

ら、ヒト染色体5番長腕(気分障害で連鎖が報告されている)に相当するマウス染色体部位に、うつ脆弱性関連の遺伝子が存在する可能性を見出し、GABA<sub>A</sub>受容体遺伝子が候補であることを報告した。そして、日本人気分障害を用いたケースコントロール研究で、 $\alpha_1$ サブユニット遺伝子および $\alpha_6$ サブユニット遺伝子との関連を検出した<sup>27)</sup>が、 $\alpha_6$ サブユニット遺伝子と双極性障害との関連は、白人家系を用いた研究でも確認された<sup>28)</sup>。

## おわりに

G72/G30, 希突起膠細胞関連遺伝子群では、統合失調症、双極性障害の双方への関与が示唆されている。またBDNFは双極性障害のほか強迫性障害との関連が報告されており<sup>29)</sup>、神経生物学的には前述のように単極性うつ病とのかかわりも深い。従来から疫学研究あるいは連鎖解析により、統合失調症と双極性障害のあいだに連続性が存在する可能性があること<sup>30)31)</sup>、強迫性障害と気分障害の同時罹患が高頻度に見られることが指摘されていた<sup>32)</sup>。近年の研究成果は、異なった診断カテゴリー間の生物学的連続性を遺伝子レベル、分子レベルで示しつつあるといえ、これが診断的枠組みの再構築やより広い適応をもつ治療の開発につながることに期待したい。



## 文献

- 1) Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V *et al* : Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71** : 877-892, 2002
- 2) Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ *et al* : Genetic variation in the 6 p 22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71** : 337-348, 2002
- 3) Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O *et al* : Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA* **99** : 13675-13680, 2002
- 4) Lohmueller KE, Pearce CL, Pike M *et al* : Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease. *Nat Genet* **33** : 177-182, 2003
- 5) Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M *et al* : A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. *Am J Hum Genet* **71** : 1296-1302, 2002
- 6) Mirnics K, Middleton FA, Stanwood GD *et al* : Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS 4) expression in schizophrenia. *Mol Psychiatry* **6** : 293-301, 2001
- 7) Chowdari KV, Mirnics K, Semwal P *et al* : Association and linkage analyses of RGS 4 polymorphisms in schizophrenia. *Hum Mol Genet* **11** : 1373-1380, 2002
- 8) Segurado R, Detera-Wadleigh SD, Levinson DF *et al* : Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part III : Bipolar disorder. *Am J Hum Genet* **73** : 49-62, 2003
- 9) Badner JA, Gershon ES : Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* **7** : 405-411, 2002
- 10) Hattori E, Liu C, Badner JA *et al* : Polymorphisms at the G72/G30 gene locus, on 13q33, are associated with bipolar disorder in two independent pedigree series. *Am J Hum Genet* **72** : 1131-1140, 2003
- 11) Chen YS, Akula N, Detera-Wadleigh SD *et al* : Findings in an independent sample support an association between bipolar affective disorder and the G72/G30 locus on chromosome 13q33. *Mol Psychiatry* **9** : 87-92, 2004
- 12) Duman RS, Malberg J, Thome J : Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* **46** : 1181-1191, 1999
- 13) Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ *et al* : Neurobiology of depression. *Neuron* **34** : 13-25, 2002
- 14) Nakatani N, Aburatani H, Nishimura K *et al* : Comprehensive expression analysis of a rat depression model. *Pharmacogenomics J*, in press
- 15) Sklar P, Gabriel SB, McInnis MG *et al* : Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder : BDNF is a potential risk locus. *Mol Psychiatry* **7** : 579-593, 2002
- 16) Neves-Pereira M, Mundo E, Muglia P *et al* : The brain-derived neurotrophic factor gene confers susceptibility to bipolar disorder : evidence from a family-based association study. *Am J Hum Genet* **71** : 651-655, 2002
- 17) Nakata K, Ujike H, Sakai A *et al* : Association study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene with bipolar disorder. *Neurosci Lett* **337** : 17-20, 2003
- 18) Hong CJ, Huo SJ, Yen FC *et al* : Association study of

- a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and mood disorders, age of onset and suicidal behavior. *Neuropsychobiology* 48 : 186-189, 2003
- 19) Potash JB, DePaulo JR Jr. : Searching high and low : a review of the genetics of bipolar disorder. *Bipolar Disord* 2 : 8-26, 2000
- 20) Arai M, Itokawa M, Yamada K *et al* : Association of neural cell adhesion molecule 1 gene polymorphisms with bipolar affective disorder in Japanese. *Biol Psychiatry*, in press
- 21) Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M *et al* : Impaired feedback regulation of XBP 1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat Genet* 35 : 171-175, 2003
- 22) Niculescu AB 3rd, Segal DS, Kuczenski R *et al* : Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis : a convergent functional genomics approach. *Physiol Genomics* 4 : 83-91, 2000
- 23) Barrett TB, Hauger RL, Kennedy JL *et al* : Evidence that a single nucleotide polymorphism in the promoter of the G protein receptor kinase 3 gene is associated with bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 8 : 546-557, 2003
- 24) Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM *et al* : Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *Lancet* 362 : 798-805, 2003
- 25) Altshuler LL, Curran JG, Hauser P *et al* : T 2 hyperintensities in bipolar disorder : magnetic resonance imaging comparison and literature meta-analysis. *Am J Psychiatry* 152 : 1139-1144, 1995
- 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* 12 : 357-366, 2002
- 27) Yamada K, Watanabe A, Iwayama-Shigeno Y *et al* : Evidence of association between gamma-aminobutyric acid type A receptor genes located on 5q34 and female patients with mood disorders : *Neurosci Lett* 349 : 9-12, 2003
- 28) Horiuchi Y, Nakayama J, Ishiguro H *et al* : Possible association between a haplotype of the GABA-A receptor alpha 1 subunit gene (GABRA 1) and mood disorders. *Biol Psychiatry* 55 : 40-45, 2004
- 29) Hall D, Dhillon A, Charalambous A *et al* : Sequence variants of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene are strongly associated with obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet* 73 : 370-376, 2003
- 30) Crow TJ : A continuum of psychosis, one human gene, and not much else—the case for homogeneity. *Schizophr Res* 17 : 135-145, 1995
- 31) Gershon ES : Bipolar illness and schizophrenia as oligogenic diseases : implications for the future. *Biol Psychiatry* 47 : 240-244, 2000
- 32) Rasmussen SA, Eisen JL : The epidemiology and differential diagnosis of obsessive compulsive disorder. *J Clin Psychiatry* 55 (suppl.) : S 5-S 10, 1994

