

200400727 B

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 14 年度～16 年度 総合研究報告書

主任研究者 功刀 浩

平成 17 (2005) 年 4 月

## 目 次

I.	総合研究報告	
	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	
	（資料） 遺伝子解析研究説明・同意文書等.....	24
	（国立精神・神経センター武蔵地区）	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	29
III.	研究成果の刊行物・別刷.....	44

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
（総合）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

国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第三部・部長

**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、神経伝達物質を制御する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た。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た。また、遺伝子発現解析からの候補遺伝子の検索も行った。その結果、以下のような多数の重要な成果が得られた。

- 1) 既報の統合失調症のポジショナルクローニングにおいて感受性遺伝子であることが示唆されている *dysbindin* について、ハプロタイプ解析を行い、日本人のサンプルでも統合失調症と有意に関連することを示した。また、ラット初代培養ニューロンを用いて、この遺伝子のが中枢ニューロンのプレシナプスタンパクを増加させ、グルタミン酸放出量を増加させること、細胞保護効果をもつことなどを見出し、世界に先駆けて報告した。
- 2) 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、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。
- 3) ニューロトロフィン共通の低親和性受容体 p75NTR 遺伝子のミスセンス変異 (S205L) が、大うつ病や自殺行動と有意に関連することを見出した。L205 アリルがうつ病や自殺行動に対して予防効果をもつ可能性が示唆された。

- 4) 神経突起や軸索の伸長において重要な働きをなす Rho GTPase 活性化タンパクをコードする遺伝子と精神疾患との関連について調べた結果、chimerin 2 遺伝子のミスセンス変異(H204R)が男性において統合失調症と有意に関連すること、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、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。
- 5) 自殺行動では、セロトニン系が重要であることが示唆されている。セロトニン受容体のサブタイプである 5-HT<sub>4</sub> 受容体遺伝子の多型について調べたところ、2つの SNPs からなるハプロタイプが統合失調症発症の防禦因子となる可能性を見出した。
- 6) SSRI など抗うつ薬の標的タンパクである 5HTT 遺伝子(SLC6A4)の変異検索を行い、機能的変化をもたらす稀なアミノ酸置換 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った。
- 7) 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 が両疾患の感受性遺伝子であることを見出した。
- 8) 神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRPO-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見出した。
- 9) 神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる Wnt シグナル受容体の 1 つ frizzled-3(FZD3)遺伝子について解析し、イントロン 3 の IVS3+258T>Cおよび IVS3+258T-435Gのハプロタイプが統合失調症の発症危険因子であることを明らかにした。
- 10) 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。
- 11) Chromogranin B遺伝子の変異検索を行い、新たな変異を多数見出し、ミスセンス変異を含む exon 4 の4つ変異において互いの連鎖不平衡と統合失調症との有意な関連が認められた。さらに統合失調症の臨床症状との関連について検討し、chromogranin Bが錐体外路症状の発現危険性に影響を及ぼす可能性が示唆された。
- 12) 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 ( $p=0.000114$ )。

13) 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。

14) 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 $\epsilon$ 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C 38340A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 $\epsilon$  遺伝子の自殺への関与の可能性が示唆された。

15) 統合失調症不一致一卵性双生児のリンパ球芽化細胞を用いてビーズアレイを用いた遺伝子発現解析を行い、罹患者ではprofilin 1遺伝子の発現低下とAPOL1遺伝子の発現増強があることを見出した。この知見はリアルタイムPCR法によっても確認され、統合失調症の発病機転に関与する可能性が示唆された。

16) 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。

17) 本研究により全分担研究施設において、非常に多数のゲノムDNAの収集がなされた。これは、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。

以上の成果から、dysbindin、BDNF、p75<sup>NTR</sup>、chimerin 2、GMIP、BCR、5-HTR4、5-HTT、AKT1、DRPO-2、FZD-3、GABRA5、chromogranin A、chromogranin B、COMT、14-3-3 $\epsilon$ 、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、一部は機能解析も行った。今後、独立のサンプルによる関連の確認を行い、さらに詳細な機能解析を行うことによって、病態メカニズムを解明し、新しい診断・治療法の開発につながることを期待される。

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から採血し、DNAサンプルを多数収集した。また、症例について自殺未遂歴に関する情報を得た。

