

Fig. 3. (A) Hybridization pattern of normal adult rat hippocampal cDNA. The 104 EST clones, 2 positive and 1 negative controls are spotted on the glass 10 times each. (B) Zoom up figure of one sub-array. There are 107 spots in each sub-array. (C) The correlation between the frequencies of observed ESTs and the signal intensities of the spots. There is significant correlation between the frequencies and the signal intensities of the ESTs ($r=0.713$).

polyadenylation, giving rise to multiple tags derived from a single transcript.

However, there has been no report of large-scale generation of ESTs from rat hippocampus. EST analysis has certain advantages over other methods such as SAGE for examining the transcript repertoire of tissues. In particular, EST sequences that cover regions of the coding sequence can reveal variant transcripts and splice forms, many of which have functional significance.

In this study, we describe a collection of 13,660 hippocampus-related ESTs representing 7173 different transcripts. With respect to overall EST distribution (i.e. known gene matches), the results in rat hippocampus in this study differ somewhat from those obtained from other tissues. The largest category of function has been reported to be gene/protein expression in studies of ESTs in tissues other than brain [1,13,15]. The largest number of genes obtained from the rat hippocampus cDNA library encoded proteins related to 'cell signaling and communication', as in earlier EST study of brain [1]. The functional categorization of known genes reflects general differences in gene expression between different tissues, and may reflect tissue-specific function. For example, calmodulin and CAMK II, genes involved in 'protein modification' of 'cell signaling/communication' were identified most frequently in this research, and play an important role in the early stages of

LTP (Long-term potentiation) in hippocampus [9,19,26]. Genes of mitogen-activated protein kinase signaling that belong to the core signaling pathways involved in memory storage [16,18,27] also were found frequently. Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation proteins were found in this library abundantly, and play a role in the regulation of serotonin and biosynthesis of brain noradrenaline, reuptake of which is inhibited by antidepressant drugs [14]. In this study, there was also a larger portion of unclassified genes in hippocampus (24.5%) due, at least in part, to the large numbers of hypothetical proteins generated by recent high throughput genome sequencing efforts.

Although the rat genome project has been released [10], a significant fraction of the genes are hypothetical, revealed only by a computer prediction program. Thus, hippocampal transcripts provide a richer resource for analysis of novel genes related to known proteins. This catalog of expressed genes should facilitate the development of tissue-specific cDNA microarray technology.

Various kinds of stress induce the synthesis of stress proteins that protect cells from subsequent lethal stress. HSPs are ubiquitous cellular proteins with a highly conserved structure, mode of regulation, and function, indicating their important role in cellular functions. HSPs are induced by physical and chemical insults, and confer

Table 5
Gene list of microarray

Spot	Gene name
A1	β prime COP
A2	adenylate kinase 1
A3	HLA-B-associated transcript 1A
A4	heat shock protein 90 (rats, brain, mRNA, 2524 nt)
A5	calnexin
A6	branched chain aminotransferase 1, cytosolic
A7	P450 (cytochrome) oxidoreductase
A8	X-ray repair cross-complementing group 1 protein
A9	carbonic anhydrase 2
B1	oxygen-regulated protein
B2	neogenin
B3	transferrin
B4	RPT protein similar to yeast MRS2
B5	adenylate kinase 4
B6	nuclear factor of κ light polypeptide gene enhancer in B cells inhibitor-like 1
B7	branched chain aminotransferase 2, mitochondrial
B8	metallothionein 1, pseudogene A
B9	RT1 class Ib gene, H2-TL-like, grc region (N1)
C1	glutathione S-transferase omega 1
C2	carbonic anhydrase 11
C3	thymus cell antigen 1, θ
C4	coatamer protein complex, subunit γ 1
C5	heat shock protein 60 (liver)
C6	tweety homolog 1 (Drosophila)
C7	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1
C8	calcium binding atopy-related autoantigen 1
C9	heat shock protein 8
D1	hemoglobin, α 1
D2	odd Oz/ten-m homolog 4 (Drosophila)
D3	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 5
D4	endoplasmic reticulum protein 29
D5	Nsf: N-ethylmaleimide sensitive factor
D6	esterase 10
D7	acyl-coA oxidase
D8	coatamer protein complex, subunit γ 2
D9	surfeit 1
E1	DnaJ-like protein
E2	glutathione S-transferase, μ type 3 (Yb3)
E3	activated leukocyte cell adhesion molecule
E4	α thalassemia/mental retardation syndrome X-linked homolog (human)
E5	GAPDH
E6	cleft lip and palate associated transmembrane protein 1
E7	heat shock 70 kDa protein 4
E8	heat shock 70 kDa protein 5
E9	peroxiredoxin 2
F1	cytochrome P450-like protein
F2	topoisomerase (DNA) III β
F3	thioredoxin domain containing 5
F4	superoxide dismutase 2
F5	negative control
F6	complement component factor h
F7	adenylate kinase 5
F8	similar to MHC class Ib RT1.S3
F9	limbic system-associated membrane protein
G1	epoxide hydrolase 1
G2	TAP binding protein
G3	Transferrin (prealbumin, amyloidosis type I)
G4	hemoglobin β chain complex
G5	MHC class II-associated invariant chain
G6	glutathione S-transferase, μ 1

Table 5 (continued)

Spot	Gene name
G7	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 1
G8	cytochrome P450, subfamily 51
G9	immunoglobulin superfamily, member 8
H1	ferritin light chain 2
H2	glutathione transferase subunit 8
H3	mannose-binding protein associated serine protease-1
H4	NY-REN-18 antigen
H5	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 6
H6	T cell receptor γ locus, TCR γ 1 and γ 3 gene clusters
H7	coatamer protein complex, subunit β 1
H8	glutamate cysteine ligase, modifier subunit
H9	Sacm21/RT1-A intergenic region, haplotype RT1n and partial RT1-A gene for MHC class I antigen
I1	heat shock protein 1, α
I2	RAD50 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)
I3	germline MHC class I gene, complete cds
I4	acyl-coenzyme A oxidase 3, pristanoyl
I5	β -2-microglobulin
I6	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 5
I7	non MHC restricted killing associated
I8	suppression of tumorigenicity 13 (colon carcinoma) Hsp70-interacting protein
I9	ferritin, heavy polypeptide 1
J1	creatine kinase, brain
J2	HLA-B-associated transcript 3
J3	thioredoxin-like 2
J4	B-cell receptor-associated protein 37
J5	selenium-dependent glutathione peroxidase mRNA, complete cds
J6	thioredoxin 2
J7	glycoprotein Ib (platelet), β polypeptide
J8	topoisomerase (DNA) II β
J9	HLA-B associated transcript 2
K1	islet cell autoantigen 1, 69 kDa
K2	heat shock factor binding protein 1
K3	stress-induced-phosphoprotein 1 (Hsp70/Hsp90-organizing protein)
K4	C4 complement protein
K5	18S rRNA
K6	thioredoxin domain containing 1
K7	platelet-activating factor acetylhydrolase α 2 subunit (PAF-AH α 2)
K8	coagulation factor C homolog (<i>Limulus polyphemus</i>)
K9	adenylate kinase 3
L1	glutathione S-transferase, θ 2
L2	RT1 class Ib gene (Aw2)
L3	proprotein convertase subtilisin/kexin type 3
L4	thioredoxin-like (32 kDa)
L5	blank
L6	glutathione S-transferase Yc1 subunit (rats, fetal liver, mRNA, 1052 nt)
L7	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 7
L8	ligase III, DNA, ATP-dependent
L9	SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily e, member 1

cellular resistance to subsequent lethal stressors. For example, heat and ischemia are well known stimuli that induce the HSP70 family in the central nervous system [22]. In mammals, the HSP70 family is also stimulated by stress mediators such as adrenocorticotrophic hormone and catecholamines [3]. Accordingly, expression of the HSP70 family may be associated with stress responses involving

the endocrine, nervous, and immune systems. Glucocorticoid levels also are increased in depressed patients [4] and glucocorticoid receptor function is regulated by HSPs [23]. Thus, further investigation of the relationship between HSPs and psycho-physiological stress in hippocampus should be fruitful. In the present study, for example, we constructed a cDNA microarray focused on genes categorized into 'cell/organism defense', including a number of stress inducible factors such as HSPs, for further molecular studies in animal models of stress-related disorders.

As shown in Fig. 3 C, there was significant correlation between the frequencies of observed ESTs categorized into 'cell/organism defense' and the signal intensities of the spots, suggesting that the profiling of transcripts by ESTs reflects the actual gene expression pattern well. These clone sets allow for the production of large numbers of cDNA microarrays at low cost, permitting the use of large numbers of replicates in gene expression profiling experiments, which should lead to increased data quality. In addition, because many of the cDNAs spotted on our microarrays are not contained on commercial platforms at present, they should provide a unique and useful tool for molecular studies of animal models of stress-related disorders.

Functional analysis of newly discovered genes through this approach might clarify the molecular mechanisms underlying the pathogenesis of stress-related disorders sufficiently to reveal novel therapeutic targets. Integrated information on hippocampus-specific functions and mapping of our ESTs on the human chromosome should complement genetic linkage studies and facilitate positional candidate cloning for the identification of genes of memory-, learning- and stress-related disorders in genetically defined regions.

Acknowledgments

This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research A-C and for Scientific Research on Priority Areas (C) "Medical Genome Science" from the Japanese Ministry of Science, Education, Sports, Culture and Technology; for a Health and Labor Science Research Grant for Special Research from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare; and for the Yamanouchi Foundation for Research on Metabolic Disorders, Japan Diabetes Foundation and Takeda Science Foundation.

