

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

双生児法による
脳とこころの発達過程及び精神疾患成因の解明
(H14-こころ-011)

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 岡崎祐士

(三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻神経感覚医学講座 精神病態学分野)

平成17(2005)年 4月

目 次

I. 総括研究報告

- 双生児法による脳とこころの発達過程及び精神疾患成因の解明に関する研究 1
岡崎祐士

II. 分担研究報告

1. 精神疾患不一致一卵性双生児におけるMS-RDA法を用いたDNAメチル化
差異の同定 15
加藤忠史
2. 遺伝子発現修飾機構、特にメチレーションなどのエピジェネティックスの差異
の検討 17
陣野吉廣
3. MRI脳画像SPM処理による発達脳部位の同定 19
齋藤 治
4. 双生児における精神発達に伴い構造的・機能的に変化・発達する脳局所の
同定—光トポグラフィ装置を用いた脳機能発達の測定 24
福田正人
5. 脳形態・脳機能発達と関連して発達する心理機能の測定と同定 31
丹野義彦
6. 精神疾患双生児登録の全国的拡大 40
岡崎祐士
7. 健常双生児登録の創設に関する研究 43
 - (1) 地域住民ベースの双生児登録 43
大野 裕
 - (2) 団体ベースの双生児登録 72
大木秀一

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

- 書籍 78
雑誌 78

IV. 研究成果の刊行物・別刷

- 原著 83
総説 181
著書 239

I. 総括研究報告

双生児法による脳とこころの発達過程及び精神疾患成因の解明

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

主任研究者 岡崎祐士 三重大学 大学院医学系研究科 教授

研究要旨

精神疾患の成因として寄与が最も大きい遺伝要因と、精神疾患の病態の座としての脳の形態学的・機能的発達過程の詳細及び精神疾患患者におけるその発達の偏りを双生児法によって明らかにしようとするものである。疾患関連遺伝子研究は通常、連鎖・関連研究によって行われるが、多因子性 common disease としての精神疾患の遺伝子研究は、民族差や家系差、遺伝的異質性の存在が現実視されるため、家系の個別性に応える研究方法でなければならない。

その要請に応える研究戦略として主任研究者らが工夫した方法は、遺伝的背景が同一の一卵性双生児を対象に、ゲノム・遺伝子解析技術や精密な脳画像解析技術を適用する方法である。具体的には一卵性双生児精神疾患不一致例において遺伝子発現の差異とゲノムの差異を見出し、精神疾患罹患と非罹患に関連する遺伝子発現と遺伝子発現修飾機構の差異を同定する。また、一卵性双生児(2人の双生児間差異は標準分散の範囲と見なせる)と健常者における小児期から成人前期までの脳形態(MRI)・機能(NIRS)の発達過程を解明し、同時期の精神疾患患者の脳発達に偏りがあるかを解明しようとするものである。この過程を通じて、また独自に精神疾患及び健常双生児登録の拡大・創設を目指す。この双生児登録は精神保健、母子保健、人類遺伝学等幅広い研究支援条件となる。対象疾患は統合失調症、双極性障害、自閉症の他、パニック障害、あるいは摂食障害、ナルコレプシーをも視野においている。従って本研究は、主な精神疾患の成因と病態解明による治療法(薬)開発のヒント、疾患への予防的介入の時期(年齢)、子どもから思春期を経て大人に至る脳とこころの発達過程、精神保健諸施策の研究支援条件などの貴重な情報を提供するものである。

平成16年度は、昨年度報告した一卵性双生児の双極性障害や統合失調症の不一致例において遺伝子発現差異やゲノム差異が生じる原因としてメチル化の関与の可能性を検討した。また、昨年度までに技術的準備を完了した脳の形態と機能の発達経過解明について、まだ対象数は少ないながら双生児を対象として計測した。「精神疾患双生児全国共同研究」(27 大学3研究機関)では対象双生児の発見を追加した。健常双生児登録については、慶應双生児プロジェクトのような地域住民ベースの登録と団体ベースの登録があることを示し、前者の拡大及び後者の創設可能性を明らかにした。

分担研究者

加藤忠史 理化学研究所脳科学総合研究センター・
チームリーダー

陣野吉廣 琉球大学大学院医学研究科・教授

斎藤 治 国立精神神経センター・武蔵病院・部長

福田正人 群馬大学大学院医学系研究科・助教授

丹野義彦 東京大学大学院総合文化研究科・助教授

大野 裕 慶應義塾大学保健管理センター・教授

大木秀一 石川県立看護大学・助教授

本研究は、精神疾患研究における主要な2つの課題、つまり、精神疾患感受性遺伝子の同定、及び神経発達障害仮説の実体的過程の解明を、自然が与えた実験条件である双生児を対象に、新しい分子遺伝学的手法や精密で無侵襲脳画像法を適用して行おうとするものである。さらに精神疾患と健常双生児の登録を確立して精神疾患及び保健研究、あるいは人類遺伝学的研究リソースの確立を期する。

具体的には、以下の3課題、7研究に具体化した。

課題1. 一卵性双生児表現型不一致例のゲノム解析による疾患感受性遺伝子と不一致を来す遺伝子

A. 研究目的

発現修飾機構の同定

(1) 精神疾患不一致一卵性双生児におけるDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現差異による感受性遺伝子の同定

(2) 一卵性双生児精神疾患不一致例のゲノム差異解析による不一致を来す遺伝子発現修飾機構解明

課題2. 双生児法による発達に伴い変化する脳構造・脳機能の同定

(1) MRI脳画像SPM処理による発達脳部位の同定

(2) 光トポグラフィー装置を用いた脳機能発達の測定

(3) 脳形態・脳機能発達と関連して発達する心理機能の測定と同定

課題3. 研究リソースとしての精神疾患双生児及び

健常双生児登録の拡充・創設

(1) 精神疾患双生児登録の全国的拡大

(2) 健常双生児登録の創設に関する研究

1) 地域住民ベースの双生児登録

2) 団体ベースの双生児登録

課題3は独自の研究課題であるが、登録される双生児の発見によって、課題1及び2の対象となるという相互に促進し合う関係にある。

これらの研究は以下のように構成されている。対象疾患は、統合失調症、双極性障害、自閉症、パニック障害の他、ナルコレプシー、あるいは摂食障害である。

課題1では、成因の遺伝的側面について、一卵性双生児精神疾患不一致例の罹患双生児と非罹患双生児間の遺伝子発現差異(研究1)から、罹患または非罹患に関連する遺伝子を同定する、またゲノムの差異(研究2)から遺伝子発現差異に影響を与えるゲノム内メカニズム(メチル化など)を探るというアプローチである。この課題によって関連候補遺伝子及び発現修飾機構が解明できれば、その分子病態をターゲットにした新たな治療法や治療薬の開発、及び予防的介入の方法も創出されるかも知れない。統合失調症、双極性障害などの精神病は、自殺率も高く人類に与える損失(障害・期間または経済的損失)がいずれも全疾患中10位以内に数えられている。人類に与える損失で同じく10位以内にランクされているうつ病も、双極性障害(うつ病相と躁病相を有する)の成因解明によってその解明も進むと考えられる。パニック障害と摂食障害は、統合失調症、双極性障害の2倍以上の罹病危険率と推定され、思春期から成年期の若年層を中心に急増している疾

患であり、その解明の社会的意義は極めて大きい。自閉症、ナルコレプシーの頻度は前者に比して1オーダー低い、全汎性発達障害と睡眠障害の代表的疾患であり、その遺伝的側面解明の社会的意義は大きい。