## 連鎖不平衡マッピング

山田和男 吉川武男

### 連鎖不平衡とは

染色体は、組み換えを繰り返しながら祖先から子孫へと伝達されていく。ゲノム上の2点間の組み換えは、物理的距離・DNA構造などに依存する確率的現象であり、近接する2点間では組み換えが起こりにくく、2点間の距離の増大に従ってその間で組み換えが起こる確率は高くなる。ある程度以上離れた染色体上の2点間では、0から複数回の組み換えが起き、2点が同時に一つの配偶子にのる確率は1/2となる。従って、組み換え率( $\theta$ )は $0 < \theta < 0.5$ の範囲をとる。ゲノム上のある2点間の組み換え率が $< 0.5$ である場合、この2点間には連鎖があるという。

数世代からなる家系の中では、組み換えは10-30Mbp程度の間隔で起こると考えられるが、一般集団の中では、その集団が形成されてから十分若い時期には完全に連鎖していた領域が、世代を経るに従ってその間に発生した組み換えの結果連鎖が弱くなっていき、やがて連鎖のない平衡状態に達する。もし近接するゲノム領域間でまだ連鎖が残っているとすると、それは過渡的な連鎖不平衡にあるといえる。そして、祖先に生じた疾患感受性変異と近傍にある遺伝子多型とが連鎖不平衡にあるならば、その多型を検出することで疾患感受性変異の存在を推定することができると考えられ、これに基づいた解析手法を連鎖不平衡マッピングという。疾患群での対立遺伝子の伝達・保有の偏りを関連といい、連鎖不平衡マッピングではマーカーとなるDNA多型と未知の疾患感受性変異との関連を検出する。

手法としては、家系内での対立遺伝子伝達の偏

りを調べる family-based association (transmission disequilibrium test など) と、一般人口集団の中での罹患者と健常対照者との対立遺伝子保有頻度の差を検討する population-based association (case-control study) とに大別される。家系内での組み換えに基づく連鎖解析では、10-30Mbp という広い領域でしか座位を特定できないのに対して、連鎖不平衡マッピングでは連鎖不平衡が保たれている3-100kb という狭い領域での座位の特定が可能となる。また、連鎖解析では大家系・罹患同胞対の収集が必要であるのに対して、連鎖不平衡マッピングでは比較的収集が容易な小家系・孤発例を用いることができるという利点もある。

### ハプロタイプブロックについて

連鎖不平衡が保たれている領域をハプロタイプブロックといい、各ブロックから選択した数個の有用な一塩基置換多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) ('tag' SNP と呼ばれる) によって、その領域の疾患感受性・薬剤反応性などに関するハプロタイプが決定できるという考えがある。ありふれた疾患はありふれた SNP に起因するという CDCV 仮説 (common disease common variant hypothesis) が前提となるが、1000万個ともいわれるすべての common SNP の遺伝子型を50万個程度の 'tag' SNP で代表できるとされる。

### 連鎖不平衡の尺度について

連鎖不平衡の程度を示すのにさまざまな指標が提案されているが<sup>1)</sup>、それぞれに特徴がある。以下に代表的なものの定義式を2座位の SNP を例に述べる。まず、SNP A と SNP B があり、それぞ

れの対立遺伝子頻度を  $\pi_A, \pi_a, \pi_B, \pi_b$  とし、この二つの SNP で構成される四つのハプロタイプ頻度を  $\pi_{AB}, \pi_{Ab}, \pi_{aB}, \pi_{ab}$  とする ( $\pi_A + \pi_a = 1, \pi_B + \pi_b = 1, \pi_{AB} + \pi_{Ab} + \pi_{aB} + \pi_{ab} = 1$ )。 (1)  $D$ : 連鎖不平衡がなければ、ハプロタイプ  $\pi_{AB}$  の出現確率は (それぞれに独立な事象と考えられるので),  $\pi_A \times \pi_B$  となる。実際のハプロタイプ頻度  $\pi_{AB}$  との隔たりを指標として,  $D = \pi_{AB} - \pi_A \pi_B$  と定義される。  $D$  の正負はどちらの対立遺伝子を選択するかで決まり, 取りうる最大値  $D_{\max}$  は対立遺伝子頻度に影響されるため, 標準化した  $D' (= |D/D_{\max}|, 0 \leq D' \leq 1)$  がよく使用される。 (2)  $r^2$ : 相関係数の 2 乗で  $r^2 = D^2 / (\pi_A \pi_a \pi_B \pi_b)$  で定義される。 (3)  $d^2 = (\pi_{AB} / \pi_A - \pi_{aB} / \pi_a)^2$ 。他にも, オッズ比・相対危険度に基づく  $\lambda$  や  $\delta$ , Yule's  $Q$ , recombination parameter の  $\rho$  などがある。

### 連鎖不平衡マッピングの有用性と 今後について

連鎖不平衡は, 組み換えがいつどこで生じたか, 変異がいつどのハプロタイプに生じてどのような系統分化を経たか, 民族・人口集団がどのような

歴史を経て形成されてきたかなど, いくつかの因子に複雑に影響される。われわれが行った日本人の解析例については文献 2 を参照されたい。ハプロタイプブロックは概念的で, 実際には非常に複雑な構造をしている。また, (1) まれな多型に起因する疾患や連鎖不平衡のギャップ (recombination hot spot) に存在する疾患感受性変異は検出できない, (2) その検出領域の狭さから解析には膨大な数のマーカーを必要とする, などいくつか問題点も指摘されている。しかし, 多型解析技術の進歩と SNP データベースの充実などがら, 今後の複雑遺伝疾患の解析には最も有用な手段であると考えられており, このアプローチによって, 今まで検出が困難であった複雑遺伝疾患の感受性遺伝子が特定されることが大いに期待されている。