References

- [1] M.D. Adams, A.R. Kerlavage, R.D. Fleischmann, R.A. Fuldner, C.J. Bult, N.K. Lee, E.F. Kirkness, K.G. Weinstock, J.D. Gocayne, O. White, et al., Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence, *Nature* 377 (1995) 3–174 (Suppl.).
- [2] S.F. Altschul, T.L. Madden, A.A. Schäffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, D.J. Lipman, Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic Acids Res.* 25 (1997) 3389–3402.
- [3] M.J. Blake, D.J. Buckley, A.R. Buckley, Dopaminergic regulation of heat shock protein-70 expression in adrenal gland and aorta, *Endocrinology* 132 (1993) 1063–1070.
- [4] B.J. Carroll, The dexamethasone suppression test for melancholia, *Br. J. Psychiatry* 140 (1982) 292–304.
- [5] N.A. Datsun, J. van der Perk, E.R. de Kloet, E. Vreugdenhil, Expression profile of 30,000 genes in rat hippocampus using SAGE, *Hippocampus* 11 (2001) 430–444.
- [6] R.S. Duman, J. Malberg, J. Thome, Neural plasticity to stress and antidepressant treatment, *Biol. Psychiatry* 46 (1999) 1181–1191.
- [7] P.S. Eriksson, E. Perfilieva, T. Bjork-Eriksson, A.M. Alborn, C. Nordborg, D.A. Peterson, F.H. Gage, Neurogenesis in the adult human hippocampus, *Nat. Med.* 4 (1998) 1313–1317.
- [8] E. Fuchs, G. Flugge, Stress, glucocorticoids and structural plasticity of the hippocampus, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23 (1998) 295–300.
- [9] K. Fukunaga, L. Stoppini, E. Miyamoto, D. Muller, Long-term potentiation is associated with an increased activity of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II, *J. Biol. Chem.* 268 (1993) 7863–7867.
- [10] R.A. Gibbs, G.M. Weinstock, M.L. Metzker, D.M. Muzny, E.J. Sodergren, S. Scherer, G. Scott, D. Steffen, K.C. Worley, P.E. Burch, et al., Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution, *Nature* 428 (2004) 493–521.
- [11] E. Gould, P. Tanapat, Stress and hippocampal neurogenesis, *Biol. Psychiatry* 46 (1999) 1472–1479.
- [12] J.P. Herman, M.K. Schafer, E.A. Young, R. Thompson, J. Douglass, H. Akil, S.J. Watson, Evidence for hippocampal regulation of neuroendocrine neurons of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis, *J. Neurosci.* 9 (1989) 3072–3082.
- [13] D.M. Hwang, A.A. Dempsey, R.X. Wang, M. Rezvani, J.D. Barrans, et al., A genome-based resource for molecular cardiovascular medicine. Toward a compendium of cardiovascular genes, *Circulation* 96 (1997) 4146–4203.
- [14] T. Ichimura, T. Isobe, T. Okuyama, T. Yamauchi, H. Fujisawa, Brain 14-3-3 protein is an activator protein that activates tryptophan 5-monooxygenase and tyrosine 3-monooxygenase in the presence of Ca^{2+} , calmodulin-dependent protein kinase II, *FEBS Lett.* 13 (1987) 79–82.
- [15] L. Jin, H. Wang, T. Narita, R. Kikuno, O. Ohara, N. Shihara, T. Nishigori, Y. Horikawa, J. Takeda, Expression profile of mRNAs from human pancreatic islet tumors, *J. Mol. Endocrinol.* 31 (2003) 519–528.
- [16] E.R. Kandel, The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses, *Science* 294 (2001) 1030–1038.
- [17] E.H. Margulies, S.L.R. Kardia, J.W. Innis, Identification and prevention of a GC content bias in SAGE libraries, *Nucleic Acids Res.* 29 (12) (2001) E60–0.
- [18] A. Matynia, S.G. Angnostaras, A.J. Silva, Weaving the molecular and cognitive strands of memory, *Neuron* 32 (2001) 557–559.
- [19] M. Mayford, J. Wang, E. Kandel, T.S. O'Dell, CAMK II regulates the frequency-response function of hippocampal synapses for the production of both LTD and LTP, *Cell* 81 (1995) 891–904.
- [20] B.S. McEwen, The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance, *Brain Res.* 886 (2000) 172–189.
- [21] M. Nilsson, E. Perfilieva, U. Johansson, O. Orwar, P.S. Eriksson, Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory, *J. Neurobiol.* 39 (1999) 569–578.
- [22] T.S. Nowak Jr., U. Bond, M.J. Schlesinger, Heat shock RNA levels in brain and other tissues after hyperthermia and transient ischemia, *J. Neurochem.* 54 (1990) 451–458.
- [23] W.B. Pratt, D.O. Tort, Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones, *Endocr. Rev.* 18 (1997) 306–360.
- [24] R.M. Sapolsky, Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuro-psychiatric disorders, *Arch. Gen. Psychiatry* 57 (2000) 925–935.

- [25] Y.I. Sheline, P.W. Wang, M.H. Gado, J.G. Csernansky, M.W. Vannier, Hippocampal atrophy in recurrent major depression, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93 (1996) 3908–3913.
- [26] A.C. Silva, C. Stevens, S. Tonegawa, Y. Wang, Deficient hippocampal long-term potentiation in α -calcium-calmodulin kinase II mutant mice, *Science* 257 (1992) 201–206.
- [27] J.D. Sweatt, The neuronal MAP kinase cascade: a biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory, *J. Neurochem.* 76 (2001) 1–10.
- [28] J. Takeda, H. Yano, S. Eng, G.I. Bell, A molecular inventory of human pancreatic islets: sequence analysis of 1000 cDNA clones, *Hum. Mol. Genet.* 2 (1993) 1793–1798.
- [29] H. van Praag, G. Kempermann, F.H. Gage, E. Gould, P. Tanapat, Running increase cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus, *Nat. Neurosci.* 2 (1999) 266–270.
- [30] E.A. Young, R.F. Haskett, V. Murphy-Weinberg, S.J. Watson, H. Akil, Loss of glucocorticoid fast feedback in depression, *Arch. Gen. Psychiatry* 48 (1991) 693–699.

臨床遺伝と病態理解

——遺伝子研究からみた病態仮説

Clinical genetics and interpretation of pathophysiology



糸川昌成^{1,2} 山田和男² 吉川武男²

Masanari ITOKAWA, Kazuo YAMADA and Takeo YOSHIKAWA

東京都精神医学総合研究所統合失調症研究部門¹, 理化学研究所脳科学総合研究センター分子精神科学研究チーム²

◎疾患遺伝子の研究では、①集団を対象に候補遺伝子を解析する関連研究、②家系を対象に染色体上に感受性遺伝子の座位を絞り込んでいく連鎖研究、③疾患と併存する染色体異常から原因遺伝子の同定を試みる細胞遺伝学的研究、の3つの手法がある。疾患遺伝子の同定では主として神経内科領域の Mendel 型遺伝疾患でめざましい成果が得られたが、統合失調症研究でも着実な進歩が認められはじめている。統合失調症に遺伝的要因が関与することは双生児・養子研究などから指摘されているが、統合失調症の家族内集積の様式は Mendel の遺伝法則に従わない。これは統合失調症が強い効果の単一遺伝子によらず、弱い効果の複数の遺伝子に環境因子が加わって発症する複雑遺伝疾患であるからと考えられている。3つの遺伝子研究から得られた成果は、複雑遺伝疾患モデルと矛盾しない部分が多い。また、近年集積してきた証拠から、従来より提唱されていた“グルタミン酸仮説”と“神経発達障害仮説”の妥当性が示唆されている。



候補遺伝子, 多型, 連鎖, 関連(アソシエーション), グルタミン酸仮説

統合失調症の発症危険率は一般人口のおよそ100人に1人といわれ、糖尿病や高血圧と同じように“ありふれた病気(common disease)”のひとつである。双生児・養子研究などから遺伝的要因が発病に影響していることは指摘されてきた。しかし、統合失調症の家系内での発症形式は典型的な Mendel の遺伝法則に合致しない。これは、統合失調症は大きい効果をもった単一の遺伝子によって引き起こされるのではなく、小さな効果の複数の遺伝子の組合せに環境要因も関係して発症に至る、いわゆる複雑遺伝疾患であるためと考えられている。

疾患遺伝子の研究には、①関連(候補遺伝子)研究、②連鎖研究、③細胞遺伝学的研究の3つの手法がある。関連研究は集団を対象に、治療薬の作用部位や病因仮説に基づく関連蛋白の遺伝子を候補として解析する研究手法である。弱い遺伝子効

果の同定に有効なので、複雑遺伝疾患の研究に適しており、Alzheimer 病におけるアポ E4 遺伝子多型の研究が大きな成果をあげた関連研究の代表例にあげられる。連鎖研究は家系を用いて、発症者と連鎖する染色体上の DNA マーカーを同定することにより感受性遺伝子を“ポジショナルに”染色体上で絞り込んでいく研究手法である。Mendel 型遺伝形式を呈する効果の強い単一遺伝子疾患の原因遺伝子の同定に効果的で、Huntington 病や脊髄小脳変性症など神経内科領域の病原遺伝子同定においてめざましい成果が得られている。細胞遺伝学的研究は、疾患と関連して出現する染色体異常を利用して、染色体上に原因遺伝子を同定する手法である。これも Mendel 型遺伝の疾患に有効で、Duchenne 型筋ジストロフィーの原因遺伝子同定において、X 染色体短腕の部分欠失をもった患者が重要なきっかけをつくったことで知られてい

る。

関連(候補遺伝子)研究

関連研究では病態仮説や治療薬の作用部位から重要と考えられる遺伝子が候補として選択される。候補遺伝子上に同定された個人差(DNA多型)の頻度を患者と健常対照と比較し、有意に患者で出現頻度が高ければ、候補遺伝子(あるいは多型)が疾患の病態に関与したと判断する。統合失調症の関連研究でこれまでに検討された遺伝子の数は3桁に及ぶ。2001~2002年に報告されたものだけでも127編93遺伝子にわたっている¹⁾。しかし、これら遺伝子の多型頻度から計算されるそれぞれのオッズ比(発病危険率の近似値とみなす)は1.0~2.0の間(多型をもつと個体の発病する危険性が1~2倍高まる)がほとんどであり、Alzheimer病に対するアポE4のオッズ比が10を超えるのに比べると遺伝子多型のもつ効果は小さい。そのため、第一報告者の結果が追認されないことがしばしばみられる。そこで、サンプルの規模を確保するために、複数の報告をまとめて(たとえば、1,000の単位で)患者・対照比較をする“メタ解析”が行われている。現在までにメタ解析で有意な関連が確認された多型はニューロトロフィン-3(イントロン1のCA繰返し多型)、ドパミンD2受容体(S311C:311番目のアミノ酸セリンがシステインに置換)、ドパミンD3受容体(S9G:9番目のアミノ酸セリンがグリシンに置換)、セロトニン2A受容体(T102C:102番目のDNAチミンがシトシンに置換)の4つであり、しかもすべてオッズ比は2以下と弱いことも確認された。

