多型と双極性障害との関連については、多施設研究によって検討したが、結果は関連を否定するものであった。そこで、BDNF遺伝子のなかにあるマイクロサテライト多型に関して関連研究、機能解析を行った。関連研究は、153名の双極性障害患者群と年齢・性について統制された同数の健常対照群を対象に行った。BDNFの2塩基繰り返し配列については、Proschelら(1991)が報告した多型領域をPCRで増幅し、クローニング・自動シーケンサーとパイロシケンスによって塩基配列を詳細に検討した。また、

この多型領域が遺伝子転写活性と関連があるか否かを検証するために4つの主要な対立遺伝子についてラット大脳皮質の初代培養ニューロンによるルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイを行った。

3. Gem interacting protein 遺伝子変異とうつ病との関連 (分担：功刀)

近年の脳画像研究によれば、うつ病では脳構造の可塑的異常が存在することが示唆されている。したがって、脳の可塑性において重要な役割を果たす遺伝子の変異は、うつ病の発病危険性と関連する可能性がある。Rho ファミリーのGTP 結合タンパクは、神経突起や軸索の伸長など脳の可塑性において重要な役割を果たすことが知られており、GTPase活性化タンパクによって制御されている。Gem interacting protein (GMIP)は、近年同定された新しいGTPase活性化タンパクである。そこで本研究は、GMIP遺伝子とうつ病の候補遺伝子としてとりあげ、遺伝子解析研究を行った。対象は、164名の大うつ病患者とそれにマッチした健常者である。データベース上でGMIP遺伝子におけるSNPsを抽出し、うつ病との関連をみた。さらに、GMIPの5'-上流域にある-525G/A多型については、ルシフェラーゼアッセイを行い、遺伝子転写活性への影響をみた。

4. AKT1遺伝子と統合失調症・覚醒剤使用障害との関連 (分担：尾崎)

モノアミン系受容体は、AKT1-GSK3βシグナルカスケードを介して転写、翻訳、アポトーシスなど、多様な細胞機能の制御を担っており、AKT1は精神障害の病態生理に関係しうると考えられている。事実、AKT1 遺伝子と統合失調症との関連を示す報告もある(Emamian et al. Nat Genet 2004)。そこで、日本人統合失調症および覚醒剤使用障害を対象としてAKT1 遺伝子との関連を検討した。対象は507人の統合失調症患者、182人の覚醒剤使用障害患者と437人の正常対照者である。6個のSNPsについて遺伝子型を決定し、関連の有無について統計的に解析した。ハプロタイプ分析も行った。

5. Fatty acid amide hydrolase およびGABA_A受容体α5サブユニット遺伝子に関する研究 (分担：氏家)

Fatty acid amide hydroolase (FAAH)は内因性カンナビノイドの分解酵素であり、anandamide やその他のfatty acid amideを代謝する。マリファナ使用者はその後の統合失調症発症危険率が高まることはよく知られており、カンナビノイド系が薬物依存や統合失調症の発症に関わっていることを示して

いる。そこで、FAAH遺伝子の機能的多型であるPro129Thrと精神疾患との関連を検討した。

また、気分障害における GABA 仮説は古くからあり、GABA_A 受容体 α 5サブユニット (GABRA5) は海馬に多く分布している。これまでに GABRA5 遺伝子と双極障害との関連を示唆する報告もいくつかあり、5つの多型をマーカーにして日本人での解析を試みた。対象は統合失調症患者 260 名、双極性障害患者は 171 名、覚せい剤依存症 153 名とそれぞれに年齢・性・居住地域をマッチさせた健常者群である。遺伝子型の決定は PCR と制限酵素切断片多型などにより決定し、関連の有無を統計的に検定した。

6. Chromogranin A 遺伝子の解析 (分担：稲田)

稲田らはH14～15年度の本研究によって chromogranin B 遺伝子と統合失調症との関連を詳細に報告した。本年度は、統合失調症患者および覚醒剤使用障害患者を対象に chromogranin A 遺伝子の変異検索および関連解析を行った。統合失調症の臨床症状との関連について薬理遺伝学的に検討した。対象は、覚醒剤依存症患者213名、統合失調症患者381名、健常対照者382名である。dbSNPに登録された 10個の多型について連鎖不平衡解析を行った上でハプ