### 文 献

- 1) Hartl DL, Clark AG: Principles of Population Genetics, third Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA, 1997
- 2) Yamada K et al: *Am J Med Genet* 127 B: 11-19, 2004

## 感情障害疾患関連遺伝子の探索

山田 和男 吉川 武男

**Key Words** 複雑遺伝疾患, 連鎖解析, 関連解析, 連鎖不平衡マッピング, SNPチップ

## 1 はじめに

感情障害(気分障害)に対する罹患脆弱性(疾患感受性)には多くの遺伝子が関与しており, 発症にはさらに環境要因などが加わった複雑な機構が存在すると考えられている。このことから感情障害は単一遺伝子疾患(メンデル型遺伝疾患)ではなく, 糖尿病・高血圧・喘息などと同じく, 「多遺伝子疾患(polygenic disease)」, 「多因子疾患(multifactorial disease)」, 「複雑遺伝疾患(complex disease)」などの範疇に入ると考えられている。また, 有病率が高いことから「ありふれた疾患(common disease)」とも呼ばれる。メンデル型遺伝疾患については, 罹患率の低さなどから家系収集の困難さはあるものの, 方法論的には遺伝子同定法がほぼ確立されている。一方, 精神疾患などの複雑遺伝疾患については, その解析には数多くの困難な要素があると考えられてきた。しかし, この数年の研究を取り巻く周辺技術の進歩, 発展などから, 今まさに黎明という期待感が研究者にあるといえる。

感情障害は, 大うつ病, 双極性障害, 気分変調症などに分類されるが, 特に双極性障害は地域・民族を問わずに生涯有病率は0.5~1.5%とされ,

Bertelsenらの報告<sup>2)</sup>では一卵性双生児での一致率は0.62, 二卵性双生児での一致率は0.08と, 最も強く遺伝的要因の関与が示唆されている。そこで本稿では, 双極性障害を中心に疾患感受性遺伝子同定の手法と問題点, 今後の展望について概観する。また, 感情障害の連鎖領域や関連遺伝子についての各論は他の網羅的な総説に譲り(1,4,7,9,11,12,15,16,20,23,28), ここでは最近同定された有力な候補遺伝子の紹介に留めたい。

## 2 遺伝子探索の方法

病因に関与する遺伝子を同定するために, 以下のようにさまざまなアプローチが試みられている。

## 1. 分子遺伝学的アプローチ

連鎖(linkage)に基づくアプローチと関連(association)に基づくアプローチとがある。それぞれに数多くの統計手法が考案されており, 疾患の遺伝的特徴・収集可能な家系構造などに応じて選択される。

## 1) 連鎖研究

単一遺伝子疾患では, 連鎖解析により10~30 Mbp程度に疾患感受性座位を特定し, さらにハプロタイプ解析などで遺伝子を絞り込み, 病因遺伝子の変異を検出して, それを機能的研究で証明するという手法がとられる。感情障害でも20を越える全染色体領域の連鎖研究がなされてきた。し

Search for susceptibility genes of mood disorders

YAMADA Kazuo and YOSHIKAWA Takeo 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  
〔〒351-0198 和光市広沢2-1〕

かし、共通する座位はあるものの、いずれの感受性座位でも肯定的・否定的報告が混在している。民族・集団によって異なる感受性遺伝子がそれぞれ複数存在する可能性もある。また連鎖研究では家系集積性のあるサンプルが用いられることから、それが特殊な民族・集団での感受性遺伝子ではあっても、孤発例の発症脆弱性には関与していないことも考えられる。逆に、家族性の疾患感受性遺伝子が孤発性の疾患感受性遺伝子同定への道標となる可能性もある。残念なことに、日本人家系を用いた全染色体領域についての感情障害連鎖研究は現在まで行われていないが、欧米を中心に感情障害の連鎖解析をまとめたメタアナリシスが昨年報告され、連鎖解析については一応の区切りがついたともいえる<sup>21)</sup>。

## 2) 関連研究

関連研究は、①精神薬理学的、精神生理学的研究などから病態への機能的関与が示唆される遺伝子について行う場合(機能的候補遺伝子研究)と、②連鎖領域などで検出された感受性座位を高密度多型マーカーを用いて網羅的に検索して疾患感受性遺伝子の同定を試みる場合(位置的候補遺伝子・領域研究、連鎖不平衡マッピング)、あるいは両者を併せ持った場合とがある。いずれも疾患感受性変異と近傍にある遺伝子多型とが連鎖不平衡にあるならば、その多型を検出することで疾患感受性変異の存在を推定することができるという仮定に基づいて行われ、一塩基多型(SNP)などのマーカーによって、特定の対立遺伝子、パロタイプと疾患との関連をみる(調べる遺伝子多型が疾患感受性変異そのものであるということもありうるが、原則としてマーカーとして扱われる)。前者の方法は実験労力が少なく機能的関与の推測も比較的容易である。しかし、逆に機能的関与が示唆される遺伝子以外は同定できない。後者は網羅的に遺伝子を検討することができるが、比較的狭い領域にしても非常に高密度な多型マーカーの解析を要し、実験的労力、コストが大きい。しかし、後述するように飛躍的な技術の進歩とともに研究を取り巻く環境は変わりつつある。

遺伝統計学的解析法としては、一般人口集団の中での罹患者と健常対照者との対立遺伝子保有頻

度の差を検討する population-based association (case-control study) と、家系内での対立遺伝子伝達の偏りを調べる family-based association (transmission disequilibrium test など) とに大別される。前者は比較的サンプル収集が容易であるが、集団の階層化 (population stratification : 対立遺伝子頻度が異なる集団が解析対象の中に混在すると、結果が偽陽性、偽陰性となる) などの問題がつきまとう。後者はサンプル収集に労力を要し、また meiotic drive など疾患に関係なく偏った伝達が起こることもあるが、得られた結果は前者よりも信頼性があると考えられている。