#### 倫理的配慮

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（資料1参照）。

遺伝子機能解析を行う場合の動物実験に際しては、研究機関の倫理委員会の審査を経て行っており、苦痛を最小限にするなど動物愛護の精神に則り必要な処置を講じた。

### 2. Dysbindinの統合失調症におけるハプロタイプ解析と細胞生物学的機能解析 (担当：功刀)

欧米の先行研究によって統合失調症の感受性遺伝子である可能性が示唆されていた *dysbindin* について、日本人のサンプルを

用いて検討した。5つの SNPs について TaqMan 法によって遺伝子型を決定し、ハプロタイプ解析をおこなったところ、有意な強い関連が見出され、リスクハプロタイプを同定した。ところが、*dysbindin* が神経系においてどのような機能をもっているかについては殆ど知られていなかった。そこで、ラット初代培養による大脳皮質ニューロン系において *dysbindin* を過剰発現あるいは RNA 干渉によってノックダウンさせ、プレシナプス分子への影響、グルタミン酸放出量の変化、神経細胞死への影響などについて機能解析を行った。

### 3. 脳由来神経栄養因子(BDNF)やその受容体と気分障害との関連 (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、ニューロトロフィンの1つである BDNF 遺伝子やニューロトロフィン共通の低親和性受容体 p75<sup>NTR</sup> と双極性障害やうつ病との関連について検討した。

#### 3.1. BDNF 遺伝子と双極性障害

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 (Kunugi et al, 2004)。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。

### 3.2. p75<sup>NTR</sup>遺伝子変異とうつ病・自殺行動

ニューロトロフィン・ファミリー(NGF、BDNF、NT-3など)の共通の低親和性受容体であるp75<sup>NTR</sup>におけるミスセンス変異(S205L)と大うつ病との関連について症例-対照研究によって統計的に検証した。さらに、うつ病者の自殺企図歴を調査し、自殺行動との関連についても検討した。

### 4. Rho GTPase 活性化タンパク関連分子の検討(分担: 功刀)

近年の脳画像研究によれば、機能性精神疾患では種々の脳構造の異常が存在することが示唆されている。したがって、脳の発達や可塑性などにおいて重要な役割を果たす遺伝子の変異は、統合失調症や気分障害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。本研究では、GTPase 活性化タンパクに関与する遺伝子について検討した。

#### 4.1. Chimerin 2 遺伝子と統合失調症

脳で豊富に発現している chimerin 2 遺伝子について、SNPのデータベース上登録されているミスセンス変異 H204R と統合失調症との関連について検討した。

#### 4.2. Gem interacting protein とうつ病

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。GMIPとうつ病との関連について164名の大うつ病患者とそれにマッチした健常者を対象に検討した。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。

#### 4.3. Breakpoint cluster region (BCR) と双極性障害

以前より統合失調症や躁うつ病の遺伝子座が存在することが示唆されている染色体22q11上にあるBCR (breakpoint cluster region) 遺伝子のミスセンス変異(Asn796Ser)が双極性障害と関連するか否かについて検討した。

### 5. セロトニン系の検討(分担: 尾崎)

自殺の病因としてはセロトニン(5-HT)系



の異常が重要視されている。そこで、セロトニン神経系を制御する遺伝子について変異検索を行い、精神疾患との関連を検討した。

#### 5.1. セロトニン4受容体(HTR4)と統合失調症・覚醒剤使用障害

HTR4遺伝子に関し、DHPLC法を用いた変異解析と統合失調症・覚醒剤使用障害とのハプロタイプ解析を含む関連解析を行った。

#### 5.2. 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

SSRIなど抗うつ薬の標的タンパクであるセロトニントランスポーター(5HTT、または、SLC6A4)遺伝子の変異検索を行い、稀な変異が見出された家系について詳細に検討した。また、SLC6A4遺伝子の連鎖不平衡マッピングを行い、日本人統合失調症を対象としてハプロタイプ解析を行った。

#### 6. 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-GSK3 $\beta$ 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てい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。

#### 7. 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：氏家)

平成14年に覚醒剤精神病および統合失調症の動物モデルでの研究を行った結果、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、本研究では、神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる分子、dihydropyrimidinase-related protein 2 と frizzled-3 遺伝子の SNPs について、統合失調症、双極性障害、覚醒剤精神病との関連について解析した。