ロタイプタグ SNP (htSNP) を選出し、各 SNP および haplotype 頻度の比較を行った。各遺伝子多型の決定は PCR-RFLP 法および PCR-Direct Sequence 法を用いた。

7. 自殺既遂者の候補遺伝子研究 (分担：白川)

白川は、自殺既遂者のサンプルを用いて候補遺伝子研究を行った。候補遺伝子として、モノアミンの代謝において重要な役割を果たしている遺伝子のうち、catechol-O-methyl transferase (COMT)、遺伝子の機能的変異である Val158Met 多型、セロトニントランスポーターのプロモーター領域多型(5-HTTLPR)、モノアミン酸化酵素 A (MAOA) 遺伝子 uVNTR 多型、ドーパミン 4 型受容体 (DRD4) の -521C/T 多型について解析した。さらに、自殺既遂者死後脳・扁桃体の遺伝子発現プロファイリング解析によって発現が増加している遺伝子のうち、14-3-3 ϵ にも着目した。後者のマーカーとして3つの遺伝子多型 (T-5424C、C38340A、T55012C) を用いて自殺との相関研究を行った。対象は自殺既遂者 163 例と健常対照群 169 例である。

8. 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：岡崎）

岡崎は、一卵性双生児発症不一致例の遺伝子発現差異を検討することで、発症に関与する候補遺伝子を絞り込む画期的な方法を採用している。昨年度の本研究においてビーズマイクロアレイ法によってprofilin 1遺伝子（染色体17p13.3）発現低下とAPOL1（22q.12.3）発現増強が認められたが、本年度はこの結果をリアルタイムPCR法によってさらに検証した。実際は、健常男性一卵性双生児1組及び統合失調症不一致男性双生児1組の培養リンパ芽球からRNAを精製し、TaqManプローブを用いたリアルタイムPCRによるmRNA発現量の測定を行った。

9. 神経栄養因子遺伝子変異と統合失調症・身体小奇形との関連（分担：今村）

今村は、統合失調症の神経発達障害仮説に基づき、神経発達の指標となり、統合失調症に多いことが指摘されている身体小奇形についてWaldropスケールを用いて評価し、神経栄養因子遺伝子(BDNF、NT-3、CNTF)のマイクロサテライト多型との関連について検証した。対象は統合失調症患者89名と健常者68名である。

C. 研究結果

1. サンプル収集

各施設において、自殺を惹起する精神疾患のゲノム収集が順調に行われている。たとえば、主任研究者の功刀は、国立武蔵病院においてゲノム収集を行い、平成15～16年度に、機能性精神疾患患者とコントロールサンプル計およそ500例のゲノムとその臨床情報を収集した。氏家らは、覚醒剤使用障害の遺伝子研究の全国組織（JGIDA）にて、ゲノムサンプルを収集しているが、国内外でも最大のジーンバンクとなった。他の分担研究施設でも非常に多数のゲノムDNAサンプルが集められている。

2. 脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子変異と双極性障害との関連（分担：功刀）

BDNFの繰り返し配列について検討したところ、Proschelら(1991)の当初の報告ではGTリピートと記載されていたが、NCBIのデータ・ベース上ではBDNF遺伝子の5'→3'の方向で読むと、GTでなくCAリピートであった。直接シーケンス法、対立遺伝子のクローニング、パイロシーケンス法を用いた解析では、この繰り返し配列を含むおよそ60bpの領域に、従来報告されていない(CG)_n、(GA)_nの多型が(CA)_nの前後に存在していることが明らかになり、20以上の新奇アレルを同定した。そのうち、頻度が比較的高い対立遺伝子は4つ存在した。4つの頻度が高い

対立遺伝子のうちの1つの対立遺伝子 (A1 とする) は、双極性障害に有意に多かった ($p < 0.01$)。さらに、培養ニューロンによるルシフェラーゼアッセイの結果、この多型領域は若干のサイレンサー活性があり、A1 では、最もその活性が強かった ($p < 0.01$)。以上から、A1 対立遺伝子は、BDNF の転写活性を低めることを介して双極性障害の発病脆弱性を高める可能性が示唆された。