## 2. 系統的発現研究からのアプローチ

患者群から採取した組織と健常対照群から採取した組織の遺伝子発現プロファイルを系統的に比較し、転写産物(RNA)の発現レベルの差を検出する。従来から行われてきたディファレンシャル・ディスプレイと、ここ数年急速に普及したマイクロアレイ (GeneChip など) とがある。この分野の進歩も目覚ましく、例えば Affymetrix 社の Human Genome U133 Plus 2.0 Array では、約 38,500 個のヒト遺伝子についての発現解析が1枚のアレイで可能であり、実験労力も少ない。遺伝子発現にはさまざまな交絡因子が関与し、またしばしば蛋白発現との間に不一致もみられる。しかし、知られているヒト遺伝子のほぼすべてについて網羅的に検討できる魅力はある。

また、染色体構造変化などのゲノム塩基配列の変異ではない要因で遺伝子発現が制御される現象をエピジェネティック (epigenetic : 後成的と訳される) というが、精神疾患のいくつかの特異性はエピジェネティックによるモデルに合致する<sup>25)</sup>。エピジェネティックによる発現制御としては、DNAメチル化(ゲノムの CpG 配列のシトシンがメチル化されると、転写因子が通常阻害される。逆に亢進する場合もある)、ヒストンのアセチル化、メチル化 (DNA とヒストンの複合体であるクロマチン構造の変化により、転写・発現が影響される)、クロマチンリモデリング (クロマチン構造の凝縮により、転写が阻害される) などがある。マイクロアレイにより、系統的に DNAメチル化を検出する研究も今後期待される<sup>5,26)</sup>。

### 3. 動物モデルからのアプローチ

動物モデルを用いる場合、その妥当性が問題となる。しかし、動物実験ではさまざまな交絡因子を除外した検討が可能で、遺伝的に均質な個体を多数解析できるという利点もある。①表現型に基づく動物モデルを作製して遺伝子発現を調べる、②遺伝背景の異なる系統を交配させ、その子孫の遺伝子型、表現型データから連鎖解析を行う、などの試みがなされている。後者は、発症脆弱性を多遺伝子による量的形質 (quantitative trait) としてとらえて疾患感受性座位の同定を試みる遺伝統計学的手法で、QTL (quantitative trait loci) 解析と呼ばれる。

## 3 注目される遺伝子の例

### 1. G72/G30

Chumakovらは、統合失調症連鎖領域である13q33.2の5Mbを網羅する191個のSNPsを用いて、フランス系カナダ人およびロシア人統合失調症サンプルの遺伝解析を施行し、ゲノム上の1カ所のセンスおよびアンチセンスDNA鎖にコードされているG72遺伝子/G30遺伝子を同定した(この領域には他の感受性遺伝子が存在する可能性も残っている)。さらに、G72蛋白を用いたyeast two-hybrid法により、G72蛋白と相互作用を持つ酵素としてD-amino acid oxidase (DAAO)を同定した<sup>3)</sup>。DAAOの機能はあまり知られておらず、外在性のD-アミノ酸を代謝する酵素であると考えられていた。しかし、DAAOは脳内D-アミノ酸レベルを調整することから、NMDA型受容体の内在性の調整因子である可能性があり、G72遺伝子とDAAOの相互作用は統合失調症のグルタミン酸神経伝達異常仮説を支持するものである<sup>18)</sup>。Hattoriらは、この領域に連鎖シグナルを持つ2つの感情障害の家系セットを用いて伝達不平衡テストを行い、それぞれ $P=0.0004$ および $P=0.008$ と強い関連をハプロタイプ解析で認めた。さらに彼らは、2つの家系セットで共通に頻度の高いハプロタイプが有意に患者に伝達されていることを示した<sup>6)</sup>。統合失調症と感情障害にいくつかが共通の連鎖領域が存在することは知られて

いたが、G72/30遺伝子はそれぞれの疾患への関連を独立に示した初めての遺伝子である。

### 2. XBP1/HSPA5

Kakiuchiらは、双極性障害一卵性双生児の不一致例についてマイクロアレイ解析を行い、1.6倍以上の発現変化をしている17個の遺伝子を同定し、その中で小胞体ストレスにかかわるXBP1遺伝子、HSPA5遺伝子に着目した。染色体上ではXBP1遺伝子は22q12.1に、HSPA5遺伝子は9q33.3に存在する。小胞体はリボソームで合成された蛋白質の折り畳み (folding) を行い、糖鎖修飾や立体構造の形成をするが、カルシウムの恒常性が攪乱されたり、糖鎖付加過程の阻害剤を加えたりといった内的・外的刺激が加わると、異常な構造を示す蛋白質が蓄積する。このような状態を小胞体ストレス (ER stress) と呼ぶ。HSPA5は折り畳まれなかった蛋白の再折り畳みに関与するシャペロンで、バルプロ酸によって誘導され、XBP1によって制御されることが知られている。彼らは、患者および健常者から採取したリンパ芽球細胞に小胞体ストレスを与えて、患者由来の細胞ではXBP1、HSPA5のmRNAの増加が有意に減弱していることを示した。さらに、XBP1遺伝子上流の変異検索を行い、転写調節領域に存在する-116C→G変異を発見し、これによってXBP1のポジティブフィードバック機構が変化して、小胞体ストレスに対する反応が障害されることが双極性障害の危険因子になるとした。また、バルプロ酸により-116G/G遺伝子型によるXBP1反応の障害が回復されることを示した。さらに、日本人でのケースコントロールサンプルの遺伝子型解析では、 $P=0.00026$ と非常に強い関連が認められた<sup>10)</sup>。

### 3. IMPA2

Yoshikawaらは、感情障害の連鎖研究で最も有力な疾患感受性座位である18p11.2からイノシトールリン脂質系の酵素であるIMPaseをコードするIMPA2遺伝子を同定した<sup>29,30)</sup>。IMPA2の機能はよくわかっていないが、リチウムによって阻害される可能性がある。また、SjoholtらはIMPA2遺伝子のプロモーター領域に存在する-461C>T ( $P=0.006$ ) および-207T>C ( $P=0.002$ ) と双極性