課題2は、統合失調症、双極性障害、パニック障害、自閉症などで判明している脳の構造的(研究1)・機能的(研究2)な異常が、個体発生過程のいつ頃明らかになるのかを同定しようとするものである。この2つの研究は、精神疾患の客観的な診断基準(脳画像による)の開発という副産物が期待できる。また逆にそのような脳の変化に伴って心理機能はどのように展開するのか(研究3)を明らかにする。例えば統合失調症では、発症時には既に脳構造の異常が程度の差こそあれ存在し、発症後軽度進行するらしいことが判明している。しかし個体発生にいつ頃に変化が生じるのかは分かっていない。これが分かれば、社会心理的介入、あるいは将来の薬物等による安全な介入の時期が明らかに出来る可能性がある。また脳の形態学的・機能的発達過程の基礎データが作成出来れば、思春期の「切れる」ここと脳発達の何らかの問題が関与しているのかを検討できるようになる。

課題3は、課題1、2の対象リクルートの役割があるが、独自に研究1(精神疾患双生児登録)では、世界最大サンプル数の統合失調症双生児の発見を目指している。そのような大きなサンプルで、今まで検討されてきた診断一致率、出生順位効果、周産期障害の罹患への影響、胎盤(羊膜・絨毛膜)状態の影響などを検討できる。精神疾患のリスクファクターの同定や予防策、周産期保健、多胎児保健施策等に有益な情報を提供する。健常双生児登録の創設(研究2)は、先進国及びアジア主要国としては双生児登録を持たない唯一の国である日本にとって、人類遺伝学上、母子保健施策上、及び一般保健施策上必須の課題である。大きな双生児登録があると、あらゆる疾患の双生児診断一致率が算出でき、その疾患の遺伝因と非遺伝因の関与の相対的大きさが分かる。また健常一卵性双生児間の発達の差異は、ヒトの個体発達における固有分散に近似できると考えられる。このように課題3は、保健施策や保健行政上の有益な情報を生み出す可能性がある。

B. 研究方法

各課題・各研究は以下のような独自開発及び既存の

方法を双生児という人類に与えられた実験的機会に適用して、精神疾患の発症に至る仕組みを解明して、治療と予防法を開発し、保健施策に有用な情報を得ようとするものである。

課題1

研究1:本年度は、DNAメチル化または配列に差異のある遺伝子を探索するため、Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA)法を用いて、一卵性双生児双極性障害不一致例の双生児間におけるDNAメチル化の差異を検索した。DNAメチル化状態が異なることの再確認には、bisulfiteシーケンス法により確認した。

研究2:本年度は、統合失調症へのエピジェネティクス、とくにメチル化の成因への関与を検討するために、末梢血白血球DNAに含まれるメチル化シトシン(mC)総量(mC含量)を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定し、患者-対照間の比較を行った。

課題2.

研究1:脳のマクロ形態学的変化を見るために3次元脳構造画像(3D-MRI)を年齢群間でSPM(statistical parametric mapping)処理を行い、変化部位を同定する。加えて拡散テンソルイメージングDTI(Diffusion Tensor Imaging)によって神経線維路の発達過程を解析した。

研究2:頭部用の多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーnear infrared spectroscopy(NIRS)を用いるが、この技術や装置はもっぱらわが国で開発され、世界をリードしている極めて安全で、時間解像度にすぐれた画像装置である。本研究では、主に前頭葉・側頭葉に焦点を当てその機能発達を測定する。

研究3:特別の技術は用いないが、個体の発達を脳の形態・機能の発達に関連づけた心理機能発達の変化は意外に解析されていない。

課題3.

研究1:統合失調症をはじめとする精神疾患双生児登録を、全国共同研究組織によって発見し、予め定めた共同研究テーマのみを全国的合算し、その結果を発表公表する手続きを行う。発見の方法は精神科医療・保健施設ベースである。

研究2:健常双生児登録の創設は、その意義に関する啓発と理解が必要である。本年度は既に地域住民ベースの双生児標本の研究の実績がある慶應双生児

プロジェクトの参加を得て、その経験を生かすことにした。一方団体ベースの双生児登録確立のために、平成15年度に引き続き、親の会及び東京大学付属中高校入学・卒業生データベースの代表性アクセス可能性を検討した。

(倫理面への配慮)

課題1は通常の診療で行われるのと同程度の量の末梢血採血という資料提供、遺伝子発現やゲノム差異解析から遺伝子多型の特定や相関研究にわたる場合があり、課題2は無侵襲ではあるがMRIとNIRS検査に協力をいただく。課題3も含めて健常者及び精神疾患に罹患している方の個人情報医学的診断情報あるいは上記検査情報と共に研究者によって把握される。従って、その情報の漏洩による心理的社会的不利益を引き起こす可能性があり、厳重なプライバシーの保護が必要である。本研究は上記のように遺伝子解析研究に及ぶ可能性がある研究であり、全経過を通じて、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)、遺伝子治療臨床研究に関する指針(平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号)、疫学研究に関する倫理指針(平成14年文部科学省・厚生労働省告示第2号)、臨床研究に関する倫理指針(平成15年厚生労働省告示第255号)に従って、主任研究者の所属施設(三重大学医学部研究倫理委員会平成15年6月6日付け)の承認を受けており、分担研究者、研究協力者の施設においても15年度中に承認を受け、次いで各研究者の所属する施設の倫理審査委員会において承認を受けて進めた。研究協力者・資料提供者の「参加は自発的なものに限り、協力はいつでもどの段階でも撤回が出来、断っても何ら差別や不利益がない」原則にのっとり、文書による説明と同意により進めた。個人情報と資料及び検査結果は連結可能保存されるが、各研究施設の個人情報管理責任者のもとに厳重に管理されている。

C. 研究結果

各課題・研究毎の平成16年度の研究結果は以下の如くである。

課題1. 一卵性双生児表現型不一致例のゲノム解析による疾患感受性遺伝子と不一致を来す遺伝子発現修飾機構の同定

研究1:精神疾患不一致一卵性双生児におけるDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現差異による感受性遺伝子の同定

<研究結果>

一卵性双生児双極性障害不一致例の培養リンパ芽球様細胞における遺伝子発現解析により、双極性障害患者でXBP1およびGRP78という、小胞体ストレス経路の遺伝子の発現が低下していることを見出した。しかし、これらの遺伝子にはDNA配列、DNAメチル化に異常は見られなかった。そこで、これらのうち1ペアにおいて、DNAメチル化または配列に差異のある遺伝子を探索するため、Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA)法を用いて、一卵性双生児双極性障害不一致例間におけるDNAメチル化差異を検索した。対象は、XBP1を発見した双極性不一致一卵性双生児の1ペア(49歳 男性)である。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。細胞よりDNAを抽出し、MS-RDA法により、両者の間でDNAメチル化の差異が見られるゲノム領域を探索した。得られた92クローンのうち、少なくとも2つの遺伝子については、DNAメチル化状態が異なることがbisulfiteシーケンス法により確認できた。これら2つの遺伝子のDNAメチル化異常が、双極性障害の危険因子になる可能性が示唆された。これらの遺伝子の病態生理学的意義について、今後更に検討を進める予定である。

なお、一卵性双生児統合失調症不一致例のリンパ芽球における遺伝子発現の差異をビーズアレイ法(TAKARA)により解析し、Profilin1遺伝子の発現低下、Apolipo-protein L1遺伝子の発現増大を見出した(岡崎、加藤)。RT-PCRにより両遺伝子発現量を確認したところ、アレイ法の所見を支持する結果であった。同じペアのGeneChipによる解析、及び他の統合失調症不一致例のビーズアレイによる発現解析を実行中である。

研究2:一卵性双生児精神疾患不一致例のゲノム差異

解析による不一致を来す遺伝子発現修飾機構解明

<研究結果>

陣野らは健常成人で末梢血白血球のメチル化シトシン(mC)含量に性差が存在すること(女性<男性)(Fuke et al. Ann Hum Genet 2004)、統合失調症男性患者では健常男性と比べmC含量が低いこと(論文準備中)を見いだしているが、この差が薬物による二