3. Gem interacting protein 遺伝子変異

とうつ病との関連 (分担: 功刀)

-525G/A 多型の A 型対立遺伝子は、大うつ病患者に有意に多かった ($\chi^2 = 4.25$, $df = 1$, $p = 0.039$)。他の3つの SNPs に関しては、変異型アレルが患者群で多い傾向があった (SNP2: $p = 0.075$, SNP3: $p = 0.058$, SNP4: $p = 0.075$)。うつ病患者では、発症率に男女差があることから、男女別に分析したところ、SNP2、SNP3、SNP4 に関して、男性のみで有意差を認めた (SNP2: $p = 0.0086$; SNP3: $p = 0.0086$; SNP4: $p = 0.015$)。次にハプロタイプ解析を行ったところ、ハプロタイプの分布は男性では患者群と健常者群との間で有意に異なっていたが ($p = 0.0087$)、女性では有意な関連を認めなかった。

-525G/A 多型についてのルシフェラー

ゼアッセイの結果、調べた全ての細胞株 (HeLa, IMR-32, and Hs683) において、相対的ルシフェラーゼ活性は A 型対立遺伝子で減少していた。以上から、GMIP の遺伝子変異はうつ病の発病危険性と関連することが示唆され、特に、5' 上流域にある -525G/A 多型は、転写活性に影響を与えることによりうつ病の発病危険性を高める可能性が示唆された。

4. AKT1 遺伝子と統合失調症・覚醒剤使用障害との関連 (分担: 尾崎)

統合失調症と AKT1 との関連解析については、日本人統合失調症と AKT1 遺伝子上の6つの SNPs のうちの1つ (SNP5) との有意な関連を見いだした。これは、Emamian ら (2004) が関連を見いだした SNP3 とは異なるものであった。覚醒剤使用障害との関連では、SNP3 との有意な関連を見いだした。

5. Fatty acid amide hydrolase および GABA_A 受容体 $\alpha 5$ サブユニット遺伝子に関する研究 (分担: 氏家)

FAAH 遺伝子の Pro129Thr 多型は統合失調症、覚醒剤依存症ともに有意な関連を認めなかった。

GABRA5 遺伝子多型と双極性障害との関連研究では、GABRA 5 遺伝子の5つの多

型のうちイントロン1の IVS1-21G>A 多型は、双極性障害全体では相関がなかったが、1型双極性障害と遺伝子型、アレル頻度の両方で有意な関連を認めた（遺伝子型 $p=0.020$ 、アレル $p=0.024$ ）。オッズ比は 0.57 (95%CI; $0.44-0.73$) であり、発症防禦因子であることがわかった。この多型は2型障害とは相関しなかった。次にハプロタイプ解析を行ったところ、IVS1-21A/IVS2-26T ハプロタイプは患者群で有意に少なく ($p=0.039$)、そのオッズ比は 0.57 (95%CI; $0.44-0.73$) であり、このハプロタイプは発症防禦因子である可能性が示唆された。

6. Chromogranin A 遺伝子の解析 (分担: 稲田)

Chromogranin A 遺伝子のうちの10のSNPsの中からhtSNPとしてrs9658635とrs729940とを選出した。統合失調症とrs9658635、rs729940多型部位の間に有意な関連が認められ(対立遺伝子頻度のp値はそれぞれ0.0531, 0.0278)、ハプロタイプ解析で強い関連が認められた($p=0.000114$)。

覚醒剤使用障害と多型部位との間には有意な関連は認められず、使用開始年齢別、フラッシュバック症状の有無、多剤乱用の有無などの臨床症状別に分け詳細

に検討を行ったが、有意な関連は認められなかった。

7. 自殺既遂者の候補遺伝子研究 (分担: 白川)

5HTT、MAOA、DRD4の多型では、自殺既遂者群(全例・男・女)と健常対照群(全例・男・女)における遺伝子型ならび遺伝子頻度の分布に有意な差を認めなかった。一方、COMTの158Val/Met多型では、男性自殺既遂者群と男性対照群において遺伝子型の分布に有意差がみられ($p=0.036$)、遺伝子頻度でも男性自殺既遂者群でG(Val)アレルが少ない傾向を認めた($p=0.08$)。