障害家系の強い関連を報告している<sup>22)</sup>。われわれも日本人で解析し、同様の結果を得た(データ未発表)。

#### 4. GABA<sub>A</sub>受容体

Yoshikawaらは、うつ病の表現形質に関係する遺伝子座位を同定すべく、抗うつ薬のスクリーニングに使用される強制水泳テストと尾懸垂テストを4系統のマウスについて行い、系統間差を検討した。そして最も差のあったC57BL/6とC3H/Heとの交配によりF1世代を作製し、次にF1世代の兄妹交配により560匹のF2世代を作製した。F1世代はすべての座位で2つの親系統からそれぞれの対立遺伝子を引き継ぐため、遺伝的には一様にヘテロ接合体となるが、F2世代ではさまざまな座位で組み換えが起きるために、それぞれに遺伝的多様性を獲得する。このF2個体に対してQTL解析を行い、いくつかの座位で有意な結果を得た。特に、マウス染色体11番D11Mit271周辺は強制水泳テストと尾懸垂テストで共通して有意な結果を示し、さらに遺伝子座位間の相互作用(エピスタシス)も認められた。この座位はヒトでは5番染色体の5q32-35に相当し、ヒトの連鎖研究では双極性障害の疾患感受性座位でもあった<sup>31)</sup>。そこで、その領域にクラスターとなってコードされているGABA<sub>A</sub>受容体サブユニットについてケースコントロール研究を行い、日本人気分障害サンプルで $\alpha 1$ サブユニット遺伝子および $\alpha 6$ サブユニット遺伝子について有意な関連を報告した<sup>27)</sup>。さらに、 $\alpha 6$ サブユニット遺伝子については、白人双極性障害家系サンプルでも関連が確認された<sup>8)</sup>。

#### 5. BDNF

Sklarらは、76個の双極性障害候補遺伝子の関連研究を系統的に行い、BDNF遺伝子のVal66Met多型との有意な関連を報告し<sup>24)</sup>、その後のNeves-Pereiraらの追試<sup>17)</sup>でも、Val66Met多型( $P=0.00064$ )および近傍のSNPsを含めたハプロタイプで強い有意が示された( $P=0.00394$ )。しかし、多施設による日本人双極性障害サンプルでの比較的大規模なケースコントロール研究(患者519名、コントロール588名)では、否定的な結果であった<sup>14)</sup>。

## 4 疾患感受性遺伝子同定の現状と今後

複雑遺伝疾患の場合、疾患脆弱性遺伝子の同定を困難にするさまざまな要因がある。例えば、原因の異種性(複数の遺伝子座や対立遺伝子が疾患に関与していて、個人によってそれらが異なること)があれば、遺伝統計学的検出力が著しく低下する。また、浸透率(ある遺伝子型を持つ個体とその形質を現す確率)が低く遺伝効果が弱い感受性遺伝子では、多くの保因者は発症に至らずコントロールサンプルの妥当性が低下する。また、表現模写(疾患にかかわる遺伝子型を持っていても同じ症状を呈すること)があれば、ケースサンプルの妥当性が低下する。これらの問題を克服するために、比較的遺伝的異種性が少ない民族・集団を解析したり、病型・症状の重症度・年齢などによりサブグループ化して解析したりといった試みもなされる。しかし、最終的にはより多くの集団サンプルをより詳細に調べていくしかない。そのためには、関連研究を大規模かつゲノムワイドに行う必要がある。研究の方向性が連鎖研究から連鎖不平衡マッピングに移りつつあった1996年、RischとMerikangasは全染色体領域を網羅する関連研究の可能性について論じた<sup>19)</sup>。実験的解析技術の進歩に伴い、ゲノムワイドな連鎖不平衡マッピングが将来的には可能になるかもしれないと感じられるようになってきた時期である。その後、1999年にKruglyakが全染色体連鎖不平衡マッピングが成功するために必要であろうと出した試算<sup>13)</sup>は、各サンプルに対して500,000 SNPsの解析という膨大なものであったが、5年後が経過した2004年7月、Affymetrix社から100,000 SNPsを網羅するmicroarrayが発売され、全染色体を網羅する連鎖不平衡マッピングがいよいよ現実的なものとなってきた。さらに現在同社は、500,000 SNPsのmicroarrayを開発中であるとしており、今後数年のうちにはさまざまな成果が得られるのではないかと期待される。



## 5 おわりに

今後さまざまなアプローチにより、感情障害の発症脆弱性に関与する候補遺伝子がいくつも提唱されるであろう。特に、ゲノムワイドな連鎖不平衡マッピングによる成果とその後の展開には期待が持たれる。しかし、いずれも遺伝効果の弱いものである可能性も高い。もうそうであるならば、それらが有機的なつながりを持たないことにはその後の発展は期待できない。イギリスのスコラ哲学者であるオッカムのウィリアムは、「存在は必要もなく増やしてはいけない」と述べた。現象は必要最小限の仮定や理論で説明されるべきであり、無用のひげは思考の妨げになるので剃り落とすべきであるといわれる。数多く提唱されるであろう候補遺伝子の一つ一つについての緻密な検討はもちろん重要ではあるが、さらにそこから本質を求める俯瞰的な視点や、遺伝子ネットワークとしてのシステム解析が求められていくことであろう。