#### 8. Fatty acid amide hydrolase および GABA<sub>A</sub> 受容体 $\alpha$ 5サブユニット遺伝子に関する研究 (分担：氏家)

Fatty acid amide hydrolase (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<sub>A</sub> 受容体 $\alpha$ 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。

## 9. Chromogranin の解析 (分担：稲田)

### 9.1. Chromogranin B 遺伝子の解析

Chromogranin B 遺伝子の変異スクリーニングを行い、それぞれの SNP と統合失調症との関連について統計的に検討した。さらに、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。検討した臨床症状は、遅発性ジスキネジア、急性錐体外路症状、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。

### 9.2. Chromogranin A 遺伝子の解析

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。

## 10. 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 $\epsilon$  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。

## 11. 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。まずビーズマイクロアレイ法によって罹患双生児と非罹患児の芽球

化細胞について遺伝子発現を比較した。その結果、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ため、その所見についてリアルタイムPCR法によってさらに確認した。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。

## 12. 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た。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、この疾患に関して

は国内外でも最大のジーンバンクとなった(218名の患者サンプルを収集)。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. Dysbindinの統合失調症におけるハプロタイプ解析と細胞生物学的機能解析（分担：功刀）

Dysbindinについて、日本人の670人の統合失調症患者群と588人の健常者のサンプルを用いて検討した。5つのSNPsについてTaqMan法によって遺伝子型を決定したところ、1つのSNPについて、有意な関連( $p=0.022$ )を認めた。さらにpermutation法によるハプロタイプ解析をおこなったところ、有意な関連が見出され( $p=0.0004$ )、リスクハプロタイプを同定した。

そこで、ラット初代培養による大脳皮質ニューロン系においてdysbindinを強制発現、あるいはRNA干渉によってノックダウンさせ、プレシナプス分子への影響、グルタミン酸放出量の変化、神経細胞死への影響などをみた。その結果、dysbindinの強制発現によりグルタミン酸の放出の増加と、SNAP25やシナプシン1などのプレシナプス分子の発現の増加が認められた。また、神経細胞の基本的な機能である生存度にお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。またdysbindinの強制発現によりAktのリン酸化が増加することからdysbindinはPI3K-Aktシグナルを介して神経細胞保護

作用を持つ可能性が示唆された。さらに dysbindin を RNA 干渉によってノックダウンさせたところ、上記の作用とは逆の作用が観察された。以上の dysbindin の作用は統合失調症のグルタミン酸機能低下仮説に合致しており、発症メカニズムに重要な役割を果たしていることが示唆された。

### 3. 脳由来神経栄養因子(BDNF)やその受容体と気分障害との関連 (分担: 功刀)

#### 3.1. BDNF 遺伝子と双極性障害

BDNFの繰り返し配列について詳細に検討したところ、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。

#### 3.2. ニューロトロフィン低親和性受容体 p75<sup>NTR</sup> 遺伝子変異とうつ病・自殺行動との関連

ニューロトロフィン・ファミリーの共通の低親和性受容体である p75<sup>NTR</sup> におけるミスセンス変異(S205L)と大うつ病との関連について症例一対照研究によって統計的に検討した。その結果、このミスセンス変異が大うつ病や自殺行動と有意に関連することを見出した(p<0.05)。L205 アレルは、コントロール群と比較して、うつ病患者、なかでも自殺企図歴を有する者には少なく、このアレルがうつ病発症や自殺行動に対して防禦効果をもつ可能性が示唆された。

### 4. Rho GTPase 活性化タンパク関連分子の検討 (分担: 功刀)

#### 4.1. chimerin 2 遺伝子と統合失調症

Rho GTPase 活性化タンパクである chimerin 2 をコードする遺伝子の H204R ミスセンス多型について、統合失調症との関連解析を行ったところ、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の間で有意に異なるが (p<0.05)、女性ではその違いは認められなかった。すなわち、男性において R204 アレルは、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)。以上から、chimerin 2 遺伝子の R204 アレルは、男性の統合失調症の脆弱性を高める可能性が示唆された。

#### 4.2. Gem interacting protein とうつ病

-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症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症危険性を高める可能性が示唆された。

#### 4.3. Breakpoint cluster region (BCR) と双極性障害

BCR 遺伝子のミスセンス多型(Asn796Ser)の変異型アレル(796Ser)が双極性障害特に双極 II 型障害と有意に関連しており、発症脆弱性を与える可能性が示唆された。