自殺既遂群185例、対照群359例による14-3-3εの遺伝子解析研究では、比較的頻度の高い3つの遺伝子多型(T-5424C、C38340A、T55012C)を解析した結果、自殺既遂群と対照群において、T-5424CおよびC38340A多型の遺伝子頻度の分布に有意差を認め(T-5424C: $p=0.023$ 、C38340A: $p=0.041$)、さらに、ハプロタイプ解析においても有意差を認めた($p=0.0005$)。

8. 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 (主たる担当: 岡崎)

Profilin 1 遺伝子については、対照双

生児間では差が無かったが、不一致双生児では、罹患双生児 (0.205318) に対して非罹患双生児では (0.229193) とやや高かった。Apolipoprotein(Apo)L1 では、対照双生児間では差が無かったが、不一致双生児の罹患双生児では 0.00732 に対して非罹患双生児は 0.00572 であった。ApoL2 から L6 までは対照双生児も不一致双生児でもまったく差がなかった。つまり ApoL1 についてのみ統合失調症に不一致な一卵性双生児の罹患双生児における発現が亢進していた。これらは、ビーズアレイで確認されたのと同方向の発現の変化であった。

9. 神経栄養因子遺伝子変異と統合失調症・身体小奇形との関連 (分担: 今村)

統合失調症における身体小奇形と神経栄養因子遺伝子(BDNF、NT-3、CNTF)のマイクロサテライト多型との関連について検証した。その結果、統合失調症患者群と健常者群との間で、NT-3の1つの対立遺伝子(A7)頻度に関して有意差を認め(p=0.018)、CNTFでも有意な関連を認めた(A1アレルでp=0.023、A3アレルでp=0.005)。しかし、高MPA群と低MPA群との比較では、有意差はみられなかった。

D. E. 考察および結論

以上のように、今年度の遺伝子解析研究によって、自殺行動や自殺を惹起する精神疾患の感受性遺伝子として、BDNF (双極性障害との関連)、GMIP (うつ病)、AKT1 (統合失調症、覚醒剤使用障害)、GABRA5 (双極性 I 型障害)、chromogranin A (統合失調症)、COMT (自殺既遂)、14-3-3 ϵ (自殺既遂)、NT-3 (統合失調症)、CNTF (統合失調症)が同定された。これらの知見をさらに確実なものにするには、独立のサンプルで関連が確認される必要がある。結果が確認されれば、今後、遺伝子変異が遺伝子産物の機能にどのような影響を与えるかについて解析を行い(BDNFやGMIPなどの一部の遺伝子については本研究によって機能解析も行われた)、病態メカニズムを解明につながる知見となる。

BDNFは近年、気分障害や統合失調症などの機能性精神疾患において重要な働きをしていることを示す知見が増大しており、これらの疾患の発病や治癒過程における脳の可塑的変化に重要であると考えられている。いくつかの先行研究においてこれらの疾患とBDNFのマイクロサテライト多型との関連が指摘されていること、本研究においてこのマイクロサテライトが双極性障害と関連するだけでなく、遺伝子転写活性に影響を与える機能

的多型であることが明らかになったこと、
などからこの多型が発病脆弱性を与える
ものであると結論される。

うつ病との関連がみられたGMIPの
SNPsのうち、プロモーター領域と考えら
れる5'上流域にある-525G/A多型は、ルシ
フェラーゼアッセイの結果から、転写活性
に影響を与える機能的変異であることが
示唆された。したがって、今後、独立のサ
ンプルによってさらに検証される必要が
あるものの、GMIPはうつ病（特に男性に
おける）の感受性遺伝子である可能性が示
唆された。

AKT1 と統合失調症との関連が見出され
たことは、Caucasian において関連を示す
先行研究もあり、注目される。さらに、本
研究によって覚醒剤使用障害との関連も見
いだされた。しかし、先行研究によって関
連が見られた SNP3 とは本研究では覚醒剤
使用障害と関連があり、統合失調症との関
連はこのSNPでなく5'側に位置するSNP5
との関連が検出されたなど、一部不一致の
点もある。今後さらに発病脆弱性を与える
多型について詳細な検討が必要である。

双極性障害とGABA_A受容体遺伝子の研究
はいくつか先行研究がある。GABRA5遺伝
子との関連以外にも、α1サブユニット
(GABRA1)遺伝子が気分障害と関連する、
α3サブユニット (GABRA3) 遺伝子が双