### 文献

- 1) Baron M : Manic-depression genes and the new millennium: poised for discovery. *Mol Psychiatry* 7 : 342-358, 2002
- 2) Bertelsen A, Harvald B, Hauge M : A Danish twin study of manic-depressive disorders. *Br J Psychiatry* 130 : 330-351, 1977
- 3) Chumakov I, Blumenfeld M, Guerassimenko O et al : Genetic and physiological data implicating the new human gene G72 and the gene for D-amino acid oxidase in schizophrenia. *Proc Nat Acad Sci U S A* 99 : 13675-13680, 2002
- 4) Craddock N, Dave S, Greening J : Association studies of bipolar disorder. *Bipolar Disord* 3 : 284-298, 2001
- 5) Gitan RS, Shi H, Chen CM et al : Methylation-specific oligonucleotide microarray: a new potential for high-throughput methylation analysis. *Genome Res* 12 : 158-164, 2002
- 6) Hattori E, Liu C, Badner JA et al : Polymorphisms at the G72/G30 gene locus, on 13q33, are associated with bipolar disorder in two independent pedigree series. *Am J Human Genetics* 72 : 1131-1140, 2003
- 7) 服部栄治, 吉川武男 : 気分障害において注目される遺伝子. *分子精神医学* 4 : 8-20, 2004
- 8) Horiuchi Y, Nakayama J, Ishiguro H et al : Possible association between a haplotype of the GABA-A receptor alpha 1 subunit gene (GABRA1) and mood disorders. *Biol Psychiatry* 55 : 40-45, 2004
- 9) Jones I, Craddock N : Candidate gene studies of bipolar disorder. *Ann Med* 33 : 248-256, 2001
- 10) Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M et al : Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat Genet* 35 : 171-175, 2003
- 11) Kato T : Molecular genetics of bipolar disorder. *Neurosci Res* 40 : 105-113, 2001
- 12) 加藤忠史 : 気分障害における生物学的研究の進歩. *脳と精神の医学* 15 : 105-121, 2004
- 13) Kruglyak L : Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 22 : 139-144, 1999
- 14) Kunugi H, Iijima Y, Tatsumi M et al : No association between the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and bipolar disorder in Japanese: a multi-center study. *Biol Psychiatry* (in press)
- 15) 前野信久, 池田匡志, 岩田伸生ほか : 感情障害発症関連遺伝子. *Clin Neurosci* 22 : 138-143, 2004
- 16) Maier W, Zobel A, Rietschel M : Genetics of schizophrenia and affective disorders. *Pharmacopsychiatry* 36 (Suppl 3) : S195-202, 2003
- 17) Neves-Pereira M, Mundo E, Muglia P et al : The brain-derived neurotrophic factor gene confers susceptibility to bipolar disorder: evidence from a family-based association study. *Am J Human Genetics* 71 : 651-655, 2002
- 18) Owen MJ, Williams NM, O'Donovan MC : The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Mol Psychiatry* 9 : 14-27, 2004
- 19) Risch N, Merikangas K : The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273 : 1516-1517, 1996
- 20) Schumacher J, Cichon S, Rietschel M et al : Genetics of bipolar affective disorders. Current status of research for identification of susceptibility genes. *Nervenarzt* 73 : 581-592, 2002
- 21) Segurado R, Detera-Wadleigh SD, Levinson DF et al : Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part III: bipolar disorder. *Am J Human Genetics* 73 : 49-62, 2003
- 22) Sjoholt G, Ebbstein RP, Lie RT et al : Examination of

- IMPA1 and IMPA2 genes in manic-depressive patients: association between IMPA2 promoter polymorphisms and bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 9 : 621-629, 2004
- 23) Sklar P : Linkage analysis in psychiatric disorders: the emerging picture. *Ann Rev Genomics & Human Genetics* 3 : 371-413, 2002
- 24) Sklar P, Gabriel SB, McInnis MG et al : Family-based association study of 76 candidate genes in bipolar disorder: BDNF is a potential risk locus. *Mol Psychiatry* 7 : 579-593, 2002
- 25) 栃木 衛, 日比野博之, 佐々木司 : 統合失調症とエピジェネティクス. 押村光雄, 伊藤 敬編 : エピジェネティクスと遺伝子発現機構. 実験医学増刊号. 羊土社, pp187-191, 2003
- 26) van Steensel B, Henikoff S : Epigenomic profiling using microarrays. *BioTechniques* 35 : 346-350, 2003
- 27) Yamada K, Watanabe A, Iwayama-Shigeno Y et al : Evidence of association between gamma-aminobutyric acid type A receptor genes located on 5q34 and female patients with mood disorders. *Neurosci Lett* 349 : 9-12, 2003
- 28) 山田和男, 吉川武男 : 分子遺伝学的研究の現状. *日本臨牀* 59 : 1465-1470, 2001
- 29) Yoshikawa T, Padigaru M, Karkera JD et al : Genomic structure and novel variants of myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2). *Mol Psychiatry* 5 : 165-171, 2000
- 30) Yoshikawa T, Turner G, Esterling LE et al : A novel human myo-inositol monophosphatase gene, IMP.18p, maps to a susceptibility region for bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2 : 393-397, 1997
- 31) 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

\* \* \*

## 第100回日本精神神経学会総会

## シンポジウム

## 精神疾患関連表現型の遺伝子解析

吉川 武男<sup>1)</sup>、豊田 倫子<sup>1)</sup>、吉次 聖志<sup>1)</sup>、山田 和男<sup>1)</sup>、  
糸川 昌成<sup>1,2)</sup>、三辺 義雄<sup>3)</sup>、中村 和彦<sup>3)</sup>、都丸 義郎<sup>4)</sup>、  
武井 教使<sup>3)</sup>、熊倉 徹雄<sup>5)</sup>、森 則夫<sup>3)</sup>

(1) 理化学研究所脳科学総合研究センター、2) 東京都精神医学総合研究所、  
3) 浜松医科大学精神神経医学教室、4) 山田病院、5) 針生ヶ丘病院)

## I. はじめに

精神疾患は多因子複合疾患であり、病因の異質性、発症危険率に及ぼす個々の遺伝子の効果の低さ、また胎生期の脳の発達に影響を与える環境因子も発症に関連すると考えられており、1つの遺伝子多型と表現型（診断名）を科学的信頼性をもって対応させるのが困難な作業となっている。1つの解決策は、精神疾患に付随する生理・生化学的特徴（endophenotype：内因性表現型）<sup>3)</sup>を表現型解析に取り入れることであり、このような研究は現在精力的に行われつつある。今回我々は、眼位の異常という生物学的特徴に注目し、これと統合失調症の合併の有無を調べることにより、表現型と遺伝子型の相関が認められたので報告する。