統合失調症の脳内で、グルタミン酸神経の機能低下が生じているとする“グルタミン酸仮説”が提唱されている(「サイドメモ」参照)。根拠のひとつには、グルタミン酸受容体の阻害薬である解離性麻酔薬、フェンサイクリジンが統合失調症の陽性症状(幻覚・妄想)と陰性症状(感情の平板化、意欲低下など)の両方を引き起こす点が上げられる。近年の関連研究ではグルタミン酸関連遺伝子を対象とした研究が数多く報告されている(表1)。グルタミン酸受容体はイオンチャネル型と代謝調節型に分類される。イオンチャネル型はさらにアゴニ

ストの種類によって、AMPA型、カイニン酸型、NMDA型の3つに分けられる。当然、フェンサイクリジンの作用部位であるNMDA受容体をもっともよく調べられている。

NMDA受容体は、R1サブユニットとR2サブユニットによって多量体が形成される。R1サブユニットで有意な関連の報告はいまのところ1編のみであるが、R2サブユニットでは複数みられる(表1)。著者らはR2AサブユニットをコードするNR2A遺伝子のプロモーター領域にGTの繰返し多型を同定し、375例の統合失調症と378例の対照を用いた関連研究で、繰返しの長いアレルと統合失調症の関連を見出した²⁾(表1、図1-A)。このGT配列は繰返しの長さに依存して転写活性を抑制し(図1-B)、かつ繰返しが長いほど死後脳でMK-801結合部位(NMDA受容体密度)が減少していた(図1-C)。また、繰返しの長さともPANSS

サイド メモ

統合失調症のグルタミン酸仮説

1980年に、Ulm大学のKimらが、20例の統合失調症と44例の対照を調べ、髄液のグルタミン酸濃度が患者で対照のおよそ1/2まで減少していることを報告し、グルタミン酸仮説を提唱した。しかし、その後の研究では同様の髄液所見は再現されなかった。

現在のグルタミン酸仮説の中心的根拠は、フェンサイクリジンが統合失調症様の精神症状を惹起する点におかれている。フェンサイクリジンは1958年に解離性麻酔薬として開発されたが、翌年には副作用として幻覚・妄想などの精神症状が報告され、臨床応用は断念された。しかし、1970年ごろから乱用薬物として市中に出まわり社会問題化した。フェンサイクリジン精神病的臨床症状は統合失調症に酷似し陽性症状と陰性症状の双方をきたすため、臨床症状だけでは統合失調症と鑑別できないほどといわれる。1983年に、フェンサイクリジンがN-methyl-D-aspartate(NMDA)で誘発される脱分極を遮断することが見出され、NMDA型グルタミン酸受容体のイオンチャネルを非競合的に阻害することが報告された。その後、フェンサイクリジンとグルタミン酸の関連がつつぎと報告され、1987年にJavittがそれらを“統合失調症のフェンサイクリジンモデル”としてまとめ、現在のグルタミン酸仮説の骨子となった。

表 1 グルタミン酸受容体を統合失調症の候補遺伝子とした研究

遺伝子	多型またはハプロタイプ	結果	報告者	報告年	
イオンチャネル結合型 AMPA 型	<i>GluR3</i>	SNP4**	$p=0.011$	Fujii ら	2003
	<i>GluR4</i>	SNP4-5** ^b	$p=0.029$	Makino ら	2003
カイニン酸型	<i>GluR4</i>	SNP3-4-5** ^b	$p=0.043$	Makino ら	2003
	<i>GluR5</i>	連鎖解析	否定	Chen ら	1997
	<i>GluR5</i>		否定	Shibata ら	2001
	<i>GluR6</i>	連鎖解析	否定	Chen ら	1996
	<i>GluR6</i>		否定	Shibata ら	2002
	<i>GluR7</i>	928T>G	$p=0.010$	Begni ら	2002
	NMDA 型	<i>NR1</i>		否定	Sakurai ら
<i>NR1</i>			否定	Williams ら	2002
<i>NR1</i>			否定	Tani ら	2002
<i>NR1</i>		IVS10-17C>GTAA	否定	Hammond ら	2002
<i>NR1</i>			否定	Hung ら	2002
<i>NR1</i>		1001G>C	$p=0.0085$	Begni ら	2003
<i>NR2A</i>		-679(GT) _n	$p=0.05$	Itokawa ら ²⁾	2003
<i>NR2B</i>		2664C>T	否定	Nshiguchi ら	2000
<i>NR2B</i>		366C>G	$p=0.04$	Ohtsuki ら	2001
<i>NR2B</i>		2664C>T	クロザピンの効果と関連	Hong ら	2001
<i>NR2B</i>		-200T>G	$p=0.016$	Miyatake ら ³⁾	2002
<i>NR2B</i>			否定	Williams ら	2002
<i>NR2B</i>		2664C>T	クロザピンの効果と関連	Chiu ら	2003
<i>NR2C</i>			否定	Williams ら	2002
<i>NR2D</i>		否定	Williams ら	2002	
代謝調節型	<i>mGluR2</i>		否定	Joo ら	2001
	<i>mGluR3</i>	1131C>T	$p=0.002$	Marti ら	2002
	<i>mGluR4</i>		否定	Ohtsuki ら	2001
	<i>mGluR7</i>	1536A>T	否定	Bray ら	2000
	<i>mGluR7</i>	1536A>T	否定	Bolonna ら	2001
	<i>mGluR8</i>	-2,846C>T	否定	Bolonna ら	2001

**SNP4=rs1468412(A>T)

**SNP3=rs609239(A>G), SNP4=rs641574(A>G), SNP5=rs659840(A>G)

(positive and negative syndrome scale)で評価した慢性転帰の重症度との間に相関が確認された²⁾(図 1-D)。

NR2B のプロモーター領域にも-200T>G が同定され、有意な関連が報告された³⁾。培養細胞実験で、患者で有意に頻度の高かった対立遺伝子 G をもったプロモーターが、対立遺伝子 T のものより有意に転写活性が低いことが認められた。これらの報告は、2A, 2B サブユニットの発現量を抑制する多型が統合失調症の遺伝的リスクファクターである可能性を示唆した点で、グルタミン酸仮説を支持している。

連鎖研究

これまでに統合失調症で連鎖が報告された染色

体領域は 10 以上の染色体にわたっている。いったん連鎖が示唆された領域が他施設により否定されることも多い。これは統合失調症の異種性によるものとも、多重の統計処理を行う全ゲノムスクランの偶然の偽陽性とも考えられている。したがって、複数の報告で追認された領域は偽陽性の可能性が低いといえる。このような複数の施設が追認した領域から、2002 年にあいついで統合失調症と関連する遺伝子が絞り込まれてきた。これらの遺伝子はそれぞれグルタミン酸の神経伝達に関与する可能性が、期せずして明らかとなった。

染色体 6p は、6p25-24, 6p23-22, 6p21-24 と多数の連鎖が報告されてきた。Straub らは 270 家系 1,425 名を用いて連鎖解析を行い、6p22.3 に連鎖を認めた (LOD 値 2.22)⁴⁾。さらに、6p22 領域の

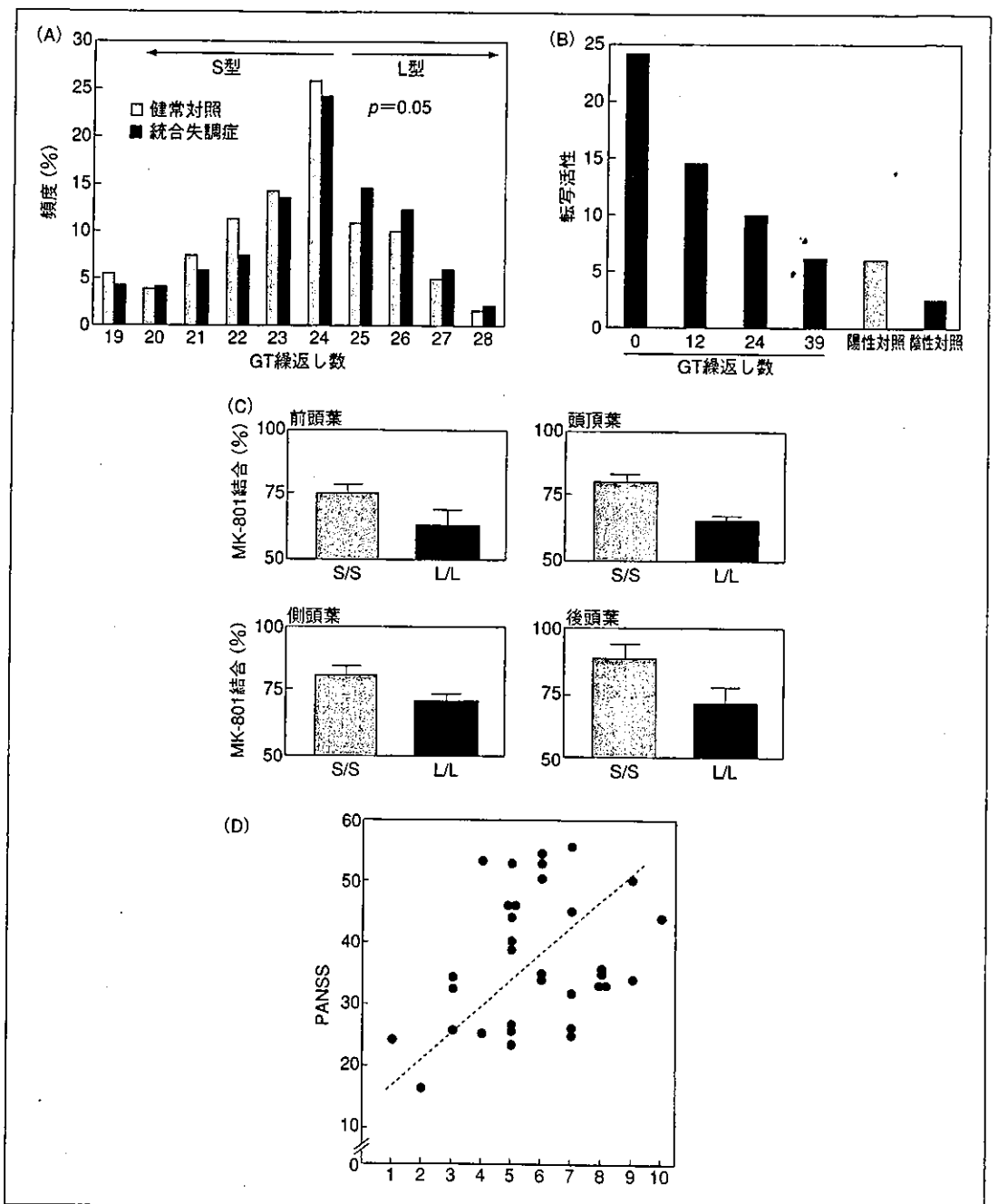


図 1 NMDA R2A サブユニット遺伝子プロモーター上の(GT)n 多型と諸種表現型との関連(文献²⁾より一部改変)
 A: 統合失調症と健常対照における GT 繰返し多型の頻度.
 B: GT リピートの繰返し数と転写活性の関連. 25 回以上の繰返しをまとめて L 型, 24 回以下の繰返しを S 型として解析したところ, 有意に L 型が統合失調症で高い頻度で認められた.
 C: 死後脳における MK-801 結合部位数(NMDA 受容体密度)と(GT)n 遺伝子型との関連. 大脳皮質の各部位で L/L の個体は S/S の個体より低い結合を示した.
 D: PANSS で評価した慢性臨床転帰と(GT)n 遺伝子型との関連. Spearman's $\rho = 0.72$, $p = 0.01$ の正の相関がみられた.