極性障害と関連する、GABRA1とGABRA6が
女性の気分障害と関連する、などである。
一方、否定する報告も複数ある。しかし、
これらの報告は症例数が少ないなどの問
題点があった。今回の本研究による十分
なサンプル数での検討ではGABRA5は有意
に双極性障害1型と相関した。また、ハ
プロタイプ解析ではIVS1-21A/IVS2-26T
が発症防禦因子（オッズ比0.57）であるこ
とが明らかになった。この相関は双極2
型ではみられず、両型は遺伝的に異なる
影響を受けることが示唆された。以上の
結果は、双極性障害の発症脆弱性にGABA_A
受容体が関与していることの遺伝学的証
拠を提供すると共に、異なる民族では
GABA_A受容体の異なるサブユニットが影響
することを示唆していると考えられた。

Chromogranin A 遺伝子多型と統合失調
症との関連は、昨年度までに chromogranin
B と統合失調症との関連も見出されたこと
から、極めて興味深い知見である。
Chromogranin は唾液内などに分泌されて
いることから、測定が可能であり、遺伝子
変異と生体内分泌量との関連や、統合失調
症の重症度と関連するか否かなどについて
今後検討を進め、統合失調症の生物学的マ
ーカーとして活用する方向での発展性も期
待できる。

自殺既遂者のゲノムを用いた解析では、

COMTの158Val/Met多型が、男性において自殺との関連が示唆された。高活性を示すとされるG (Val) アレルが自殺既遂者群で少ない傾向を認めたことから、男性では高COMT活性が自殺に抑制的に働いていることが示唆される。COMTはこれまでに種々の精神疾患への感受性に影響を与えることが報告されており、本知見もそれに一致する重要な結果である。14-3-3 ε 遺伝子と自殺既遂との関連は、死後脳の遺伝子発現プロファイリング、ウエスタンブロットティングによるタンパクレベルでの確認、遺伝子解析による関連と、関連を裏付けるエビデンスのレベルは非常に高い。今後、遺伝子機能解析を行うことによって自殺行動の分子メカニズムの解明、自殺予防薬の開発につながる事が期待できる。

一卵性双生児の統合失調症発病不一致例の芽球化細胞の解析により、昨年度のマイクロアレイによる成果を支持する結果が得られた。すなわち、mRNA 発現を測定した場合、profilin 1 の発現低下とAPOL1 遺伝子の発現増強が認められた。これらの遺伝子については、変異が発病危険性と関連するか否か、メチレーションなどのエピジェネティックな要因と関連するか否かなどについて、今後検討していく価値がある。

統合失調症における身体小奇形と神経栄養因子などの神経発達障害関連遺伝子との関連については、今回、身体小奇形と神経栄養因子遺伝子変異との関連は認められなかったものの、NT-3やCNTFが統合失調症への疾患感受性と関連する可能性が示唆され、同様の既報もあることから注目される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表 (主要なものを選択)

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 individuals. *Biol Psychiatry* 55(8):804-810, 2004.

Deng XX, Shibata HH, Ninomiya HH, Tashiro NN, Iwata NN, Ozaki NN, Fukumaki YY: Association study of polymorphisms in the excitatory amino acid transporter 2 gene (SLC1A2) with schizophrenia. *BMC Psychiatry* 4 (1):21, 2004

Harano M, Uchimura N, Abe H, Ishibashi M, Iida N, Yanagimoto K, Tanaka T, Maeda H, Sora I, Iyo M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Ujike H.: A Polymorphism of DRD2 Gene and