次的結果の反映ではないことを検証することが16年度の主な目的となった。

ラット(SDラット、8週齢)を用いて、ハロペリドール投与群とプラセボ投与群の2群(各群10匹)に分けてmC含量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定し比較した。性差に関しては、プラセボ群の白血球DNAで雄 3.843 ± 0.042 、雌 3.771 ± 0.048 と雌が有意に低値であった($p = 0.005$)。これはヒトの結果と一致する。ただし、脳と肝臓では性差がなかった。雄ラット白血球DNAのmC含量の平均値及び標準偏差値は、ハロペリドール群 3.817 ± 0.039 、プラセボ群 3.843 ± 0.042 で、ハロペリドール群が低値を示したが、有意な差ではなかった($p = 0.212$)。雌ではハロペリドール群が高い傾向を示した(3.812 ± 0.050 vs. 3.771 ± 0.048 ; $p = 0.064$)。脳では、雄雌ともにハロペリドール群が低い値を示し、雌で有意な差が検出された。

この結果は、ハロペリドールの白血球mC含量への影響に性差があった。雄ではハロペリドールの影響はmCに有意な影響はなかったが、雌では高める傾向があった。動物実験の結果をヒトに外挿できるとすると、男性における統合失調症患者の低値は、疾患の影響が大きいと考えられる。女性において患者と対照間に差がなかったのは、ハロペリドールの影響によって患者の低値が覆い隠されたのかもしれない。ただし、脳においてはハロペリドールの効果は、末梢血と違って雌雄共に低値化し、特に雌では有意な影響があった。男性統合失調症患者のmC低値は脳においても同じ結果を示すことが推測されるが、雌における影響を見ると、推測は慎重に考えなければならない。

課題2. 双生児における精神発達に伴い構造的・機能的に変化・発達する脳局所の同定

研究1: MRI脳画像SPM処理による年齢依存性発達・変化部位の同定

<研究結果>

双生児法とMRI脳画像法を組み合わせ、これを小児期・思春期・成人期の各発達段階について検討することで、ヒト脳における各構造の個体発生過程に遺伝と環境のいずれの要因が優位に関与するかを明らかにすることである。

本年度は、研究方法に関して以下の3点について研究を進めた。すなわち、(1)卵性診断について、精度を

高めるために質問紙法にDNAフィンガープリント法を追加、(2)脳画像撮像法について、短時間撮像法により昨年度に続き2組目の5歳ペアの撮像に成功し方法の実用性を再確認、(3)画像解析法として正常データベースに依存しないペア内の直接定量的比較法として subtraction 法を開発。その結果、最終的に一卵性双生児5組(5歳2組、10歳2組、20歳1組)、二卵性双生児1組(15歳1組)、計6組の双生児ペアから資料を得ることができた。3D-MRIによる全脳画像およびDTIによるFAマップの両画像データに対するペア内の subtraction 解析の結果、脳回・脳溝パターン及び脳梁については、ペア内で類似性が高く遺伝的規定性が示唆され、脳室系のうち特に側脳室後角はペア内で相違し、個体差が生じ易いことが示唆された。脳の発達段階に応じた髄鞘化を反映すると期待されるDTIのFAマップについて、年齢の異なるペア間で比較した結果、年齢が長ずるにつれてペア内差違が増加する傾向を認めた。また、研究を通じて、5歳以上のペアに対する無投薬・無拘束下での脳撮像が可能となった。

研究2:光トポグラフィー装置を用いた脳機能発達の測定

<研究結果>

脳とこころの発達過程を解明し、その成果を精神疾患の予防へと生かすためのひとつの手がかりとして、平成16年度は、精神疾患の治療にともなう脳機能の変化を明らかにすることが有用と考えられる。そこで、頭部用の多チャンネル近赤外線スペクトロスコピー(near-infrared spectroscopy NIRS)装置により、精神疾患患者における脳機能の特徴を明らかにし、向精神薬治療にともなうその変化を明らかにすることを目的とした。その結果、(1)前頭葉機能の賦活反応性の特徴を、NIRSにより脳血液量変化の時間経過として捉えられた;(2)うつ病においては前頭葉機能の賦活反応性が低下しており、その所見は精神症状とは関連しなかった;(3)統合失調症においては前頭葉機能の賦活反応性が非効率化しており、その所見は精神症状と相関を示した;(4)うつ病と統合失調症いずれにおいてもNIRS所見は向精神薬の服用量とは相関しなかった。

精神疾患治療にともなう脳機能の変化をNIRSにより捉えることが可能であり、その所見は精神疾患の成因を解明していくうえで有用な所見であること、したがって脳とこころの発達過程を解明し、その成果を精神疾

患の予防へと生かすうえでの有益な示唆を与えることが示された。

研究3:脳形態・脳機能発達と関連して発達する心理機能の測定と同定

<研究結果>

双生児を対象として、発達脳部位と心理機能の対応を調べ、精神疾患の成因解明に寄与することを目的とした。とくに、本分担研究では、脳発達に伴って発達する心理機能や認知機能をどのように測定するかについての方法の開発と確立をめざした。本年度は、13組の健常な双生児(主として一卵性ペア)を対象として検討を加えた。倫理面については、東京大学大学院総合文化研究科「ヒトを対象とした実験研究に関する倫理委員会」の承認を得た。

研究の結果、抑うつ、特性不安、状態不安については、双生児ペアの得点間に有意または有意傾向の相関がみられた。特性不安の方が状態不安よりも高い相関係数を示した。Cloningerら(1993)の開発したTCI(Temperament and Character Inventory)については、気質の合計点の方が、性格の合計点よりも高い相関係数を示した。年齢の効果について、小学生ペアの相関係数、中学生ペアの相関係数、高校生ペアの相関係数、成人の相関係数を比べると、気質の合計点は、年齢が上がるほど相関係数が高くなる傾向が伺えたものの、他の尺度については、年齢による一定の傾向は見られなかった。また、気質の合計点は、年齢が上がるほど相関係数が高くなる傾向が伺えたものの、他の尺度については、年齢による一定の傾向は見られなかった。

課題3. 研究リソースとしての精神疾患双生児及び健常双生児登録の拡充・創設

研究1:精神疾患双生児登録の全国的拡大

<研究結果>

わが国では統合失調症に関して井上英二が1950年代から60年代にかけて発見した一卵性58組、二卵性20組が最大の精神疾患双生児である。岡崎は1990年代に長崎県(人口157万人)で統合失調症双生児一卵性25組、二卵性14組を発見した。本研究はその成果を全国的に拡大しようとするものである。全国的に精神疾患双生児を発見し、疾患診断一致率の他、疾患のリスクファクターや神経心理・脳画像研究などの共同研究の実施も視野に入れて、平成1

4年度に「精神疾患双生児全国共同研究」組織を提唱し発足させた。14年度に28施設の参加を得たが、途中で2施設の交替があり、平成16年12月末日現在、30施設(27大学、3研究施設)の参加を得るに至った。全般的な研究計画について、研究代表者の所属施設(三重大学医学部)研究倫理委員会の承認を得た(平成15年6月6日付)。参加施設において倫理委員会の承認を得た施設から順に、対象発見を開始し登録を拡大してきた。平成17年1月末日現在、昨年度よりも10組増加し、69組の各種精神疾患双生児を発見した。

<双生児全国共同研究>

北海道大学・講師・久住一郎
札幌医科大学・助手・吉田 拓
弘前医科大学・講師・栗林理人
東北大学・教授・曾良一郎
福島県立医大・教授・丹羽真一〇
獨協医科大学・教授・秋山一文
群馬大学・助教授・福田正人
自治医科大学・教授・加藤 敏
理化学研究所・チームリーダー・加藤忠史
国立精神神経センター武蔵病院・部長・斎藤 治
東京医科歯科大学・助教授・松島英介
東邦大学・助教授・中村道子
慶應義塾大学・助手・水野雅文
帝京大学・教授・南光進一郎
東京大学・助教授・佐々木司
パニック障害研究センター・所長・貝谷久宣
横浜市立大学・教授・平安良雄
浜松医科大学・助教授・武井教使
名古屋大学・助教授・稲田俊也
三重大学・教授・岡崎祐士、講師・谷井久志
奈良県立医科大学・教授・岸本年史
京都府立医科大学・教授・福居顕二
大阪大学大学院・助手・紙野晃人
岡山大学・助教授・氏家 寛
香川医科大学・助手・宮武良輔
島根医科大学・助手・宮岡 剛
山口大学・教授・渡辺義文
九州大学・講師・川崎弘詔
大分医科大学・助教授・穂吉條太郎
長崎大学・講師・今村 明