20 の DNA マーカー(繰返し配列多型)を用いて transmission disequilibrium test (TDT; 両親から患児に有意に偏って伝達されたマーカーがあるか検定する)を行ったところ, 単独でもハプロタイプ(複数の多型の組合せ)でも, この領域にある dystrobrevin-binding protein 1 (dysbindin, *DTNBPI*) 上にあるマーカーが有意に統合失調症と関連していた⁴⁾. *DTNBPI* は dystrophin 蛋白複合体のひとつで, 脳内の PSD (postsynaptic densities) 蛋白と相互作用して NMDA 受容体の活性を調節している. なお, 著者らも *DTNBPI* ハプロタイプと統合失調症との関連を日本人サンプルで確認している(投稿中).

染色体 8p は, 5 つの人種にわたって複数のグループから連鎖が報告されてきた. Stefansson らは 110 例の患者を含む 33 家系を用いて連鎖解析を行い, 8p12-21 に有意な連鎖を認めた (LOD 値 2.53)⁵⁾. その領域 (5cM) からマイクロサテライトマーカーを 75 kb 間隔で選び, さらに感受性領域を絞り込んだ結果, neuregulin-1 (*NRG1*) が同定された⁵⁾. *NRG1* は胎生期には神経発達過程の神経細胞遊走に関与しているので, 神経発達異常仮説から興味深い. また, 成人の神経系では NMDA 受容体を含む神経伝達物質受容体の発現や活性化に影響している. Stefansson らはさらに, *NRG1* と *NRG1* 受容体遺伝子である *Erb4* のノックアウトマウスのヘテロ接合体を調べ, 統合失調症との関連を示唆する行動(自発運動量の亢進や prepulse inhibition (PPI) の障害)を報告した⁵⁾. さらに, *NRG1* のヘテロ接合体では NMDA 受容体密度が 16% 低下していることを確認した.

染色体 8p21 からは, もうひとつ統合失調症関連遺伝子が同定されている. これはこれまでのポジショナルクローニングによって絞り込まれた遺伝子と異なり, 遺伝子改変動物の行動解析から統合失調症との関連が示唆された. Miyakawa らは calcineurin (CaN) のノックアウトマウスで, 自発運動量の増大, 社会性行動の減少, PPI の障害など統合失調症関連の行動異常を見出した⁶⁾. その結果に基づいてヒト DNA の遺伝子解析を行って統合失調症との関連が示された⁷⁾. 興味深いことに, CaN の 4 つのサブユニット, CaN 結合蛋白 7 つ, 機能

的に CaN と共役する蛋白 5 つが, これまでに連鎖が示唆された染色体座位にそれぞれ一致して存在しているという⁷⁾. それらのなかで, 多施設から連鎖の報告が出ている染色体領域にのっているサブユニット遺伝子 *PPP3R1* (calcineurin B subunit, 染色体 2p14), *PPP3CA* (calcineurin A α subunit, 染色体 4q24), *PPP3CC* (calcineurin A β subunit, 染色体 8p21.3) と結合蛋白遺伝子 *FKBP5* (FK506 binding protein 5, 染色体 6p21.31) について 12 例の患者を解析し, 同定した SNP についてアメリカ人の 210 組のトリオ(罹患者とその両親)を用いて TDT を行った結果, *PPP3CC* で有意な関連が認められた⁷⁾. 著者らも CaN 関連遺伝子を日本人統合失調症で網羅的に調べており, 現在までに染色体 8p 上の CaN 関連遺伝子の関与を確認している(未発表). CaN のノックアウトマウスでは NMDA 受容体を介した海馬の長期抑制が低下しており, CaN もグルタミン酸神経系に機能的関連があると考えられる.

染色体 13q22-34 も複数のグループが連鎖を報告している. Chumakov らはフランス系カナダ人の統合失調症 213 例と対照 241 例を用いて, 13q34 から 5 Mb にわたって 191 個の SNP について関連地図を作成した⁸⁾. この領域に, 統合失調症と関連を示した SNP の連続が 65 kb と 1,400 kb にわたる 2 つの領域 Bin A, Bin B として検出された. 183 名ずつのロシア人患者・対照を用いて再検した結果, 65 kb の Bin A における 2 つの SNP がふたたび有意な関連を示した. この Bin A から *G72* 遺伝子が同定された⁸⁾. Yeast two hybrid 法により *G72* は D-amino acid oxidase (DAAO) と相互作用をすることが判明した. DAAO は D-セリンの酸化酵素であるが, D-セリンは脳内に内在している⁹⁾. NMDA 受容体をアロステリックに活性化する. Chumakov らはさらに, *DAAO* の 4 つの SNP も統合失調症と関連していることを報告した. *G72* と *DAAO* のリスク SNP を同時にもった個体のオッズ比 (5.02) はそれぞれを単独にもった個体のオッズ比 (1.89 および 1.04) の相加値を上まわっていた. このことから, 12q24 にコードされている *DAAO* 遺伝子と, 13q34 の *G72* 遺伝子が相乗的に作用して統合失調症発症に寄与していると解釈さ

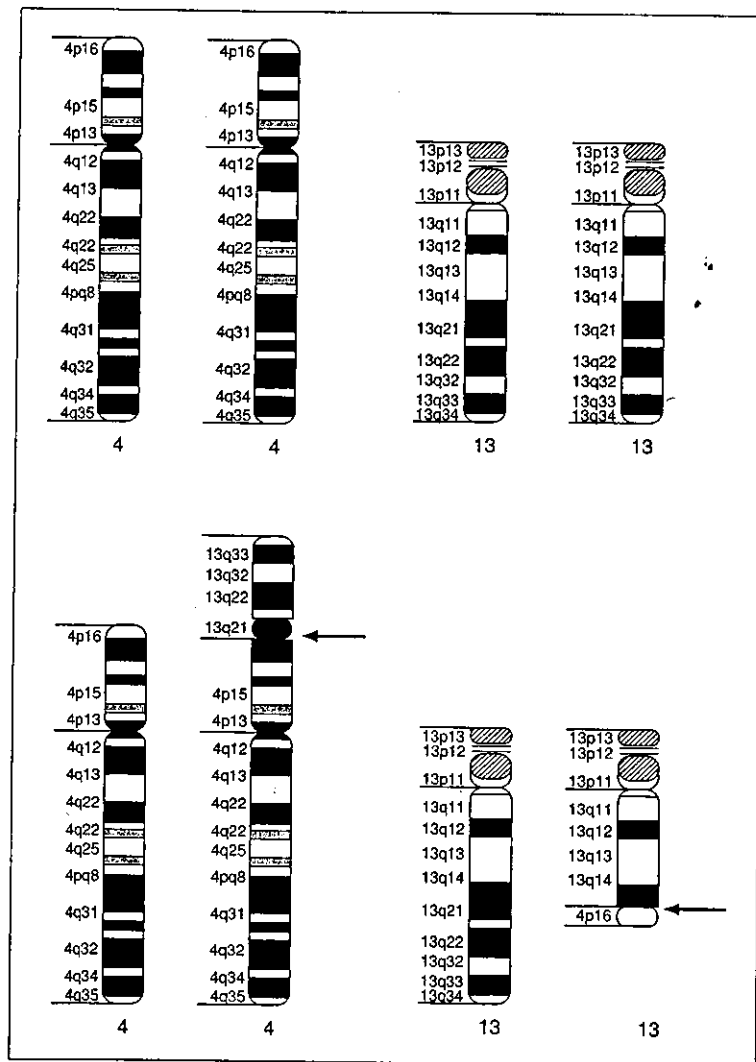


図2 均衡転座 $t(4:13)(p16.1, q21.31)$ の統合失調症の症例にみられた染色体の模式図(投稿中)
 Gバンド染色により第4染色体短腕と第13染色体長腕の均衡転座が同定された。上段は正常な染色体、下段が転座症例。矢印が転座部位。

れ、個別遺伝子の独立した効果だけでなくゲノム全体での相互作用(エピスタティックな効果)も関与していることが推察された⁸⁾。13q22-34は双極性感情障害でも連鎖が報告されていたが、最近G72について2つの独立した双極性感情障害の家系グループを用いてTDTとハプロタイプ解析が行われ、両グループで関連が確認されている¹⁰⁾。

細胞遺伝学的研究

統合失調症の細胞遺伝学的研究で現在もっとも注目されているものは第1染色体長腕と第11染

染色体長腕の均衡転座 $t(1:11)(q42.1, q14.3)$ 家系において、第1染色体転座断面に同定された未知の遺伝子 *DISC1* (Disrupted in Schizophrenia 1)である¹¹⁾。スコットランドの77名からなる大家系で34名が転座をもち、転座保有者34名中16名が統合失調症、気分障害などの精神疾患に罹患していたが、転座非保有者43名からは精神疾患が5名しか確認されなかった。そこで、転座によって断裂された遺伝子が精神疾患の病態に関与する可能性が考えられた。11q14.3には遺伝子が同定されなかったが、1q42.1には854アミノ酸をコードする