## II. 神経発達異常と眼位の異常

統合失調症の原因仮説として、胎生期における脳の発達に何らかの侵襲が加わり、それが将来の統合失調症発症の脆弱性基盤となるという「神経発達障害仮説」が提唱されている<sup>8)</sup>。その根拠の1つとして、統合失調症は身体微少奇形の合併が有意に多いという事実がある<sup>9)</sup>。この場合の身体微少奇形とは、脳神経と同じ外胚葉由来の身体表面組織・器官を指しており、神経発達時期と同じ妊娠初期、中期前半での侵襲がその後の発達に影響するものと想定されている。これまで身体微少

奇形の観察項目には、Waldrop スケール<sup>15)</sup>が用いられてきた。Waldrop スケールは、頭囲、内眼角贅皮、耳介低位など18項目からなるが、元々ダウン症候群の評価のために開発されたものである。よって、統合失調症に合併する項目として適当であるかどうかの議論があり、またWaldrop スケールに記載されていない項目についても、統合失調症と関連するものが存在するか否か調べることは重要な課題となっていた。

今回我々は、我々の知る限りこれまで報告のなかった「眼位の異常」について、その頻度を統合失調症と対照群で比較した。眼位の異常はいろいろな角度から分類されるが<sup>9)</sup>、概要としては器質性（続発性）、調節性（弱視由来）のもの、偽斜視を除外し、眼球偏位の方法から(1)内斜視、(2)外斜視、(3)上斜視（下斜視、回旋斜視は我々のサンプルにはみられなかった）、そしてそれらが(A)恒常性であるか、(B)間欠性であるかを評価し、6種類に分類した。なお、斜位は除外した。図1に示したように、斜視全体の頻度は統合失調症で対照群の2倍強あり、有意に高頻度であった( $p=0.0000161$ )。斜視の分類では、恒常性外斜視( $p=0.00000000906$ )および間欠性外斜視( $p=0.038$ )が統合失調症群で有意に高頻度にもられた<sup>12)</sup>。

先天性斜視という表現型も、精神疾患と同じよ

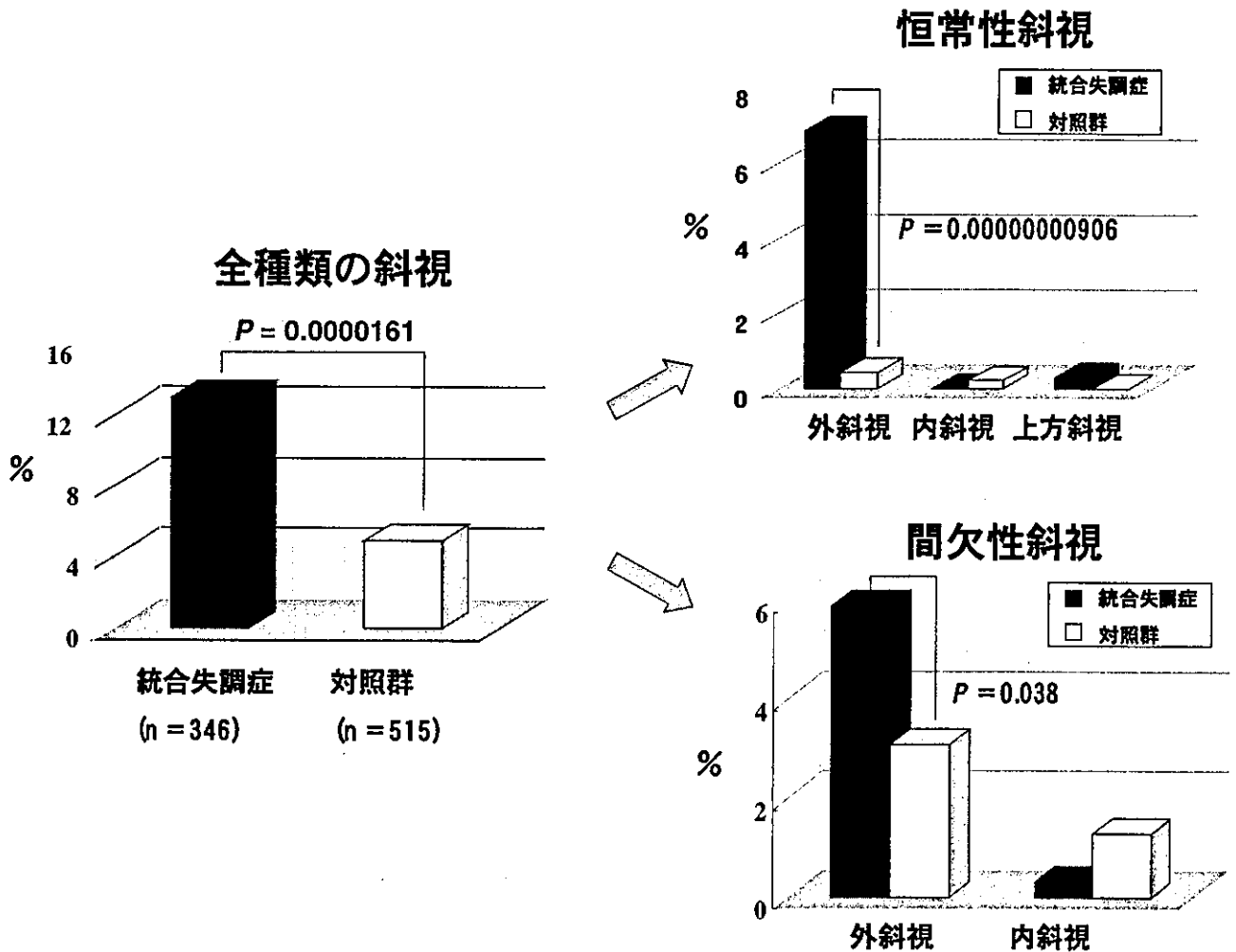


図1 統合失調症と斜視の頻度 (文献14) より引用)