研究2: 健常双生児登録の創設

<研究結果>

(1) 地域住民ベースの双生児登録: 慶應双生児プロジェクトの経験

慶應双生児プロジェクトは、倫理委委員会での研究計画の承認の後、住民台帳を閲覧し、同姓及び生年月日±1日以内のペアのリストを作成し、封書で研究への協力依頼を実施。同意を得たペアにアンケート(双生児か否か、質問紙法による卵性診断、気質・性格質問紙ほか)を行った。現在、登録双生児組数201組、一卵性121組(男性32、女性89)、二卵性80組(男性19、女性36、異性25)である。卵性診断は質問紙と DRD4及び5HTT 多型によって行われている。これは他地区への拡大が可能であり、次年度以降考慮する予定。

(2) 団体ベースの双生児登録

わが国において小児期双生児登録が構築しえた場合にそのサンプリングバイアスの評価を行う方法と基準を検討した。出生体重を指標としたサンプリングバイアス評価の結果、小児期双生児データベースにおいては、正常発育集団データベースでも多胎児の母親の会などの自発的協力者からのデータベースでも、人口動態統計から得られた双生児一般集団の結果と比較的一致し、全体的には不一致例の選択的な脱落は小さいことが確認された。また、正常発育双生児データベースと母親の会データベースを比較した場合、出生時から6歳時までの乳幼児期の身体発育においても大きな差は見られず、乳幼児死亡等による選択バイアスは少ないと考えられた。今回得られた結果および、作成した妊娠週数別出生体重曲線・乳幼児期双生児発育曲線は、今後わが国で健常双生児登録を実現する場合に、そのバイアス評価の基準のひとつとなり得るものである。

D. 考察

課題1: 一卵性双生児精神疾患不一致例の表現型(罹患と非罹患)の差異に対応する遺伝子発現やゲノム内機構の差異を見出そうとする主任研究者らの新しいアプローチは、国際的に多くの研究があるわけではないが、我々の発表に刺激された追試研究も出始めており(Petronis et al, 2003)、XBP1 遺伝子発見の結果を見ても精神疾患感受性遺伝子検索の新しい方法と見なしうるのではないかと考えられる。統合失調症の40歳代ペアについてビーズアレイ法で発現差異を検討し

た。遺伝子発現の差異は多くが免疫グロブリン関係であり、EB ウイルスにより芽球化された細胞における遺伝子再構成の段階を反映していると考えられるが、それ以外の神経伝達関連遺伝子も少なからず見出されており、2つの候補遺伝子 (Profilin1、Apolipoprotein L1) を見いだした。今年度に行った RT-PCR 法によって確かめたところ、前者の低下、後者の増加というアレイ法による結果と同じ遺伝子量の発現増加が確認された。今後、遺伝子の機能や多型検索、関連研究等によってその統合失調症における病態的意義が判明していくであろう。

この双生児の不一致の原因、ひいては双極性障害や統合失調症への罹患に関係する可能性がある要因を検討することが、双生児法から精神疾患の成因に迫る上で必要である。そのために、今年度は、双極性障害不一致例の1組で、MS-DA 法によって双極性障害罹患双生児と非罹患双生児間のメチル化が異なる部位を検索したところ、2つのクローンについてメチル化の差異が発見された。この2つの遺伝子の当該部位は bisulfite シーケンス法でもメチル化が異なっていたので、このメチル化の差異が不一致や片方の双極性罹患に何らかの意義を有している可能性があるかと推測される。引き続きその遺伝子の病態的意義を探っていく必要がある。このような道筋が、研究者らが提案していた双生児法による精神疾患遺伝子のマッピングや成因研究の新しいパラダイムである。

今年度はメチル化が統合失調症の病態に関与しているか否かを、陣野らが検討した。末梢血での知見であるが mC 含量を指標としたときに、統合失調症男性ではメチル化が低下している可能性が示された。抗精神病薬の影響などを慎重に排除しなければならないが、前記双生児法による知見と符合する重要な知見である。今後他の方法も採用して多角的に確認していく予定である。

課題2: 課題2についてはなお対象数が少なく今後の継続的検討が必要であるが、形態学的脳発達研究については、本年度5歳、10歳の各2組と20歳の二卵性双生児1組、及び15歳の二卵性双生児1組の合計6組について 3D-MRI による全脳画像および DTI による FA マップの両画像データに対するペア内の subtraction 解析を行った。その結果、脳回・脳溝パターン及び脳梁は、ペア内での類似性が高いので遺伝的規定性が強く示

唆されたが、脳室系のうち特に側脳室後角においてペア内での差異が大きく、個体差が生じ易いことが示唆された。脳の発達段階に対応する髄鞘化を反映すると期待される DTI の FA マップについては、年齢の異なるペア間で比較した結果、年齢が長ずるにつれてペア内差違が増加する傾向を認めた。神経回路網を反映する髄鞘化が加齢にしたがって増大するとすれば、発達が遅い脳部位の双生児間差異の重要な機序である可能性を想定させる。

機能的発達過程の研究においては、脳とこころの発達過程および精神疾患成因を解明していくうえで、光トポグラフィ装置を用いた脳機能発達の測定が可能で加齢による変化を反映すること、それらの素因規定性と環境依存性を明らかにするうえで双生児法が重要な情報をもたらすことが明らかにされた。本年度は、精神疾患治療にともなう脳機能の変化を NIRS により捉えることが可能であり、その所見は精神疾患の成因を解明していくうえで有用な所見であること、したがって脳とこころの発達過程を解明し、その成果を精神疾患の予防へと生かすうえでの有益な示唆を与えることが示された。

また脳の心理機能の発達については、一卵性ペア11組、二卵性ペア二組についての研究の結果、抑うつ、特性不安、状態不安は、双生児ペア得点に有意または有意傾向の相関がみられたが、特性不安の方が状態不安よりも高い相関係数を示した。気質・性格質問紙TCIについては、気質の合計点が、性格の合計点よりも高い相関係数を示した。年齢の効果は、小学生ペアの相関係数、中学生ペアの相関係数、高校生ペアの相関係数、成人の相関係数を比べると、気質合計点は、年齢が上がるほど相関係数が高くなる傾向が見られた。しかし他の尺度については、年齢による一定の傾向は見られなかった。特性不安や気質がそれぞれ状態不安や性格よりもより素因関連の指標であることが、一卵性と二卵性双生児における検討によって明らかになった。さらにペア数を増やして、発達的变化をより詳細にする必要がある。

課題3: 精神疾患双生児の全国的な登録を目指す研究はわが国では初めてのものである。短期間に上記のような大きな研究組織が立ち上がったことは、貴重な成果であり、研究期間に国際的にも最も大きな標本を確立できる可能性が強くなった。

わが国では精神疾患双生児の登録は、井上英二が

1950-60年代に全国の入院患者から見出した統合失調症双生児一卵性58組、二卵性20組が最高である。分担研究者が長崎で見出した一卵性25組、二卵性14組がそれに次ぐ。今回確立した共同研究組織は世界的にも例がない多数の施設からなる施設であり(平成16年度には研究者の異動などにより3施設が減少、他の3施設が参加し、昨年度と同じ30施設)、背景人口は数千万人に及ぶので、長崎県(157万人)から推算すると極めて大きな標本を発見できる条件がある。平成16年度には新たな精神疾患双生児が10組追加され69組(一卵性61組、二卵性8組)となった。さらに発見を加速して世界最大の精神疾患双生児登録に発展させる予定である。