遺伝子 *DISC1* が同定され、転座によって C 末端側が失われることがわかった¹¹⁾。Ozeki らは yeast two hybrid 法を用いて、*DISC1* が各種の細胞骨格の関連因子と相互作用があることを同定した¹²⁾。さらに、スコットランドの家系と同様に C 末端側を欠損させた *DISC1* は培養神経細胞の神経突起の成長を障害した。その後、同様の結果があいついで追認され^{13,14)}、*DISC1* が神経発達に重要な役割を担っていることが示され、神経発達障害仮説の観点からも興味をもたれている。

染色体 22q11 は、この領域の欠失が顔面や心臓の奇形を伴う VCSF (velo-cardio-facial syndrome) をきたす。VCSF の 20~30% が統合失調症や類縁精神疾患を発症することから、22q11 には統合失調症の感受性遺伝子が存在すると考えられていた。また、複数の施設もこの領域に連鎖を報告していた。Liu らは、VCSF で欠失が共通しやすい 22q11 の 1.5 Mb の領域について、18 の SNP を用いて TDT と HRR (haplotype-based haplotype relative risk) 解析を行った結果、proline dehydrogenase (*PRODH*) の SNP およびハプロタイプが有意に統合失調症に関連していると報告した¹⁵⁾。この *PRODH* はプロリンを Δ 1-ピロリン-5-カルボン酸 (P5C) に変換し、P5C はさらに還元されてグルタミン酸になる。

著者らも、第 4 染色体短腕と第 13 染色体長腕の均衡転座 t(4:13)(p16.1, q21.31) の統合失調症を同定した (投稿中) (図 2)。13q21 は連鎖が報告されている部位であり、4p16 は Wafra 症候群 (若年性糖尿病、両側進行性視神経萎縮を主徴とする常染色体劣性遺伝疾患であるが、6 割に精神障害が合併する) の遺伝子 *WFS1* の座位でもあるため、現在著者らは、双方の転座断端に位置している遺伝子を検索中である。

おわりに

連鎖解析によって絞り込まれた neuregulin-1, dysbindin, G72, proline dehydrogenase といった遺伝子、および動物実験から端緒についた CaN 系遺伝子群が、間接的にせよグルタミン酸神経伝達に影響を与える可能性が示され、一方でグルタミン酸神経伝達に直接関与する候補遺伝子解析でも“グルタミン酸仮説”を支持する結果が集積しつつある。また、*DISC1* の機能解析が進むにつれ、この分子の機能障害が“神経発達障害仮説”に合致する病態を構成する可能性が示唆されてきた。近年の分子生物学的研究の成果は期せずして、従来から提唱されていた病態仮説の妥当性を支持しているようである。

文献

- 1) 有波忠雄 : *Mol. Med.*, **40** : 262-269, 2003.
- 2) Itokawa, M. et al. : *Pharmacogenetics*, **13** : 271-278, 2003.
- 3) Miyatake, R. et al. : *Mol. Psychiatry*, **7** : 1101-1106, 2002.
- 4) Straub, R. E. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, **71** : 337-348, 2002.
- 5) Stefansson, H. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, **71** : 877-892, 2002.
- 6) Miyakawa, T. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100** : 8987-8992, 2003.
- 7) Gerber, D. J. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100** : 8993-8998, 2003.
- 8) Chumakov, I. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99** : 13675-13680, 2002.
- 9) Hashimoto, A. et al. : *FEBS Lett.*, **296** : 33-36, 1992.
- 10) Hattori, E. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, **72** : 1131-1140, 2003.
- 11) Millar, J. K. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **9** : 1415-1423, 2000.
- 12) Ozeki, Y. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100** : 289-294, 2003.
- 13) Morris, J. A. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, **12** : 1591-1608, 2003.
- 14) Miyoshi, K. et al. : *Mol. Psychiatry*, **8** : 685-694, 2003.
- 15) Liu, H. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99** : 3717-3722, 2002.

動物モデルを用いた気分障害標的遺伝子探索

吉川武男* 中谷紀章*

◆はじめに

気分障害の責任遺伝子を探索する場合、疾患の病態生理仮説にもとづかない未知のものを同定するひとつの方法は、ヒト家系サンプルの連鎖解析から出発し、遺伝的に絞り込んでいくアプローチである。しかし、この方法で単一遺伝子まで絞り込むには膨大な作業を必要とし、一般的には困難といわざるを得ない。そこでわれわれは、動物を用いて気分障害に関連のある遺伝子をポジショナルに同定する方法を探っている。抗うつ薬のスクリーニングでは、強制水泳テスト、尾懸垂テストでの無動時間がパラメーターとして用いられる。われわれは、無動時間を制御している遺伝子座を求めため、C3H/He (C3) および C57/BL6 (B6) マウス系統を用いて QTL (quantitative trait loci) 解析をおこない、複数の候補染色体部位を決定した¹⁾。今回は、それらの染色体領域に存在する責任遺伝子の手がかりを得るため、DNA マイクロアレイによる解析をおこなった。

◆DNA マイクロアレイ解析

強制水泳テスト、尾懸垂テストともに単回、短時間、急性実験であるので、C3 および B6 マウス間で無動時間の差異に関係している遺伝子は、もともとの定常状態で発現量に差があるか、あるいはアミノ酸の置換がはじめからあって、機能に差が生じているものと考えられる。前者の可能性にもとづいて、無処置の C3 および B6 マウスから前頭葉を取り出し、遺伝子発現の変化を Affymetrix 社の GeneChip (約 36,000 遺伝子含有) を

用いて網羅的に調べた。上記の二つのマウス系統で、発現量が2倍以上異なり、かつ無動時間の QTL¹⁾ にコードされている遺伝子を表1に示す。これらの遺伝子の発現量に関しては、定量的 RT-PCR にて二系統間の有意差を確認した。

表1にあげた14個の遺伝子のうち、われわれは adenylyl cyclase-associated CAP protein 1 (Cap1) に着目した。なぜなら、Cap1はアクチン代謝に関与することが知られているが、われわれは以前ラット学習性無力モデルの GeneChip 解析でも、同じくアクチン代謝に関与する LIM domain kinase 1 (Limk1) という遺伝子が、前頭葉で最も顕著に発現が低下(約1/10)したのを見出したからである²⁾。具体的には、Cap1はつぎの4点でアクチンの代謝回転を調節している³⁾: ① Mg-ATP-アクチン単量体 (Gアクチン) がアクチンフィラメント (Fアクチン) の反やじり端 (barbed end, プラス端) に付加するのを促進する, ② アクチンフィラメントのやじり端 (pointed end, マイナス端) からアクチン単量体 (ADP-アクチン) が解離するのを促進する, ③ コフィリンという遺伝子は、解離した ADP-アクチンに結合して ATP-アクチンに変換されるのを抑制するが、Cap1はそのコフィリンの作用を阻害する, ④ ADP-アクチンから ATP-アクチンへの塩基変換反応そのものを促進する。

また、Limk1に関しては、コフィリンをリン酸化してコフィリンの作用を阻害することが知られている。

なお、学習性無力ラットの前頭葉では、コフィリンの遺伝子発現は有意に上昇していた。また興味あること

表 1. C3, B6 マウス系統間の前頭葉で発現量が 2 倍以上異なる遺伝子

Signal Log Ratio (C3/B6)	Gene name (criteria=2 ¹ =2)	マウス染色体部位	ヒト染色体の相当する部位
3.0	similar to hook2 protein (endocytosis)	8 (84.3 Mb)	19p13.1
2.8	guanine nucleotide binding protein, β 1	4 (152.1 Mb)	1p36.33
2.5	CD52 antigen	4 (132.2 Mb)	—
1.8	adenylyl cyclase-associated CAP protein 1 (Cap 1)	4 (120.9 Mb)	1p34.2
1.7	caspase 9	4 (140 Mb)	1p26.21
1.6	RIKEN cDNA 5730434I03 gene	4	—
1.3	RIKEN cDNA 9130022E05 gene (ATP binding)	4	4q22
1.2	lipoprotein lipase (fatty acid metabolism)	8 (67.9 Mb)	8p21.3
1.1	RIKEN cDNA 2010003B14 gene (Tm7sf3, transmembrane 7 superfamily member 3)	6 (147 Mb)	12p11.23
-1.1	RIKEN cDNA 2410112O06 gene (Mtif2, mitochondrial translational initiation factor 2)	11 (29.7 Mb)	2p16.1
-1.2	nuclear factor 1/X (transcription factor)	8 (84.0 Mb)	19p13.2
-1.7	RIKEN cDNA 2310022M17 gene	11	5
-1.9	cysteine-rich motor neuron 1	17 (76.8 Mb)	2p22.2
-2.7	integral membrane protein 2B (ATP binding, neurogenesis)	14 (63.8 Mb)	13q14.2

に、B6 マウス系統では C3 に比べて β -アクチン遺伝子の発現が有意に上昇していた。

◆考察

マウスを用いた強制水泳テスト、尾懸垂テストでの無動時間、およびラット学習性無力に関係する遺伝子の探索から、Cap 1, Limk 1, コフィリン各遺伝子の発現変化が検出されたが、それらの結果から、うつ脆弱性、あるいはうつ状態の生物学的基盤に、前頭葉でのアクチンの G-F 変換が低下している可能性が示唆された。これまで、うつ病の脳形態研究では、白質・ミエリンの異常⁹⁾が報告されることが多かったが、細胞骨格の動的代謝も検討に値すると考えられる。現在われわれは、アクチン代謝を調節するさまざまな分子の抗うつ薬に対する反応を調べている。

文献

- 1) Yoshikawa T, Watanabe A, Ishitsuka Y *et al* : Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for "behavioral despair" in mice. *Genome Res* 12 : 357-366, 2002
- 2) Nakatani N, Aburatani H, Nishimura K *et al* : Comprehensive expression analysis of a rat depression model. *The Pharmacogenomics J*, in press
- 3) Moriyama K, Yahara I : Human CAP 1 is a key factor in the recycling of cofilin and actin for rapid actin turnover. *J Cell Sci* 115 : 1591-1601, 2002
- 4) Thomas AJ, O'Brien JT, Barber R *et al* : A neuropathological study for periventricular white matter hyperintensities in major depression. *J Affect Disord* 76 : 49-54, 2003