### 5. セロトニン系の検討 (分担: 尾崎)

#### 5.1. セロトニン 4 受容体(HTR4)と統合失調症・覚醒剤使用障害

HTR4 遺伝子に関し、DHPLC法を用いた変異解析と統合失調症・覚醒剤使用障害とのハプロタイプ解析を含む関連解析を行い、有意な関連を認めた。

#### 5.2. 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

SSRIなど抗うつ薬の標的タンパクである5HTT遺伝子(SLC6A4)の変異検索を行い、精神障害との関連を検討した。その結果、機能的変化をもたらす稀なアミノ酸置換Ile425Valを同定した(白人家系)。Valを有する個体は難治性・家族性強迫性障害があり、同時にこの遺伝子のプロモーター領域にあり、転写活性に影響を与えるとされる5HTTLPRにおいてはLL型であった。

一方、SLC6A4遺伝子の連鎖不平衡マッピングを行い、ハプロタイプ解析を行ったが、日本人統合失調症との有意な関連は認められなかった。

#### 6. 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。

## 7. 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: 氏家)

氏家らは、神経突起の伸長や軸索のガイダンスに関わる、dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRPO-2)と frizzled-3 遺伝子について、それぞれ複数の SNPs をマーカーとして、統合失調症、双極性障害、覚醒剤精神病を対象に解析した。その結果、DRPO-2 の 3 非翻訳部分の \*2236 T>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。

## 8. Fatty acid amide hydrolase および GABA<sub>A</sub> 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、GABRA5 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。

## 9. Chromogranin の解析 (分担: 稲田)

### 9.1. Chromogranin B 遺伝子の解析

Chromogranin B 遺伝子の変異スクリーニングを行った結果、22 の多型を同定した。A353G ミスセンス多型に関する対立遺伝子頻度は患者群とコントロール群との間で高度に有意に異なっていた (修正  $p < 0.0001$ )。この結果は、chromogranin B 遺伝子が統合失調症の感受性遺伝子である可能性を示唆する。さらに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 の 3 つの SNPs において有意差が認められた。また、若年発症群 48 名についてもこれら 3 つの SNPs 全てにおいて有意差が認められた。以上から、chromogranin B 遺伝子の変異は、統合失調症において錐体外路系副作用の出現などに関する脆弱性を規定する要因である可能性などが示唆された。

### 9.2 Chromogranin A 遺伝子の解析

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。

#### 10. 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)。

#### 11. 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)

一卵性双生児発症不一致例を対象とした遺伝子発現差異の解析では、健常双生児、統合失調症不一致一卵性双生児共に、相手と比較して発現が増加または低下している遺伝子をソートしたところ、約 300 個程度のクローンが得られた。このうち 3 クローン以上の出現を再現性ありとし、健常 MZ で発現増強や低下がない遺伝子を抽出した。発現低下 4 遺伝子、増強 14 遺伝子が得られ、ノイズや不確実な物を除外したところ、profilin 1 遺伝子発現低下と APOL1 発現増強が認められた。この所見についてリアルタイム PCR 法によって確認したところ、Profilin 1 遺伝子については、対照双生児間では差がなかったが、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なかったが、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、ビーズアレイでの所見を支持するものである。

#### 12. 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. 考 察

以上のように、遺伝子解析研究や遺伝子発現解析によって、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、Dysbindin (統合失調症)、BDNF (双極性障害との関連)、p75<sup>NTR</sup> (うつ病、自殺企図)、chimerin 2 (男性統合失調症)、GMIP (うつ病)、BCR (双極性障害)、HTR4 (統合失調症、覚醒剤使用障害)、SLC6A4 (強迫性障害)、AKT1 (統合失調症、覚醒剤使用障害)、DRPO-2 (統合失調症)、FZD3 (統合失調症)、GABRA5 (双極性 I 型障害)、chromogranin B (統合失調症)、chromogranin A (統合失調症)、COMT (自殺既遂)、14-3-3 $\epsilon$  (自殺既遂)、profilin 1 (統合失調症)、APOL1 (統合失調症)、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。