健常双生児登録の創出は困難も幾つかあるが、この間の検討で、地域住民ベースの登録と団体ベースの登録というアプローチがあることを明らかにできた。小規模ながら前者の方法で慶應双生児プロジェクトは一種の登録を経験しており、この方法の全国的な拡大が一つのアプローチである。また、双生児親の会や、東大附属中学・高校など既存組織との協力による登録の確立の可能性も検討できた。

E. 結論

以上のように、研究計画に沿ってほぼ順調に研究が進捗したが、しており、何よりも課題2における双生児被検者のリクルートの困難が制約条件となった。これは課題3の登録の確立と課題2の連携・リンクを当初想定が、それが簡単ではなかったことが一因である。実際の研究計画では、倫理的な配慮を十分に尊重し、課題3と課題2を機械的にリンクするようなことをせず、それぞれが独立に被検者や双生児登録にアクセスしたので、現時点では対象数が小さいが、この課題を継続することにより、脳の構造と機能の発達の詳細の解明と大きな双生児登録が創設されることが十分期待できる。思春期の切れるころと精神疾患の発症過程の脳的基盤の解明は遠くない。課題1で得られつつある成果は、主任研究者らが提唱する一卵性双生児不一致法の有効性を強く示唆するものと言えよう。メチル化などエピジェネティックスの一卵性双生児不一致及び精神疾患罹患の成因である可能性も強まった。この方法は、ヒトゲノムの転写・翻訳機構におけるRNAの役割など、新しい過程が解明されているが、そのような機構

の異常の関与を解明していく上でも有力な方法であろう。双極性障害のみでなく、統合失調症、自閉症等についてもブレークスルーが期待される。

本研究の成果が臨床や保健行政施策に応用されるのは一見遠いように見えるが、課題1の成果は新しい薬物の開発、課題2の成果は治療・予防的介入の時点や新しい方法の開発、課題3はその研究・開発の支援に直結するものとなろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表(下線は主任・分担研究者及び研究協力者)

Kakiuchi C, Kato T (2005) Lithium response and -116C/G polymorphism of XBP1 in Japanese patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 8:1-2

Kakiuchi C, Ishiwata M, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Kato T (2004) Association of the XBP1-116C/G polymorphism with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 58: 438-440.

Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T (2004) Lack of association between XBP1 genotype and calcium signaling in the platelets of healthy subjects. *Neurosci Lett*. 369: 1-3.

加藤忠史, 垣内千尋(2004) 小胞体ストレス反応と躁うつ病. *蛋白質核酸酵素* 49: 7: 1133-1134.

加藤忠史, 垣内千尋(2004) 一卵性双生児躁うつ病不一致例における DNA マイクロアレイ解析. *細胞工学* 23: 429-432

垣内千尋, 加藤忠史 (2004) 躁うつ病と小胞体ストレス反応関連遺伝子 XBP1 *Bio Medical Quick Review Net* 4004:1-5

加藤忠史(2004) 精神疾患における DNA メチル化の意義. *精神科* 4: 118-122

垣内千尋, 加藤忠史(2004) 双極性障害の分子遺伝学的メカニズム. *精神科* 4: 287-291

加藤忠史 (2004) 分子生物学からみたうつ病 *CLINICAL NEUROSCIENCE* 22:2:151-153

- 加藤忠史(2004) 双極性障害の分子遺伝学. 神経研究の進歩 48: 789-797
- 加藤忠史、岩本和也(2004) 精神疾患における遺伝子発現研究—DNA から RNA へ. 精神神経学雑誌 106:49-52
- 加藤忠史(2005) 双極性障害の病因仮説とそれに基づく新しい治療 臨床精神薬理 8:3:289-296
- 加藤忠史(2005) 遺伝子・分子生物学からみたうつ病 臨床看護 31:1:55-58
- 福田正人, 上原徹, 井田逸朗, 三國雅彦(2004) うつ病の脳画像, 近赤外線検査. Clinical Neuroscience 22:161-165.
- Suto T, Fukuda M, Ito M, Uehara T, Mikuni M (2004) Multichannel near-infrared spectroscopy in depression and schizophrenia: cognitive brain activation study. *Biol Psychiatry* 55:501-511.
- Kameyama M, Fukuda M, Uehara T, Mikuni M (2004) Sex and Age Dependencies of Cerebral Blood Volume Changes during Cognitive Activation: A Multichannel Near-Infrared Spectroscopy Study. *NeuroImage* 22:1715-1721..
- 福田正人, 亀山正樹, 山岸裕, 上原徹, 伊藤誠, 須藤友博, 井田逸朗, 三國雅彦(2004) 精神疾患の生理学における NIRS の意義. 臨床精神医学 33:787-798.
- 福田正人(2004) うつ病の新しい脳画像—近赤外線スペクトロスコピー(NIRS). Bulletin of Depression and Anxiety 2:8-12.
- 福田正人, 亀山正樹, 山岸裕, 上原徹, 伊藤誠, 須藤友博, 井田逸朗, 三國雅彦(2004) 統合失調症の脳機能と近赤外線スペクトロスコピー. 脳と精神の医学 15:401-410.
- 福田正人, 上原徹, 井田逸朗, 三國雅彦(2004) うつ病の脳画像. 樋口輝彦監修『ストレス疾患ナビゲーター』, メディカルレビュー社, 東京, pp.252-253.
- 福田正人, 亀山正樹, 山岸裕, 佐藤利正, 上原徹, 伊藤誠, 須藤友博, 井田逸朗, 三國雅彦(印刷中) NIRS [特集/精神科臨床評価・検査法マニュアル]. 臨床精神医学
- 福田正人, 亀山正樹, 山岸裕, 佐藤利正, 上原徹, 伊藤誠, 須藤友博, 井田逸朗, 三國雅彦(印刷中) 高次脳機能障害としての精神疾患における NIRS. 臨床脳波
- Yamasue H, Kasai K, Nakagome K, Iwanami A, Fukuda M (in press) Using advanced neuroimaging techniques toward understanding schizophrenia. In: *Progress in Schizophrenia Research* (tentative), Nova Science Publishers, NY
- Ito M, Fukuda M, Suto T, Uehara T, Mikuni M (in press) Increased and decreased cortical reactivities in novelty seeking and persistence: a multichannel near-infrared spectroscopy study in healthy subjects. *Neuropsychobiology*.
- 山崎修道・田中伸一郎・森本幸子・山末英典・岩波明・岩崎さやか・柴田貴美子・浅井久栄・辻井和男・古川俊一・笠井清登・丹野義彦・加藤進昌 Peters et al Delusions Inventory (PDI) 日本語版の作成と信頼性・妥当性の検討. 臨床精神医学. 33, 911-918, 2004.
- 森本幸子・丹野義彦: 健常者の妄想的観念への多次元のアプローチ—被害妄想的観念と庇護妄想的観念の比較を通して. 心理学研究, 74, 552-555, 2004.
- 森脇愛子・坂本真士・丹野義彦 自己開示が被開示者の肯定的・否定的反応に及ぼす影響—被開示者の特性ごとにみた自己開示による反応の違い—. 健康心理学研究, 17, 70-78, 2004.
- 森本幸子・丹野義彦 大学生における被害妄想的観念に関する研究—素因ストレスモデルを用いて. 心理学研究, 75, 118-124, 2004.
- 佐々木淳・丹野義彦 自我漏洩状況に対応した測定尺度の作成. 精神科診断学, 15, 25-36. 2004.
- 小堀修・丹野義彦 完全主義の認知を多次元で測定する尺度作成の試み. パーソナリティ研究, 13, 34-43, 2004.
- 佐藤香織・丹野義彦・佐々木淳 女子短期大学生の対人不安傾向と仮想的面接評価場面における自己注目との関係. パーソナリティ研究, 13, 104-105, 2004.
- 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*, 2005 in press
- Ooki S, Okazaki Y, Asaka A: Characteristics of a Japanese Adult Twin Database of High School Graduates. *Twin Research* 7: 430-434, 2004
- Fuke C, Shimabukuro M, Petronis A, Sugimoto J, Oda T, Miura K, Miyazaki T, Ogura C, Okazaki Y, Jinno Y: Age related changes of the 5-methylcytosine content in

human peripheral leukocytes and placentas. An HPLC-based study. *Ann Hum Genet.* 68 (3): 196-204, 2004.