うつ病の病態動物モデル

中谷 紀章 ・ 吉川 武男

■ はじめに

1994年にアメリカ精神医学会が刊行したDSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder)によると、「うつ病」は「躁うつ病」と共に気分障害 mood disorderの一つとされる。気分障害は家系・双子・養子を対象とした疫学的研究、あるいは連鎖解析^{*1)}や関連研究^{*2)}などの分子遺伝学的研究から、遺伝的要因が関与する疾患とされている。欧米諸国ではうつ病の罹患率は20%と高く、わが国でも6%程度とされるが、医療機関にかかっていない潜在的な患者を考慮すると、その割合はさらに高まるのではないかと考えられている。

しかし、精神疾患は他の身体疾患と異なり、特異的検査データや臨床的なマーカーがないことから診断および成因の研究は困難である。これまで生物学的マーカーの探索が行われ、現在ではデキサメサゾン抑制試験が評価されている。うつ病患者では血中コルチゾール濃度が高いことが指摘され、デキサメサゾン投与後のコルチゾール、ACTH(副腎皮質刺激ホルモン)がうつ病患者では抑制されないことが知られている。また、治療薬という点では、現在使用されている抗うつ薬は50年以上も前に抗ヒスタミン薬の開発過程から偶然に発見されたものであり、まだ真の作用機序の解明には至っていない。こういった現状を考えると、一刻も早い疾患原因の解明と新規治療薬の開発が望まれるのだが、ヒト材料を扱う研究では、倫理的配慮、体質・環境の個人差など難しい問題があり、それを補うのが動物モデルの利用である。この章では、新規治療薬の開発に欠かせない動物モデルについて、最近の知見を踏まえ概説する。

モデルの種類

うつ病の詳しい症状説明は他の章に譲るが、うつ病の精神症状は、気分の障害(抑うつ気分・不安・絶望感)、意欲の障害(自ら「やらなければいけない」と考えているが気力がでない)、思考の障害(考えがスムーズに進まず、物事を決められない)に大きく分けられる。Mckinney と Bunney

はうつ病モデル動物の基準として下記の項目をあげている¹⁾。

- 1) 指標とする表現型がヒトでの表現型に類似していること
- 2) 客観的に観察できる行動の変化が存在すること
- 3) 観察される行動変化が、抗うつ薬あるいは電気痙攣療法などのヒトにおいて効果がみられる治療法によって回復すること
- 4) 異なる研究者により再現可能であること

表²⁾に示すように、これまで報告されている動物モデルでは、前述したうつ病症状のいずれかに焦点を当ててモデルとしている。そもそもヒトの認知行動をヒト以外の動物に当てはめ得るのかという意見もあるが、現存する抗うつ薬はこれら動物モデルを利用してスクリーニングされているのである。以下に具体的なモデルについて概説する。

■ 学習性無力モデル Learned helplessness (LH)

最初はイヌを用いてつくられたモデルであり³⁾、現在では齧歯類、中でも多くはラットを用いて行われている。方法としては様々なものがあるが、大きくレバー押しとシャトルボックスの2つに分けられる。逃れられない状況下で最初床からの電気刺激を繰り返し与え、次にレバーを押すか、あるいは移動すれば電気刺激を回避できるような状態にしてやると、約50%の割合で回避しないものが出てくる。これは、逃れられる状況になっても回避が無力であることを学習したものと解釈されている。この表現型は数週間持続し⁴⁾、抗うつ薬投与により回復し⁵⁾、抗精神病薬や抗不安薬は無効である⁶⁾ことから、新規抗うつ薬の開発に使われているが、実験者により表現型の判断基準が異なること、細かい条件設定が必要などの問題があり、最近では効率を上げるプロトコールが報告された⁷⁾。マウスでは系統により抗うつ薬の応答性が異なることが知られており、

*1) 連鎖解析: 同一染色体上で近接して複数の遺伝子座の遺伝子またはDNA配列が存在するため、ひとまとまりになって遺伝していく傾向を連鎖といい、この連鎖を利用して特定の表現型に関係する遺伝子領域を調べる方法。

*2) 関連研究: ある遺伝子変異、遺伝子座が患者で増えているかどうかを統計的に調べる方法。

BALB/c や c57 BL/6 などの系統では、抗うつ薬の効果が見られないとされている⁸⁾。

■ 慢性軽度ストレスモデル

このモデルは Willner らによって開発された⁹⁾。餌や水を枯渇させたり、一日中光をあてたり、ケージを傾けたり、個別飼育、あるいは同居させる動物を頻りに交代させたりと、軽度なストレスを数週間繰り返し動物に与えると、通常なら好んで飲む砂糖水を飲まなくなったり、体重および睡眠の減少、性行動の減少など、行動の変化が現れる。新規抗うつ薬開発に有用なのは砂糖水の消費量を指標とした実験で、臨床で有効な抗うつ薬は三環型・非三環型とも表現型を回復させることが知られている。その回復に要する時間はゆっくりとしており、臨床で見られる抗うつ薬の効果発現と類似している点は興味深い¹⁰⁾。また、このモデルも系統差があることは注意すべきである¹¹⁾。

■ 嗅球摘出モデル

ラットの両側の嗅球を摘出するとマウスに対する攻撃性の増加、新しい環境下での過活動、受動回避学習の欠損などを含む持続した行動の変化がおこる。これらの表現型は抗うつ薬の単回投与では回復されないが反復投与により改善が見られることから、臨床での抗うつ薬の効果発現と類似した作用がみられるとされる¹²⁾が、詳しい機序はまだわかってはいない。これまで報告されている所見は、前頭葉でのセロトニン神経系の亢進¹³⁾、ストレスによるセロトニン代謝の減少¹⁴⁾、オープンフィールドなどの新しい環境下での活動性の上昇と線条体でのグルタミン酸放出の亢進¹⁵⁾、コルチコトロピン放出因子¹⁶⁾、ソマトスタチン¹⁶⁾、ニューロペプチド Y¹⁷⁾の減少などである。

■ Porsolt の強制水泳テスト Forced swim test (FST)

このテストは現在も抗うつ薬候補化合物のスクリーニングに利用されているもので、1977年に Porsolt らによって提唱された¹⁸⁾。水を張ったシリンダー内にラットもしくはマウスを入れ、強制的に泳がせる。このときに出現する無動(泳ぐのをやめて水面上に顔を出している状態)を絶望状態ととらえ、一定時間内の無動時間を積算する。この無動時間は抗うつ薬投与や電気痙攣により短縮するが、抗不安薬投与には影響されない。しかし、このテストでは、選択的セロトニン再取り込み阻害剤 selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) で効果が見られないことが明らかにされ¹⁹⁾、Lucki らはシリンダーの長さを長くしたり、行動を climbing, swimming, immobility の3つに分けたりと、装置と行動評価を改善することで SSRI の薬効を確認することを可能にした^{20,21)}。

■ 尾懸垂テスト Tail suspension test (TST)

FST 同様抗うつ薬のスクリーニングに利用されている

抗うつ薬に用いられる動物モデルの特徴

モデル	特徴
強制水泳テスト	水を張った容器の中で動物を泳がせ、動かなくなった状態を絶望状態と考える。抗うつ薬は動物が泳いでいる時間を長くする。
尾懸垂テスト	動物の尾をつるしたときに動いている時間を抗うつ薬は長くする。動かなくなった状態を絶望状態と考える。
学習性無力	動物をフットショックから逃れられない状態下に長い間おいた後、逃げる意志があればフットショックから逃れられる状態下におく。抗うつ薬はフットショックから逃げるまでの時間や失敗回数を減少させる。
慢性軽度ストレス	動物を繰り返し様々なストレス状態下(低温・明暗サイクルの変動・フットショック・拘束など)におくと、シヨ糖要求性や性的行動が減少する。しかし、マウスでは再現性を得るのは難しい。
社会的ストレス	動物を様々な社会的ストレス状態下(優位なオスの近くにおいたり、天敵の匂いをかがせるなど)におくと、行動異常がおこる。しかし、マウスでは再現性を得るのは難しい。
嗅球摘出	嗅球を摘出すると行動異常をおこし、抗うつ薬で改善する。
早期ストレス	生まれてすぐに母親から分離すると行動異常をおこし、成体になっても視床下部-下垂体-副腎の系が亢進する。表現型のいくつかは抗うつ薬で改善することがある。
恐怖条件付け	電気刺激と音(手がかり)もしくはケージ(文脈)などの組み合わせを経験すると、手がかりもしくは文脈だけで不安様の反応を示す。

(Nestler²⁾らを改変)

テストで、ラットもしくはマウスの尾を固定し、一定時間吊り下げたときの無動時間を測定する。多くのラボでは粘着テープなどで尾を吊るしており、我々もそれを採用している。抗うつ薬の急性投与により無動時間が短縮し、SSRI でもその効果が見られることが知られている²²⁾。

■ コンジェニック動物

最近、TST や FST において、先天的にうつ状態を示すラットを約 40 世代にわたりかけ合わせて作ったコンジェニック LH ラットが報告された²³⁾。この動物は容易に LH 状態になるが、抗うつ薬の効果は見られない。また、通常ストレスを受けると視床下部よりコルチコステロンが分泌され、海馬での BDNF (brain-derived neurotrophic factor) の発現が減少するが、この動物では BDNF は減少せず、むしろ増える傾向にあった。しかし、血中のコルチコステロンはストレス後に上昇しており、これらのことは、この動物ではコルチコステロン-BDNF のカップリングがおこっておらず、ある条件下での適応反応が欠失しているといえる。

マウスの場合には TST において無力状態(LH)の重度な CD1 マウスと軽度な CD1 マウスをそれぞれ 10 世代以上掛け合わせたコンジェニックマウスが報告された²⁴⁾。これらのマウスは非 LH マウスと比べると、TST・FST と

長い無動時間を示し、もともとの血中コルチコステロン濃度も高く、海馬でのセロトニン代謝が低下していた。また、行動における表現型はSSRIを含む抗うつ薬で改善し、このマウスの表現型を詳しく解析することで、うつ病のメカニズムの解明に近づけるのではないかと考えられる。

■ むすび

これまで、現在用いられているうつ病の動物モデルについて述べてきた。紙面の都合上紹介できなかったが、遺伝子改変した動物がうつ病の表現型を示す、もしくは抗うつ薬と類似した作用を示すことも知られている²⁵⁾。しかし、うつ病が単一遺伝子疾患でないことを考慮に入れると、遺伝子改変動物では個々の遺伝子の個体に及ぼす影響はみられるものの、本当の意味での病態モデルには未だ遠いのが現