- Brain Atrophy in Methamphetamine Psychosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1025:307-315, 2004.
- Hishimoto, A., Shirakawa, O., Nishiguchi, N., Aoyama, S., Ono, H., Hashimoto, T., Maeda, K. Novel missense polymorphism in the Regulator of G-protein signaling 10 gene: analysis of association with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 58(5): 579-81. 2004
- Hashimoto R, Okada T, Kato T, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H: The breakpoint cluster region (BCR) gene on chromosome 22q11 is associated with bipolar disorder. *Biological Psychiatry* (in press)
- Hashimoto R, Suzuki T, Iwata N, Yamanouchi Y, Kitajima T, Kosuga A, Tatsumi M, Ozaki N, Kamijima K, Kunugi H: Association study of the frizzled-3 (FZD3) gene with schizophrenia and mood disorders. *Journal of Neural Transmission* 112 (2): 303-307, 2005.
- Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N, 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. *Schizophrenia Research* 73 (2-3): 383-385, 2005.
- Hashimoto T, Hashimoto K, Matsuzawa D, Shimizu E, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Iyo M: A functional glutathione-S-transferase P1 polymorphism is associated with methamphetamine-induced psychosis in Japanese population. *Am J Med Genet*, in press.
- Ide S, Kobayashi H, Tanaka K, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I.: Gene polymorphisms of the mu opioid receptor in methamphetamine abusers. *Ann N Y Acad Sci.* 1025:316-24, 2004.
- Iijima Y, Inada T, Ohtsuki T, Senoo H, Nakatani M, Arinami T: Association between chromo- granin B gene polymorphisms and schizophrenia in the Japanese population. *Biol Psychiatry* 56(1), 10-17, 2004.
- Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Inada T, Ozaki N: Association of AKT1 with Schizophrenia Confirmed in a Japanese Population. *Biol Psychiatry* 56(9): 698-700, 2004.
- Inada T, Iijima Y, Uchida N, Maeda T, Iwashita S, Ozaki N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H: No association between the type 1 sigma receptor gene polymorphisms and methamphetamine abuse in the Japanese population: a collaborative study by the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA). *Ann NY Acad Sci* 1025: 27-33, 2004.
- Itoh K, Hashimoto K, Shimizu E, Sekine Y,

- Ozaki N, Inada T, Harano M, Iwata N, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Nakata K, Ujike H, Iyo M: Association study between brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and methamphetamine abusers in Japan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 132B (1) :70-73, 2004
- Iwata N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H, Ozaki N: No Association Is Found between the Candidate Genes of t-PA/Plasminogen System and Japanese Methamphetamine-Related Disorder: A Collaborative Study by the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse. *Ann N Y Acad Sci* 1025 34-38, 2004
- 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.
- Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Itokawa M, Toyota T, Meerabux JMA, Minabe Y, Mori N, Inada T, Yoshikawa T: Extended analyses support the association of a functional (GT)_n polymorphism in the GRIN2A promoter with Japanese schizophrenia. *Neurosci Lett*, in press.
- Kato T, Iwamoto K, Kakiuchi C, Kuratomi G, Okazaki Y: Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Mol Psychiatry* (in press)
- Kinoshita Y, Suzuki T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Inada T, Yoneda H, Iwata N, Ozaki N: Association study of the calcineurin A-gamma subunit gene (PPP3CC) haplotype in Japanese schizophrenia. *Journal of Neural Transmission*, in press.
- Kobayashi H, Ide S, Hasegawa J, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Shen HW, Ikeda K, Sora I: Study of Association between {alpha}-Synuclein Gene Polymorphism and Methamphetamine Psychosis/Dependence. *Ann N Y Acad Sci* 1025 325-334, 2004
- Kobayashi H, Ide S, Hasegawa J, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Shen HW, Ikeda K, Sora I.: Study of Association between α -Synuclein Gene Polymorphism and Methamphetamine Psychosis/Dependence. *Ann N Y Acad Sci.*; 1025: 325-334, 2004.
- Kockelkorn TT, Arai M, Matsumoto H, Fukuda N, Yamada K, Minabe Y, Toyota T, Ujike H, Sora I, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M. Association study of polymorphisms in the 5' upstream region of human DISC1 gene with schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2004;368(1):41-45.
- 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 126B (1) :43-45, 2004
- Kunugi H, Iijima Y, Tatsumi M, Yoshida M, Hashimoto R, Kato T, Sakamoto K, Fukunaga T, Inada T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Yamada K, Yoshikawa T: No association between the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and bipolar disorder in Japanese: a multi-center study. *Biol Psychiatry* 56(5): 376-378, 2004
- Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T: Lack of association between XBP1 genotype and calcium signaling in the platelets of healthy subjects. *Neuroscience Letters* 369 (1): 1-3, 2004
- Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Kunugi H, Koyama T: Possible association between -116C/G polymorphism of the XBP1 gene and response to lithium in bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology* (in press)
- Matsushita S, Suzuki K, Murayama M, Nishiguchi N, Hishimoto A, Takeda A, Shirakawa O, Higuchi S. Serotonin transporter regulatory region polymorphism is associated with anorexia nervosa. *Am J Med Genet* 128B(1): 114-117. 2004
- Miyasaka, K, Yoshida, Y, Matsushita, S, Higuchi, S, Shirakawa, O, Shimokata, H, Funakoshi, A. Association of cholecystikinin-A receptor gene polymorphisms and panic disorder in Japanese. *Am J Med Genet.*;127B(1):78-80. 2004
- Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett.* ;376(3):182-7. 2005.
- Munakata K, Tanaka M, Mori K, Washizuka S, Yoneda M, Tajima O, Akiyama T, Nanko S, Kunugi H, Tadokoro K, Ozaki N, Inada T, Sakamoto K, Fukunaga T, Iijima Y, Iwata N, Tatsumi M, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. Mitochondrial DNA 3644T-->C mutation associated with bipolar disorder. *Genomics* 84 (6): 1041-1050, 2004.
- Munakata K, Tanaka M, Mori K, Washizuka S, Yoneda M, Tajima O, Akiyama T, Nanko S, Kunugi H, Tadokoro K, Ozaki N, Inada T, Sakamoto K, Fukunaga T, Iijima Y, Iwata N, Tatsumi M, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T: A mitochondrial DNA mutation associated with bipolar disorder decreases mitochondrial membrane potential. *Genomics* 84(6): 1041-1050, 2004.
- Nishiyama T, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Inada T, Furukawa T, Ozaki N: Haplotype association between