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

峯田 聖、谷井久志、岡崎祐士「統合失調症の遺伝子治療」*心療内科* 8(4): 252-255, 2004

岡崎祐士, 伊藤 勉, 藤丸浩輔, 今村 明: FIGS (遺伝子研究用間接家族診断). *分子精神医学* 5: ???-???, 2005
Ooki S, Yokoyama Y: Physical growth charts from birth to six years of age in Japanese twins. *Journal of Epidemiology*, 14(5): 151-160, 2004.

Ooki S, Okazaki Y, Asaka A: Characteristics of a Japanese adult twin database of high school graduates. *Twin Research*, 7(5): 430-434, 2004.

Ooki S: Language development of Japanese twins in childhood based on maternal reports. *Japanese Journal of Human Ecology*, 71(1): 12-24, 2005.

Ooki S, Asaka A: Comparison of obstetric and birthweight characteristics between the two largest databases of Japanese twins measured in childhood. *Twin Research and Human Genetics*, 8(1): 63-68, 2005.

2. 学会発表 (下線は主任・分担研究者及び研究協力者)

Kakiuchi C, Kato T (2004) Role of ER stress response pathway in bipolar disorder revealed by gene expression analysis of lymphoblasts of monozygotic discordant twins. Korean Neuropsychiatric Association

Iwamoto K, Bundo M, Kakiuchi C, Ishiwata M, Kusumi I, Tsujita T, Okazaki Y, Kato T: Exploration of the epigenetic differences in monozygotic twins discordant for bipolar disorder. LXIX ColdSpring Harbor Symposium on Quantitative Biology: Epigenetics. June 2-7, 2004

加藤忠史, 岩本和也(2004) 精神疾患とDNAメチル化 第12回日本精神・行動遺伝医学会 シンポジウム「エピジェネティクス」、東京、2004年10月16日

加藤忠史(2004)双極性障害における小胞体ストレス反応障害 一卵性双生児不一致例の遺伝子発現解析から 日本人類遺伝学会 第49回大会 シンポジウム2「こころの病の遺伝学」、東京、2004年

Kato T (2004) Molecular Basis of Bipolar Disorder. Neuro2004(日本神経科学会、日本神経化学会合同大会)シンポジウム「精神神経疾患の分子基盤と治療戦略」2004年9月23日

垣内千尋、加藤忠史(2004) 双極性障害と小胞体ストレス反応 日本生理学会

加藤忠史(2004) 気分障害とXBP1 第100回精神神経学会 シンポジウム9「遺伝子研究によってどこまで精神疾患の病態は解明されたか」、2004年5月21日

加藤忠史、岡崎祐士 (2004) 精神疾患研究における一卵性双生児不一致例の意義. 特定領域研究「脳科学の先端的研究」ゲノムネットワークの会、2004年5月15日

加藤忠史(2004) 躁うつ病の分子基盤 先端脳ワークショップ genes and cognition、越後湯沢、2004年8月23日

加藤忠史(2004) 双極性障害の病態研究の現状と展望 先端脳・脳科学総合研究センター病因遺伝子研究グループ 合同ワークショップ、和光、2004年4月3日

加藤忠史(2004) 双極性障害の分子病態と気分安定薬の治療反応性 第34回日本神経精神薬理学会/第26回日本生物学的精神医学会合同年会 合同シンポジウム「薬理遺伝学の新展開 ～テーラーメイド医療を目指して～」2004年7月22日、東京

杉本潤、中村明文、佐久本昇、申紅梅、島袋盛洋、小田高也、陣野吉廣、岡崎祐士 精神疾患/機能関連遺伝子のメチル化解析—特に、組織特異性及び個人差— 日本精神行動遺伝医学会第12回大会、東京、2004年10月16日

島袋盛洋、福家千昭、陣野吉廣、岡崎祐士・統合失調症における低メチル化要因の検討・日本精神行動遺伝医学会第12回大会・東京・2004年10月16日

岡本長久、斎藤治、穴見公隆、松田博史、森健之、阿部修、増谷佳孝、青木茂樹、岡崎祐士: 健常一卵性双生児における3次元MR画像および拡散テンソル画像を用いたヒト脳発達に関する予備的検討 第26回日本生物学的精神医学会、東京、2004.7.23

Kameyama M, Yamagishi Y, Suto T, Itoh M, Uehara T, Ida I, Fukuda M, Mikuni M: Cerebral blood volume changes during cognitive and motor activation in bipolar disorder: a multichannel near-infrared spectroscopy study. The 15th Congress of the International Society

- for Brain Electromagnetic Topography, Chiba, 2004.4.11-14.
- Suto T, Ito M, Kameyama M, Yamagishi Y, Uehara T, Ida I, Fukuda M, Mikuni M : Multichannel near-infrared spectroscopy study in schizophrenia: a cognitive and motor activation study. The 15th Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Chiba, 2004.4.11-14.
- Yamagishi Y, Kameyama M, Suto T, Itoh M, Uehara T, Ida I, Fukuda M, Mikuni M : Cerebral blood volume changes during cognitive and motor tasks in depression: a near-infrared spectroscopy study. The 15th Congress of the International Society for Brain Electromagnetic Topography, Chiba, 2004.4.11-14.
- Kameyama M, Suto T, Yamagishi Y, Ito M, Toru U, Fukuda M, Mikuni M : Cerebral blood volume changes during cognitive and motor activation in bipolar disorder: a multichannel near-infrared spectroscopy study. The 59th Annual Meeting of Society of Biological Psychiatry, New York, 2004.4.29.-5.1
- Suto T, Ito M, Kameyama M, Yamagishi Y, Uehara T, Ida I, Fukuda M, Mikuni M : Multichannel near-infrared spectroscopy study in schizophrenia: a cognitive and motor activation study. The 59th Annual Meeting of Society of Biological Psychiatry, New York, 2004.4.29.-5.1
- Yamagishi Y, Kameyama M, Ito M, Suto T, Uehara T, Ida I, Fukuda M, Mikuni M : Cerebral blood volume changes during cognitive and motor tasks in patients with depression: a near-infrared spectroscopy study. The 59th Annual Meeting of Society of Biological Psychiatry, New York, 2004.4.29.-5.1
- 福田正人:統合失調症の機能回復と脳機能評価. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004.5.20-22.
- 山岸裕, 亀山正樹, 須藤友博, 伊藤誠, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:統合失調症における局所脳血液量変化の特徴—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーによる検討. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004.5.20-22.
- 亀山正樹, 山岸裕, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:気分障害の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーによる検討. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004.5.20-22.
- Fukuda M, Uehara T, Ida I, Mikuni M : Near-infrared spectroscopy study of depression and bipolar disorder. 2004 WFSBP Asia-Pacific Congress, Seoul, 2004.7.9-11.
- 福田正人:統合失調症の脳機能と近赤外線スペクトロスコピー(シンポジウム:統合失調症の脳機能と形態) 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- 亀山正樹, 山岸裕, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:気分障害の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーによる検討. 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- 山岸裕, 亀山正樹, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:統合失調症の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーによる検討. 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- Rogers MA, 笠井清登, 沖本啓治, 桑原斉, 清野絵, 松尾幸治, 福田正人, 加藤進昌:Prefrontal activity during random number generation using NIRS. 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- 沖本啓治, 笠井清登, 桑原斉, 松尾幸治, 清野絵, 福田正人, 加藤進昌:光トポグラフィーによる言語流暢性課題施行時の脳血液量変化の特徴—LFTとCFTの比較. 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- 福田正人:NIRSの精神疾患診療への応用可能性. 第26回日本生物学的精神医学会, 東京, 2004.7.21-23.
- 亀山正樹, 山岸裕, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:気分障害の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーによる検討—. 第28回群馬精神医学会, 前橋, 2004.7.24.
- 須藤友博, 伊藤誠, 亀山正樹, 山岸裕, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:うつ病、及び統合失調症患者における認知・運動課題遂行時の局所脳血液量変化の特徴—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピーを用いた検討. 第28回群馬精神医学会, 前橋, 2004.7.24.
- Fukuda M, Uehara T, Ida I, Mikuni M : Characteristics of

frontal lobe function in depression, bipolar disorder, and posttraumatic stress disorder: a multichannel near-infrared spectroscopy study (Symposium 07: Imaging of Emotional and Social Brain). The 27th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Osaka, 2004.9.21.