状である。諸種モデル動物の解析を単なる薬理学的実験だけにとどめず、QTL (quantitative trait loci) 解析^{26)*3)}、DNA マイクロアレイ^{27)*4)}やプロテオミクス^{*5)}といった多次元データを一度に扱う実験を試みることにより、うつ病の病態イメージが浮かび上るのではないかと考えられる。

*3) QTL 解析：身長や体重などの量的形質を支配している遺伝子座を求める方法。

*4) DNA マイクロアレイ：基盤上にDNA配列を固定させたデバイスを用い、載せるDNAの種類によってcDNAアレイ、オリゴDNAアレイと呼ばれることもある。

*5) プロテオミクス：生物が遺伝情報を基につくるタンパク質全体(プロテオーム)を大規模に解析する方法。現在では遺伝子発現情報をタンパク質レベルで定量解析する「発現プロテオミクス」と、相互作用を基にタンパク質機能を理解することをめざす「機能プロテオミクス」などに分けられる。

文 献

- 1) McKiney WTJ, Bunney WEJ. Animal model of depression. I. Review of evidence : implications for research. *Arch Gen Psychiat* 1969 ; 21 : 240-8.
- 2) Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, et al. Neurobiology of Depression. *Neuron* 2002 ; 34 : 13-25.
- 3) Overmier JB, Seligman ME. Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance responding. *J Comp Physiol Psychol* 1967 ; 63 : 28-33.
- 4) Musty RE, Jordan MP, Leox RH. Criterion for learned helplessness in the rat : a redefinition. *Pharmacol Biochem Behav* 1990 ; 36 : 734-44.
- 5) Geoffroy M, Scheel-Kruger J, Christensen AV. Effect of imipramine in the "learned helplessness" model of depression in rats is not mimicked by combinations of specific reuptake inhibitors and scopolamine. *Psychopharmacology* 1990 ; 101 : 371-5.
- 6) Drugan RC, Maier SF, Skolnick P, et al. An anxiogenic benzodiazepine receptor ligand induces learned helplessness. *Eur J Pharmacol* 1985 ; 113 : 453-7.
- 7) Vollmayr B, Henn FA. Learned helplessness in the rat : improvements in validity and reliability. *Brain Res Protocols* 2001 ; 8 : 1-7.
- 8) Crawley JN. Emotional behaviors : animal models of psychiatric diseases. In : *What's wrong with my mouse? : behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice*. Chichester : Wiley ; 2000. p. 179-206.
- 9) Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia : a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 1992 ; 16 : 525-34.
- 10) Papp M, Moryl E, Willner P. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *Eur J Pharmacol* 1996 ; 296 : 129-36.
- 11) Pucilowski O, Overstreet DH, Rezvan AH, et al. Chronic mild stress-induced anhedonia : greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiol Behav* 1993 ; 54 : 1215-20.
- 12) Kelly JP, Wrynn AS, Leonard BE. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression : An update. *Pharmacol Ther* 1997 ; 74 : 299-316.
- 13) Zhou D, Grecksch G, Becker A, et al. Serotonergic hyperinnervation of the frontal cortex in an animal model of depression, bulbectomized rat. *J Neurosci Res* 1998 ; 54 : 109-16.
- 14) Connor TJ, Song C, Leonard BE, et al. Stress-induced alterations in serotonergic activity in an animal model of depression. *Neuroreport* 1999 ; 10 : 523-8.
- 15) Ho YJ, Chang YC, Liu TM, et al. Striatal glutamate release during novelty exposure-induced hyperactivity in olfactory bulbectomized rats. *Neurosci Lett* 2000 ; 287 : 117-20.
- 16) Bissette G. Effects of sertraline on regional neuropeptide concentrations in olfactory bulbectomized rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2001 ; 69 : 269-81.
- 17) Homes PV, Davis RC, Masini CV, et al. Effects of olfactory bulbectomy on neuropeptide gene expression in the rat olfactory/limbic system. *Neuroscience* 1998 ; 8 : 587-96.
- 18) Porsolt R, LePichon M, Jalfre M. Depression : a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977 ; 266 : 730-2.
- 19) Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol* 1997 ; 8 : 523-32.
- 20) Cryan JF, Lucki I. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine 2C receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 ; 295 : 1120-6.
- 21) Cryan JF, Page ME. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *Eur J Pharmacol* 2002 ; 436 : 197-205.
- 22) Porsolt RD, Lenegre A. Behavioral models of depression. In : Elliot JM, Heal DJ, Marsden CA, editors. *Experimental approaches to anxiety and depression*. Chichester : Wiley ; 1992. p. 73-87.
- 23) Vollmayr B, Faust H, Lewicka S, et al. Brain-derived-neurotrophic-factor(BDNF)stress response in rats bred for learned helplessness. *Mol Psychiat* 2001 ; 6 : 471-4.
- 24) Yacoubi MEI, Bouali S, Popa D, et al. Behavioral neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 100 : 6227-32.
- 25) Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents : recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 2002 ; 23 : 238-45.
- 26) Yoshikawa T, Watanabe A, Ishitsuka Y, et al. Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for "behavioral despair" in mice. *Genome Res* 2002 ; 12 : 357-66.
- 27) Nakatani N, Yoshikawa T. Approach for identifying depression-related genes using animal models. *Jpn J Neuropsychopharmacol* 2003 ; 23 : 161-9.

気分障害において注目される 遺伝子

服部栄治*§ 吉川武男*

KEY WORDS

- ・双極性障害
- ・感受性遺伝子
- ・G72/G30
- ・BDNF
- ・XBP1

SUMMARY

気分障害のなかでとくに遺伝傾向の強い双極性障害の感受性遺伝子として、G72/G30、BDNF、XBP1、その他が最近の研究成果から有力視されている。これらはそれぞれポジショナル法、候補遺伝子研究、系統的発現研究という異なるアプローチにより着目された遺伝子であり、統合失調症研究においても同様の手法により、さらに多くの遺伝子が注目されるに至っている。こうした成果が精神疾患の一次原因や病態代謝経路の解明に寄与することが期待される。またG72/G30は統合失調症と、BDNFは強迫性障害とも関連することが報告されており、異なる診断カテゴリー間の生物学的連続性が遺伝子レベルで示されつつあるといえる。

はじめに

気分障害は、統合失調症、糖尿病、喘息などとともに複雑な遺伝様式を示す比較的頻度の高い疾患のひとつである。一部の限られた家系を除いて、その病因には弱い効果をもった複数の遺伝子群および環境の相互作用が関与していると考えられている。病因に関与する遺伝子(感受性遺伝子)をつきとめるべく、複数のアプローチが試みられている。現在用いられている手法は以下に大別されるが、実際にはこれらを複合的に用いた研究も多い。

1) ポジショナル法

全ゲノムの系統的解析により感受性遺伝子の染色体上の部位を求める手法である。連鎖、連鎖不平衡という現象を利用して原因変異と多型マーカーの近さを検出す

る。前者は家系内における数世代の組換えを、後者は集団における数十～数百世代にわたる組換えの結果をそれぞれ反映している。このため、全ゲノムのスクリーニング(ゲノムスキャン)には連鎖解析をおこない、有意な領域からさらに原因変異を狭い範囲に絞り込んでいく際には、連鎖不平衡解析をおこなうのが適している。ジェノタイピング技術の進歩により、連鎖不平衡解析によるゲノムスキャンも最近可能となりつつあり、特殊な集団についてはすでに報告もあるが、以下に紹介する研究のなかには含めない。

2) 候補遺伝子研究

神経生物学、神経薬理学的に関与が示唆されている遺伝子と疾患の関連を調べる手法である。これは特定遺伝子座というごく限定された領域の連鎖不平衡解析にほか

表 1. 統合失調症および双極性障害研究で注目される遺伝子

方法	統合失調症	双極性障害
ポジショナル法	<i>NRG1</i> (8p12), <i>DTNBP1</i> (6p22), <i>G72/G30</i> (13q33)	<i>G72/G30</i> (13q33)
候補遺伝子研究	<i>COMT</i> (22q11), <i>DRD3</i> (3q13), <i>HTR2A</i> (13q14)	<i>BDNF</i> (11p14)
系統的発現研究	<i>RGS4</i> (1q23)	<i>XBP1</i> (22q12)

括弧内は染色体上の部位を示す。

NRG1 : neuregulin1, *DTNBP1* : dysbindin, *COMT* : catechol-O-methyltransferase, *DRD3* : dopamine receptor D 3, *HTR2A* : 5-hydroxy-tryptamine (serotonin) receptor 2 A, *BDNF* : brain-derived neurotrophic factor, *RGS4* : regulator of G-protein signalling 4, *XBP1* : X-box binding protein 1

(筆者作成)

ならない。

3) 系統的発現研究を手がかりとした方法

統合失調症および双極性障害研究において、これら3つのアプローチにより注目されるに至った遺伝子を表1に示す。まず統合失調症研究においては、2002年にゲノムスキャンにおいて有意であった染色体領域から次々と関連を示す遺伝子 (*NRG1*¹⁾, *DTNBP1*²⁾, *G72/G30*³⁾) が報告された。これらの遺伝子については複数の集団について追試がおこなわれ、すべてではないにせよ多くが関連を支持している。また、候補遺伝子研究においては、大規模サンプル研究やメタアナリシス (多くの報告を統合して評価するもの) により *COMT*, *DRD3*, *HTR2A* が注目されている⁴⁾。系統的発現研究を手がかりとした例としては *RGS4*⁵⁾ があげられる。

気分障害の遺伝子研究は、統合失調症のそれにくらべやや遅れ気味である。とはいえ、それぞれのアプローチがやはり有望な成果を生み出している。以下にわれわれの結果も含めて代表的なものについて述べる。気分障害としてはおもに双極性障害を扱う。

1. ポジショナル法 *G72/G30*

ゲノムスキャンについてのメタアナリシスのうち、Seguradoら⁶⁾によるものでは双極性障害について有意な染色体領域は見出されなかったが、BadnerとGershon⁷⁾によるものでは、染色体13番長腕と22番長腕が統合失調症、双極性障害双方で有意であった。