- GABAA receptor gamma2 subunit gene (GABRG2) and methamphetamine use disorder. *Pharmacogenomics J*, in press.
- 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. *Human Molecular Genetics* 13 (21): 2699-2708, 2004.
- Ohtsuki T, Tanaka S, Ishiguro H, Noguchi E, Arinami T, Tanabe E, Yara K, Okubo T, Takahashi S, Matsuura M, Sakai T, Muto M, Kojima T, Matsushima E, Toru M, Inada T: Failure to find association between PRODH deletion and schizophrenia: population screening using simple PCR method. *Schizophr Res* 67: 111-113, 2004
- Ohtsuki T, Inada T, Arinami T: Failure to confirm association between AKT1 haplotype and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Mol Psychiatry* 9(11): 981-983, 2004
- Okada M, Goldman D, Linnoila M, Iwata N, Ozaki N, Northup JK: Comparison of G-Protein Selectivity of Human 5-HT_{2C} and 5-HT_{1A} Receptors. *Ann N Y Acad Sci* 1025 570-7, 2004
- Okamura K, Shirakawa O, Nishiguchi N, Ono H, Nushida H, Ueno Y, Maeda K. Lack of an Association Between 5-HT₆ Receptor Gene Polymorphisms and Suicide Victims. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* (in press)
- Ono, H., Shirakawa, O., Nushida, H., Ueno, Y., Maeda, K. Association between Catechol-O-Methyltransferase Functional Polymorphism and Male Suicide Completers. *Neuropsychopharmacology* 29: 1374-1377. 2004
- Ozaki N: Pharmacogenetics of antipsychotics. *Nagoya J Med Sci* 67 (1-2) :1-7, 2004
- Saito S, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Takahashi N, Inada T, Ozaki N: No association was found between a functional SNP in ZDHHC8 and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Neurosci Lett* 374(1): 21-24, 2004
- Suzuki A, Nakamura K, Sekine Y, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N: An association study between COMT gene polymorphism and methamphetamine psychotic disorder. *Psychiatr Genet*, in press
- Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M, Kosuga A, Kamijima K, Kunugi H: The Gem interacting protein (GMIP) gene is associated with major depressive disorder. *Neurogenetics* (in press)
- Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H: Analysis of enhancer activity of a dinucleotide repeat polymorphism in the neurotrophin-3 gene and its association with bipolar disorder. *Neuropsychobiology* 50 (3):