Dysbindinについては、欧米だけでなく、わが国のが統合失調症でも関連が確認されたことから、感受性遺伝子である可能性が強く示唆される。培養細胞における過剰発現やノックダウンによる機能解析においても、グルタミン酸の放出の増加や、PI3K-Aktシグナルを介して神経細胞保護作用を持つ可能性が示唆された。これは、dysbindin遺伝子の機能的変異によって loss of functionが生じ、グルタミン酸系の機能低下および細胞保護作用の低下が生じている可能性を示唆する。これは、統合失調症のグルタミン酸機能低下仮説に合致する所見である。今後さらに詳細な機能解析を行うことで、統合失調症の病態発生メカニズムの解明、創薬標的分子の同定などに発展することが期待できる。

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变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。

上記のようにBDNFが双極性障害と関連するだけでなく、ニューロトロフィン共通の低親和性受容体 p75<sup>NTR</sup>のアミノ酸置換(S205L)を伴う変異がうつ病や自殺企図と関



連することが示唆された点は注目される。このアミノ酸置換はシグナル伝達を変化させる可能性があり、今後、培養神経細胞などを用いて機能解析を進めることにより、うつ病の病態メカニズムの解明につながることを期待される。

RhoGTPase 活性化タンパクに関連する遺伝子と精神疾患との関連では、chimerin 2 と男性統合失調症、GMIP とうつ病、BCR と双極性障害との関連がみられた。これらの関連を報告したのは、われわれが世界で最初であり、別のサンプルによって関連が確認される必要がある。Chimerin 2 と BCR の多型はアミノ酸置換を伴う多型であり、機能的多型である可能性が十分考えられ、このアミノ酸置換がどのような機能変化を与えるかについて今後、検討していく必要がある。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、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。今後さらに発症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<sub>A</sub> 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、 $\alpha 1$  サブユニット (GABRA1) 遺伝子が気分障害と関連する、 $\alpha 3$  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<sub>A</sub> 受容体に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<sub>A</sub> 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 B 遺伝子に新奇多型を見出し、ミスセンス多型が統合失調症と強く関連することを見出した点は注目される。今後、ミスセンス多型による遺伝子機能変化を調べることで、統合失調症発症脆弱性の分子メカニズムを明らかにする知見が得られる可能性がある。さらに、chromogranin B 遺伝子の変異は錐体外路系副作用の出現などと関連していることも明らかになった。この知見が他のサンプルでも確認されれば、この遺伝子の遺伝子型を決定することによって抗精神病薬の合理

的な選択を行うことができる可能性を示唆し、いわゆるオーダーメイド医療として臨床に応用可能である。

Chromogranin A 遺伝子多型と統合失調症との関連は、上記の 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。14-3-3ε 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。

## E. 結 論

統合失調症、うつ病、双極性障害、自殺行動、覚醒剤精神病などと関連する遺伝子多型を多数見出した。統合失調症の感受性遺伝子dysbindinについては機能解析も行い、病態仮説と合致する機能をもつことを示した。これは統合失調症の新たな治療法の開発を行う上で重要な知見であり、今後は、本知見に基づいた治療法の開発を進める必要がある。また、BDNFの多型と双極性障害との関連についても非常に強いエビデンスを得ており、病態メカニズムの一部を解明したと考えられる。他の感受性遺伝子である可能性が示唆された遺伝子については、精神疾患や自殺行動との関連をさらに確認すると共に、機能解析を進めることによって新しい診断・治療法の開発を行

う必要がある。

## 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 R, Yoshida M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H: Association analysis of the -308G > A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene in Japanese patients with schizophrenia. *J Neural Transm* 111: 217-221, 2004.
- 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, Nakamura A, Iijima Y: Relationship between catechol-O-methyltransferase polymorphism and treatment-resistant schizophrenia. *Am J Med Genet* 120B: 35-39, 2003.
- Inada T, Senoo H, Iijima Y, Yamauchi T, Yagi G: Cytochrome P450 II D6 gene polymorphisms and the neuroleptic-induced extrapyramidal symptoms in Japanese schizophrenic patients. *Psychiatr Genet* 13: 163-168, 2003.
- 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)<sub>n</sub> polymorphism in the GRIN2A promoter with Japanese schizophrenia. *Neurosci Lett*, in press.
- Japanese schizophrenia sib-pair linkage group (JSSLG): 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.
- 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 disorder. *Nat Genet* 35: 171-175, 2003.
- 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  $\alpha$ -Synuclein Gene Polymorphism and Methamphetamine Psychosis/Dependence. *Ann N Y Acad Sci.*; 1025: 325-334, 2004.
- Kockelkorn TT, Arai M, Matsumoto H, Fukuda