Chumakovら⁸⁾は、染色体13番長腕の5Mbの領域について多数の一塩基多型 (SNP) を系統的にタイピングし、統合失調症と有意に関連する二つのSNPを見

出した。彼らは、これらSNPの部位に霊長類特有の2遺伝子 *G72/G30* が相補鎖上に向き合って存在することを明らかにした (図1)¹⁰⁾。さらに *G72* 蛋白はD-amino acid oxidase (DAAO) 蛋白と結合し、DAAOと *G72* の遺伝子型のあいだに統計学的な相互作用があることを示した。DAAOはNMDA型グルタミン酸受容体のアゴニストD-セリンの代謝酵素であることから、彼らは、統合失調症患者では *G72* の活性上昇がNMDA型受容体を介したグルタミン酸ニューロンの活動を低下させるという仮説を提唱した。一方、*G30* については、*in vitro* では蛋白への翻訳を確認できなかった。

われわれ¹⁰⁾は、*G72/G30* 遺伝子と双極性障害との関連を調べるため、おもに白人からなる二つの家系サンプル (22, 152家系) を解析した。このうち染色体13番長腕での連鎖がより有意な家系シリーズでは、複数のSNPが疾患と関連していた ($p=0.00077\sim 0.041$)。ハプロタイプ解析では双方のデータセットで有意な関連が認められ ($p=0.0004, 0.008$)、共通の特定ハプロタイプ (頻度25~30%) がより頻繁に患者に伝達されていた。さらに特殊なハプロタイプ解析をおこなったところ、関連の95%信頼区間は *G72/G30* 遺伝子を包含する約78kbの領域に相当していた (図1)¹⁰⁾。Chenら¹¹⁾もごく最近のケースコントロール研究 (患者132人、コントロール113人) により、この遺伝子座と双極性障害の関連を支持した。ただし関連を示すSNPアレルとハプロタイプはわれわれの報告したものと異なっていた。

G72/G30 は、ポジショナル法により統合失調症と双極性障害双方との関連がそれぞれ独立して示された最初の例として注目に値する。しかし、どちらにおいても原

染色体 13 番長腕 13q33

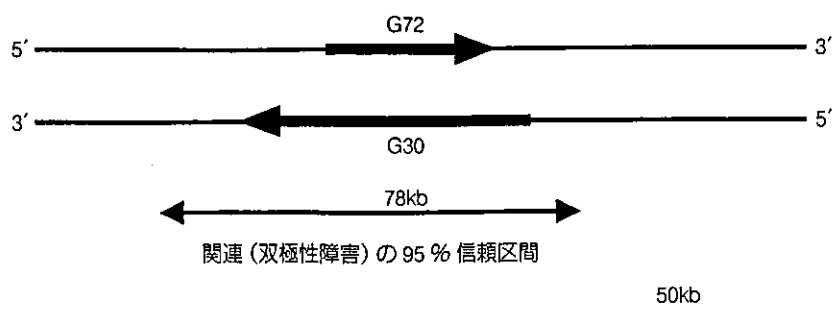


図 1. G 72, G 30 遺伝子および双極性障害と関連する領域の位置関係
二つの遺伝子 G72 と G30 は染色体 13 q 33 に位置し, お互いに反対側の DNA 鎖に向かい合って存在している. 関連の 95%信頼区間は, この二つの遺伝子座を包含する領域に相当している. この区間にはほかの遺伝子は知られていない. (Hattori E *et al*, 2003¹⁰⁾より改変引用)

因変異そのものは特定されるに至っていない。また、これら遺伝子がどのように精神疾患に関与するかというメカニズムを明らかにするためには、さらに詳細な機能研究が必要になる。

2. 候補遺伝子研究—brain-derived neurotrophic factor (BDNF) とその他

近年、うつ病のメカニズムとして、海馬における神経細胞死や可塑性低下の関与が注目されている。BDNF は neurotrophic factor の一種であり、神経細胞生存や神経突起の分枝に重要な役割を果たしている。げっ歯類では、急性および持続的ストレスはグルココルチコイドを介して海馬における BDNF の発現を低下させ、抗うつ薬投与は BDNF の発現を増加させる^{12)~14)}。

BDNF と双極性障害の関連研究の結果は期待を抱かせるものである。Sklar ら¹⁵⁾は 76 個の候補遺伝子と双極性障害の関連を系統的に調べたところ、BDNF の SNP (proBDNF の 66 番目のバリンをメチオニンに変化させる Val 66 Met 多型) が CACNA1C 遺伝子マーカーとならび有意であった (それぞれ $p=0.042$, 0.011)。このスクリーニングには統計学的な多重検定の問題が伴うため、これらの遺伝子について引きつづき家系サンプル (計 334 家系) を用いて追試をおこなった結果、BDNF のみに有意差が認められた ($p=0.066$)。さ

らに、Neves-Pereira ら¹⁶⁾も別の家系サンプル (283 家系) を用いて Val 66 Met 多型の関連を確認し ($p=0.00064$)、その近傍のマーカーも同時に解析したところ、特定のハプロタイプと疾患の強い関連 ($p=0.00394$) を認めた。しかし、日本人¹⁷⁾、中国人¹⁸⁾サンプルを用いた比較的小規模なケースコントロール研究では、有意な関連は認められていない。

その他の候補遺伝子研究として、モノアミン神経伝達系の遺伝子について多数の関連研究がなされてきたが、同一の遺伝子についての結果がしばしば報告により一貫しないことがとくに問題となっている。たとえばセロトニントランスポーター (SLC6A4) については、多数の報告が有意水準に達しているが、そうでないものもほぼ同数存在する¹⁹⁾。Lohmueller ら⁴⁾は、メタアナリシスにより多くの候補遺伝子研究が検出力不足の問題をかかえていること、統合失調症については HTR2A と DRD3 がごく弱い効果を及ぼしている可能性があることを指摘した。今後は大規模サンプルを用いる、遺伝子全域にわたり複数のマーカーを高密度にタイピングしてハプロタイプ解析を併用する、などの研究デザイン上の改善が求められる。この方針で、われわれ²⁰⁾は最近、双極性障害と neural cell adhesion molecule 1 (NCAM 1) 遺伝子間の関連を検出した。

3. 系統的発現研究から注目される遺伝子群

遺伝子発現を系統的に探索するには、マイクロアレイとディファレンシャル・ディスプレイを用いる方法がある。このうちマイクロアレイは、基板上に付着した数千～数万の遺伝子 (cDNA, EST) 断片にサンプルから抽出した RNA をハイブリダイズさせることで、これらの遺伝子の発現レベルを一度に調べるものである。疾患研究への応用として、患者群から採取した組織と健常者群から採取した組織の遺伝子発現プロファイルを比較することにより、疾患の分子基盤を明らかにしようとする試みがなされている。一般に、遺伝子発現レベルは必ずしもその遺伝子自身の塩基配列に依存するとは限らない。しかし、以下に述べるように、発現研究から着目された遺伝子が精神疾患との関連 (連鎖不平衡) を示すという例が複数報告されている。それぞれの遺伝子と疾患の関連については追試による検証が待たれるが、現時点ではこれらの遺伝子は、複雑遺伝疾患の研究における系統的発現研究のポテンシャルを示す例として意義深いものと思われる。

1) X-box binding protein 1 (XBP 1)

Kakiuchi ら²¹⁾は、疾患不一致の一卵性双生児 2 組のサンプル (株化リンパ球) を用いてマイクロアレイ解析とその後の確認実験をおこない、小胞体ストレス反応に関与する遺伝子 *XBP1* および *HSPA5* の発現が、双極性障害患者において低下していることに注目した。彼らは *XBP1* 上流の転写調節領域の機能多型-116 C → G について双極性障害との関連研究をおこなった。日本人ケースコントロールサンプル (患者 197 名, コントロール 451 名) (遺伝子型関連 $p=0.00026$, アレル関連 $p=0.010$), おもに白人からなる家系サンプル (88 家系) ($p=0.047$) 双方において、この多型は疾患と有意に関連していた。さらに、Kakiuchi らはリンパ球において -116 C → G 変異による *XBP 1* の機能低下がバルプロ酸により改善されることも報告した。前述したように、この遺伝子の存在する染色体 22 番長腕も Badner と Gershon⁹⁾ のゲノムスキャンのメタアナリシスから注目されていた領域である。

2) その他

G-protein receptor kinase 3 (*GRK3*) も染色体 22 番長腕に存在する。*GRK 3* は同種脱感作というメカニズムを通じて G 蛋白共役型受容体の働きを調節する。(アドレナリン, アセチルコリン, ドパミン受容体の多くは G 蛋白共役型受容体である。) マイクロアレイ研究では、メタンフェタミン投与のラットの前頭葉において、*GRK3* の発現が 14 倍増加していた²²⁾。同じグループは、おもに白人からなる二つの家系サンプル (153, 237 家系) を用いて *GRK3* と双極性障害の関連を調べた²³⁾。その結果、変異検索によって見出された上流域の SNP が有意に関連していた (2 家系あわせた解析結果 $p=0.0019$)。ただし、この SNP のアレル頻度は患者群で 3% 程度であることから、このデータは双極性障害の一部を説明するにすぎないとされた。

Regulator of G-protein signaling 4 (*RGS4*) もまた G 蛋白を介したシグナル伝達に関与する。マイクロアレイのデータでは、統合失調症の死後脳でこの遺伝子の発現レベルが減少していた⁶⁾。Chowdari ら⁷⁾は、この遺伝子のハプロタイプと統合失調症との関連を 3 つの独立したデータセットで示した。彼らは、比較的小規模なサンプル (101 家系) を用いて双極性障害との関連も調べているが、結果は解析方法により異なり、結論は下せなかった。*RGS4* の存在する染色体 1 番長腕は、統合失調症のみならず双極性障害との連鎖も報告されている領域であり、双極性障害についてもさらに大規模なサンプルを用いて関連を検討する価値がある。

また、Tkachev ら²⁴⁾はディファレンシャル・ディスプレイにより、統合失調症および双極性障害患者の死後脳を調べ、双方の疾患群で希突起膠細胞やミエリンに関連する遺伝子群 (*OLIG1*, *OLIG2*, *MBP*, *PLP1*, *ERBB3* など) の発現が、コントロール群と有意に異なっていることを見出した。ちなみに、双極性障害患者脳の白質における T2 強調画像での高信号はメタアナリシスにおいて有意な所見であり²⁵⁾、さらに *ERBB 3* は前述した *NRG 1* の受容体である。これら遺伝子群は、今後の関連研究における候補遺伝子としても注目されるだろう。

われわれ²⁶⁾は、うつ病の動物モデルの遺伝子解析か