福田正人:精神疾患の臨床検査としてのNIRS. 第34回日本臨床神経生理学会学術大会, 東京, 2004.11.17-19.

山岸裕, 亀山正樹, 佐藤利正, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:統合失調症における認知課題時の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピによる検討. 第34回日本臨床神経生理学会学術大会, 東京, 2004.11.17-19.

亀山正樹, 山岸裕, 佐藤利正, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:気分障害の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピによる検討. 第34回日本臨床神経生理学会学術大会, 東京, 2004.11.17-19.

福田正人:高次精神機能を反映するNIRS信号をどうみるか. 第2回光脳機能イメージング研究会, 東京, 2004.11.20.

福田正人:うつ病のNIRSを通じた説明. 第6回ムードディスオーダー・カンファランス東京, 2005.3.5.

亀山正樹, 山岸裕, 佐藤利正, 須藤友博, 伊藤誠, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:気分障害の認知・運動課題中の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピによる検討. 第7回日本ヒト脳機能マッピング学会, 東京, 2005.3.19-20

滝沢龍, 笠井清登, 工藤紀子, 川久保友紀, 清野絵, 山末英典, 福田正人, 加藤進昌:多チャンネルNIRSを用いた心的ストレス課題遂行時の脳血液量変化の特徴. 第7回日本ヒト脳機能マッピング学会, 東京, 2005.3.19-20

山岸裕, 亀山正樹, 佐藤利正, 伊藤誠, 須藤友博, 上原徹, 井田逸朗, 福田正人, 三國雅彦:統合失調症における認知課題時の局所脳血液量変化—多チャンネル近赤外線スペクトロスコピによる検討. 第7回日本ヒト脳機能マッピング学会, 東京, 2005.3.19-20

Tanno, Y., Tarrier, N., Ishigaki, T. & Hasegawa, T. Cognitive behavioural approach to hallucination and

delusion. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 44, 2004.

Yamasaki, S., Tanno, Y., Arakawa, H., Seino, K., Tanaka, S., Asai, H., Iwasaki, S., Shibata, K. & Furukawa, S. Delusional ideation in schizophrenic patients and college students. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 46, 2004.

Tanno, Y., Peters, E., Imura, O. & Hasegawa, T. Analogue study of psychology on delusion. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 50, 2004.

Morimoto, S. & Tanno, Y. Formation of paranoid ideation in non-clinical people. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 52, 2004.

Sasaki, J. & Tanno, Y. "Egorrhea": Symptoms of experience of feeling internal information leaked out. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 53, 2004.

Arakawa, H., Yamasaki, S. & Tanno, Y. Delusional ideation in non-psychotic students. Abstracts of World Congress of Behavioral Cognitive Therapies 2004, Kobe, p. 53, 2004.

Morimoto, S. & Tanno, Y. The relationship between paranoid ideation and bullying. Abstract Book of 28th International Congress of Psychology (ICP2004), p. 195, 2004.

Arakawa, H., Yamasaki, S. & Tanno, Y. Delusional ideation, depression, and reasoning. Abstract Book of 28th International Congress of Psychology (ICP2004), p. 952, 2004.

Tanno, Y., Morimoto, S., Yamasaki, S. & Arakawa, H. Delusional thoughts in schizophrenic patients and college students. Abstract Book of 28th International Congress of Psychology (ICP2004), p. 1233, 2004.

岡崎祐士:一卵性双生児不一致例の解析による精神疾患の病態と成因の研究、日本脳科学会、2004年6月11日、宮崎

岡崎祐士・加藤忠史・今村 明・山下秀次・陣野吉廣・大石道夫:統合失調症の遺伝子探索研究をめぐって。神経科学シンポ宮崎 2004, 2004年6月12日、宮崎

Ooki S., Asaka A.: Construction of Japanese database

on infant twins and their families: The characteristics of basic obstetrical and physical growth data. 11th International congress on twin studies, Denmark, 2004.7.2-4.

3. 著書

岡崎祐土, 峯田 聖, 谷井久志:統合失調症の遺伝学. 脳神経疾患病態の分子生物学(澤明編)南山堂, 東京, 73-84, 2005

4. マスメディア報道

NHK 総合放送(2004年3月31日):番組「ためしてガッテン」脳を元気に①ーゆううつ最新対策:脳の活動低下の有無」.

5. その他

本研究を推進するために、群馬大学と日立製作所基礎研究所・日立メディコ社技術研究所との間で、以下にあげた医工連携の共同研究契約を締結し実施した。

福田正人, 三國雅彦, 上原徹「近赤外線を用いた脳機能計測による精神疾患の診療支援システムの開発」(2004年度)

H. 知的財産権の出願・登録状況:

1. 特許取得

生体光計測装置を用いた疾患判定装置
川崎真護, 市川祝善, 川口文男, 田中尚樹, 川口英夫, 三國雅彦, 福田正人:生体光計測装置を用いた疾患判

定装置

(国際出願:PCT/JP2004/13121, 2004.9.9.)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金
「こころの健康科学」研究事業

双生児法による脳とこころの発達過程及び精神疾患成因の解明(H14-こころ-011)
平成 16 年度分担研究報告書

精神疾患不一致一卵性双生児における MS-RDA 法を用いた DNA メチル化差異の同定

分担研究者 加藤忠史 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

我々は、一卵性双生児双極性障害不一致例の培養リンパ芽球様細胞における遺伝子発現解析により、双極性障害患者で XBP1 および GRP78 という、小胞体ストレス経路の遺伝子の発現が低下していることを見出した。しかし、これらの遺伝子には DNA 配列、DNA メチル化に異常は見られなかった。そこで、これらのうち 1 ペアにおいて、DNA メチル化または配列に差異のある遺伝子を探索するため、Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA) 法を用いて探索を行った。その結果、メチル化差異の見られる遺伝子を 2 つ見出した。

A. 研究目的

双極性障害では、一卵性双生児における一致率が 60~80%と高いことから、遺伝要因の強い関与が考えられるが、連鎖解析や病態に関連する遺伝子の検索にもかかわらず、決定的な病因遺伝子は見出されていない。一卵性双生児における一致率は高率であるが、100%ではなく、その理由としてゲノムの不一致が存在する可能性があることがわかってきた。本研究では、Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA)法を用いて、一卵性双生児双極性障害不一致例間における DNA メチル化差異を検索した。

B. 研究方法

対象は、研究内容につき書面にて説明の上同意が得られた一卵性双生児双極性障害不一致例 1 組(49 歳男性)である。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。細胞より DNA を抽出し、Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA)法により、両者の間で DNA メチル化の差異が見られるゲノム領域を探索した。

(倫理面への配慮)

本研究については、理化学研究所および参加施設の倫理委員会の承認を得た。被験者には、研究内容に

つき説明の上、書面にて同意を得た。

C. 研究結果

得られた 92 クローンのうち、多くは、ミトコンドリア DNA や EB ウイルスなど、アーチファクトと思われたが、27 クローンは染色体 DNA 由来であり、うち 9 クローンは CpG アイランドないしその近傍に位置していた。そのうち少なくとも 2 つの遺伝子については、DNA メチル化状態が異なることが bisulfite シーケンス法により確認できた。

D. 考察

本研究の結果から、これら 2 つの遺伝子の DNA メチル化異常が、双極性障害の危険因子になる可能性が示唆された。これらの遺伝子の病態生理学的意義について、今後更に検討を進める予定である。

E. 結論

双極性障害に関して不一致な一卵性双生児ペアにおける Methylation-sensitive representational differential analysis (MS-RDA)による DNA メチル化解析から、双極性障害の候補遺伝子を同定した。

F. 健康情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kakiuchi C, Kato T (2005) Lithium response and -116C/G polymorphism of XBP1 in Japanese patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 8:1-2

Kakiuchi C, Ishiwata M, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Kato T (2004) Association of the XBP1-116C/G polymorphism with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 58: 438-440.

Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T (2004) Lack of association between XBP1 genotype and calcium signaling in the platelets of healthy subjects. *Neurosci Lett.* 369: 1-3.

加藤忠史、垣内千尋(2004) 小胞体ストレス反応と躁うつ病. *蛋白質核酸酵素* 49: 7: 1133-1134.

加藤忠史、垣内千尋(2004) 一卵性双生児躁うつ病不一致例における DNA マイクロアレイ解析. *細胞工学* 23: 429-432

垣内千尋、加藤忠史(2004) 躁うつ病と小胞体ストレス反応関連遺伝子 XBP1 *Bio Medical Quick Review Net* 4004:1-5

加藤忠史(2004) 精神疾患における DNA メチル化の意義. *精神科* 4: 118-122

垣内千尋、加藤忠史(2004) 双極性障害の分子遺伝学的メカニズム. *精神科* 4: 287-291

加藤忠史(2004) 分子生物学からみたうつ病 *CLINICAL NEUROSCIENCE* 22:2:151-153

加藤忠史(2004) 双極性障害の分子遺伝学. *神経研究の進歩* 48: 789-797

加藤忠史、岩本和也(2004) 精神疾患における遺伝子発現研究 -DNA から RNA へ. *精神神経学雑誌* 106:49-52

加藤忠史(2005) 双極性障害の病因仮説とそれに基づく新しい治療 *臨床精神薬理* 8:3:289-296

加藤忠史(2005) 遺伝子・分子生物学からみたうつ病 *臨床看護* 31:1:55-58

2. 学会発表

Kakiuchi C, Kato T (2004) Role of ER stress response pathway in bipolar disorder revealed by gene expression analysis of lymphoblasts of monozygotic discordant twins. *Korean Neuropsychiatric Association*

Iwamoto K, Bundo M, Kakiuchi C, Ishiwata M, Kusumi I, Tsujita T, Okazaki Y, Kato T: Exploration of the epigenetic differences in monozygotic twins discordant for bipolar disorder. *LXIX ColdSpring Harbor Symposium on Quantitative Biology: Epigenetics.* June 2-7, 2004

加藤忠史、岩本和也(2004) 精神疾患とDNAメチル化 第12回日本精神・行動遺伝医学会 シンポジウム「エピジェネティクス」、東京、

加藤忠史(2004) 双極性障害における小胞体ストレス反応障害 一卵性双生児不一致例の遺伝子発現解析から 日本人類遺伝学会 第49回大会 シンポジウム2 「こころの病の遺伝学」

Kato T (2004) *Molecular Basis of Bipolar Disorder.* *Neuro2004* (日本神経科学会、日本神経化学会合同大会) シンポジウム「精神神経疾患の分子基盤と治療戦略」 2004年9月23日

垣内千尋、加藤忠史(2004) 双極性障害と小胞体ストレス反応 日本生理学会

加藤忠史(2004) 気分障害とXBP1 第100回精神神経学会 シンポジウム9 「遺伝子研究によってどこまで精神疾患の病態は解明されたか」、2004年5月21日

加藤忠史、岡崎祐士(2004) 精神疾患研究における一卵性双生児不一致例の意義. 特定領域研究「脳科学の先端的研究」ゲノムネットワークの会、2004年5月15日

加藤忠史(2004) 躁うつ病の分子基盤 先端脳ワークショップ *genes and cognition*、越後湯沢、2004年8月23日

加藤忠史(2004) 双極性障害の病態研究の現状と展望 先端脳・脳科学総合研究センター-病因遺伝子研究グループ 合同ワークショップ、和光、2004年4月3日

加藤忠史(2004) 双極性障害の分子病態と気分安定薬の治療反応性 第34回日本神経精神薬理学会/第26回日本生物学的精神医学会合同年会 合同シンポジウム「薬理遺伝学の新展開 ～テーラーメイド医療を目指して～」2004年7月22日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

双生児法による脳とこころの発達過程及び精神疾患成因の解明 (H14-こころ-011)

[分担研究課題] 遺伝子発現修飾機構、特にメチレーションなどのエピジェネティックスの差異の検討

分担研究者 陣野 吉廣 (琉球大学大学院医学研究科・教授)

研究要旨

統合失調症男性患者に認められた白血球 DNA の相対的低メチル化が薬物によるものか否かをラットを用いて検討した。差は 5%の有意水準に達せず白血球に関して結論を得ることができなかったが、ハロペリドールが DNA のメチル化に影響することを見出した。ハロペリドールによる脳でのメチル化レベルの低下は雌で大きく、かつ有意だった。

A. 研究目的

目的は機能的な精神疾患へのエピジェネティックスの関与の有無を明らかにすることである。その後、候補遺伝子プロモーター領域のメチル化異常を検証する。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による(末梢)白血球 DNA のメチルシトシン(mC)含量を測定した結果、以下の2点を明らかにした。

- (1) 健常成人で mC 含量に性差が存在すること(女性<男性) (Fuke et al. Ann Hum Genet 2004)
- (2) 統合失調症男性患者では健常男性と比べ mC 含量が低いこと(論文準備中)

この差が薬物による二次的結果の反映か否かを検証することが今年度の目的になった。

B. 研究方法

統合失調症における低メチル化要因の検討にはラット(SD ラット、8週齢)を用いて、ハロペリドール投与群とプラセボ投与群の2群(各群10匹)に分けてメチルシトシン総量を測定比較した。ハロペリドール原末(大日本製薬)0.5 mg/kgを腹腔内に1日1回、3週間投与した後失血死させ、白血球 DNA のメチルシトシン総量を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定した。また、脳及び肝臓の DNA についても測定を行った。統計解析は StatView を用いて Mann-Whitney の U test で

差の検定を行った。メチルシトシン含量はメチルシトシンの総シトシン(シトシン + メチルシトシン)に対する百分比で表した。 P 値が5%以下の時、有意と判断した。

(倫理面及び動物愛護への配慮)

今回は動物試料を用いた実験だったため、「倫理面への配慮」の記述は省略する。動物実験は、動物愛護の配慮に基づき可及的小さい数で行った。また、屠殺の方法は、実験上頸椎脱臼は用いなかったが、それに次ぐ比較的安楽死に近い頸動脈出血死(血液は回収)を用いた。

C. 研究結果

(プラセボ群における)性差に関しては、白血球 DNA(各群 $n = 10$ 、以下略)で雄 3.843 ± 0.042 、雌 3.771 ± 0.048 と雌に低い有意な差($p = 0.005$)が認められた。これはヒトで認められた結果と一致する。脳及び肝臓では性差がなかった。雄ラット白血球 DNA のメチルシトシン含量の平均値及び標準偏差値は、ハロペリドール群 3.817 ± 0.039 、プラセボ群 3.843 ± 0.042 で、ハロペリドール群が低値を示したが、有意な差ではなかった($p = 0.212$)。雌ではハロペリドール群が高い傾向を示した(3.812 ± 0.050 vs. 3.771 ± 0.048 ; $p = 0.064$)。脳では、雄雌ともにハロペリドール群が低い値を示し、雌で有意な差が検出された([雄] 3.632 ± 0.047 vs. 3.650 ± 0.023 ; $p =$