- 206-210, 2004.
- 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* 19: 187-192, 2004.
- Takano A, Uchiyama M, Kajimura N,
Mishima K, Inoue Y, Kamei Y, Kitajima
T, Shibui K, Katoh M, Watanabe T,
Hashimoto Y, Ozeki Y, Hori T,
Yamada N, Toyoshima R, Ozaki N,
Okawa M, Nagai K, Takahashi K,
Isojima Y, Yamauchi T, Ebisawa T: A
Missense Variation in Human Casein
Kinase I Epsilon Gene that Induces
Functional Alteration and Shows an
Inverse Association with Circadian
Rhythm Sleep Disorders.
Neuropsychopharmacology (4) :1-9,
2004
- Yokota O, Terada S, Ishihara T, Nakashima H,
Kugo A, Ujike H, Tsuchiya K, Ikeda K,
Saito Y, Murayama S, Ishizu H, Kuroda
S. Neuronal expression of
cyclooxygenase-2, a pro-inflammatory
protein, in the hippocampus of patients
with schizophrenia. *Prog
Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.
28(4):715-21. 2004
- Yanagi M, Shirakawa O, Kitamura N,
Okamura K, Sakurai K, Nishiguchi N,
Hashimoto T, Nishida H, Ueno Y, Kanbe
D, Kawamura M, Araki K, Nawa H and
Maeda K Association of 14-3-3 ϵ gene
haplotype with completed suicide in
Japanese. *J Human Genetics* 2005 in
press
- Washizuka S, Iwamoto K, Kazuno AA,
Kakiuchi C, Mori K, Kametani M, Yamada
K, Kunugi H, Tajima O, Akiyama T, Nanko
S, Yoshikawa T, Kato T: Association of
mitochondrial complex I subunit gene
NDUFV2 at 18p11 with bipolar disorder in
Japanese and the National Institute of
Mental Health pedigrees. *Biological
Psychiatry* 56 (7): 483-489, 2004.
- (学会発表：省略)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
橋本亮太、功刀浩：躁うつ病の発病しやす
さに影響する遺伝的素因を有するか否か
を検査するための方法。特願2004-246447
(2004年8月26日)

脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子変異と双極性障害との関連研究

主任研究者 功刀 浩*

共同研究者：岡田武也*、橋本亮太*、沼川忠弘*、小菅麻子**、巽雅彦**、
上島国利**、加藤忠史***

*国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第三部

**昭和大学医学部精神医学教室

***理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム

研究要旨

近年、抗うつ薬や通電療法の効果のメカニズムとして、脳由来神経栄養因子(BDNF)などの神経栄養因子が関与している可能性を指摘する報告が増えている。また、分子遺伝学的研究においては、BDNF の遺伝子多型と双極性障害とが有意に関連するという報告や、BDNF の遺伝子変異が記憶や海馬の機能に影響を与えることも示唆されている。本研究では、BDNF を双極性障害の候補遺伝子として、この遺伝子のマイクロサテライト多型について詳細に調べた。その結果、新たな変異を多数見出し、双極性障害と有意な関連があること、遺伝子転写活性と関連があることを明らかにした。本研究結果から、BDNF が双極性障害の感受性遺伝子であると結論した。

目的

神経栄養因子は、中枢神経系における神経細胞の発達、分化、生存、可塑性などにおいて重要な役割を果たしている。近年、抗うつ薬や通電療法の効果のメカニズムとして、脳由来神経栄養因子(BDNF)などの神経栄養因子が関与している可能性を指摘する報告が増えている¹⁾。また、分子遺伝学的研究においては、BDNF の遺伝子多型と双極性障害とが有意に関連するという報告や^{6,8)}、BDNF の遺伝子変異が記憶や海馬の機能に影響を

与えることも示唆されており²⁾、気分障害の病態発生と関連する可能性が示唆されている。さらに、統合失調症発症危険性やその臨床特性と関連するという報告もある^{3,5)}。

そこで本研究では、BDNF 遺伝子と双極性障害との関連について詳細な検討を行った。BDNF には Val66Met ミスセンス多型、マイクロサテライト多型などが存在するが、Val66Met 多型と双極性障害との関連は、多施設研究によりわが国のサンプルでは否定的であった⁴⁾そこで、本報告書では、マイクロサテライト多型に