うに多因子複雑遺伝疾患であり、環境要因による発達攪乱の影響と同時に、同じタイプの斜視が同じ家系内に集積しやすいことから遺伝的要因の寄与も考えられている<sup>11)</sup>。遺伝的要因に関しては、斜視の頻度が人種によって異なることから支持される。コーカソイドでは内斜視の頻度が外斜視より高いが<sup>9)</sup>、アジア人では逆である<sup>4)</sup>。我々の対照群でのデータは、IngとPangがアジア人について報告した数値に近い<sup>4)</sup>。今回の我々の研究で、外斜視が統合失調症群で有意に多い詳細な理由は不明であるが、両表現型で共有される遺伝的要因および環境的要因の存在が示唆される。

### III. 斜視、統合失調症および候補遺伝子解析

前述のように、斜視は多因子複雑形質であるた

め、散在性の斜視については現在に至るまで遺伝的基盤が不明である。しかし、症候群性の斜視で責任遺伝子が判明したものが1つある。それは、congenital fibrosis of the extraocular muscles type 2 (CFEOM2) である。この疾患は常染色体優性に発症し、先天的に両眼の眼瞼下垂、眼球の運動制限、斜視を伴う。病理的には、動眼神経、滑車神経、外転神経の異常、およびそれら神経が支配する外眼筋の異常が認められる。2001年に、Nakanoらによって原因遺伝子が転写因子であるPMX2Aであることが報告された<sup>7)</sup>。PMX2Aは、動眼神経、滑車神経の発生に関与すると共に、カテコールアミン細胞に発現されており、チロシン水酸化酵素遺伝子、ドーパミン-ヒドロキシラーゼ遺伝子の発現を促進する<sup>10)</sup>。そこで我々は、

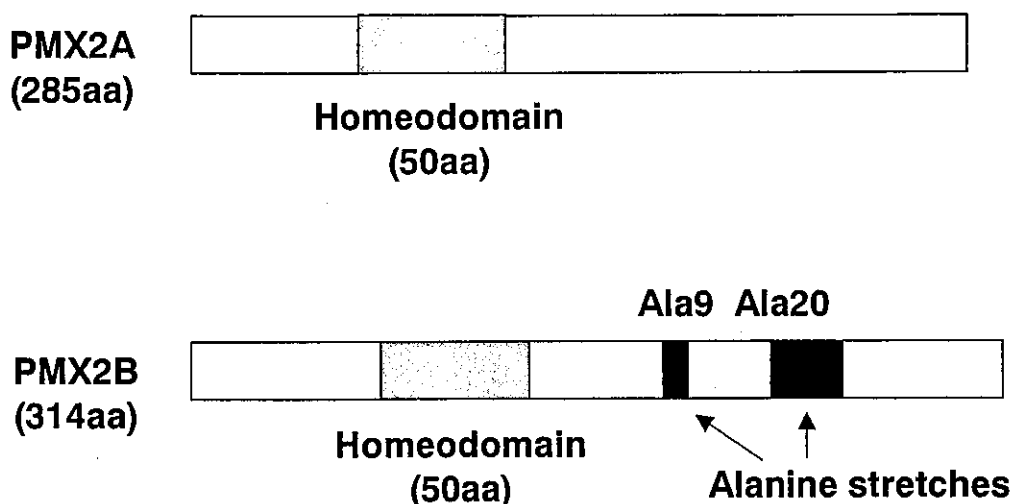


図2 PMX2A と PMX2B タンパクの構造

斜視と統合失調症を合併したサンプルを用いて、PMX2A 遺伝子のゲノム配列に多型がないかどうか検索を行った。PMX2A 遺伝子は3つのエクソンからなり、それらエクソン、近傍のイントロンおよびプロモーター領域をスクリーニングしたが、有意な多型は見られなかった。

PMX2A 遺伝子には、非常に配列が類似した相同遺伝子 PMX2B が存在する<sup>10)</sup>。ホメオドメインという領域は、2つの遺伝子で100%アミノ酸配列が同一である。ただPMX2Bは、ホメオドメインのC末側にアラニンが9個連なったところ（以下、Ala9と呼ぶ）と20個連なったところ（以下、Ala20と呼ぶ）があり、PMX2Aにはそれらが無い（図2）。PMX2Bは、発現部位、機能の点でPMX2Aと殆どオーバーラップしている<sup>10)</sup>。PMX2BのスクリーニングをPMX2Aのとき用いたのと同じサンプルで行ったところ、イントロンおよび3'-untranslated regionにおけるSNP（single nucleotide polymorphism：一塩基置換）の他、Ala20領域でアラニン残基が部分欠失したもの、および伸長した多型が見つかった（図3）<sup>12)</sup>。

そこで、まずこれら多型が斜視という表現型に関連するかどうか調べた。統合失調症群では、Ala20鎖長変異が恒常性外斜視に有意に関連して

いたが（ $p=0.029$ ）、対照群では関連が認められなかった（表1）。これは、PMX2B 遺伝子変異のみでは斜視を引き起こすのに十分ではないが、統合失調症感受性遺伝子あるいは統合失調症の発症脆弱性に関与する因子とPMX2B 遺伝子変異が重なると、恒常性外斜視になる危険率が増すことを示唆していると考えられた。

次に、Ala20鎖長変異が統合失調症発症に及ぼす影響について調べた。表2に示すように、PMX2B 遺伝子変異は統合失調症全体の発症にも関連していたが、統合失調症を斜視を持つ群と持たない群に分けて解析すると、前者により強い関連を示すことが判明した。このことは、統合失調症発症と恒常性外斜視罹患には共通する遺伝的基盤があり、その1つがPMX2B 遺伝子のAla20鎖長変異であると考えられる。

#### IV. PMX2B 遺伝子変異の機能転帰、由来

PMX2B 遺伝子のAla20鎖長変異は、統合失調症群で13%、対照群で8%と高頻度で存在する（表2）。また、遺伝子型分布はハーディ・ワインバーグの平衡に入っていて、生存への選択圧とはなっていないことが推測される。Ala20の長さを変異することで、機能的にどのような変化が生じるのかを次に検討した。PMX2Bは転写因子

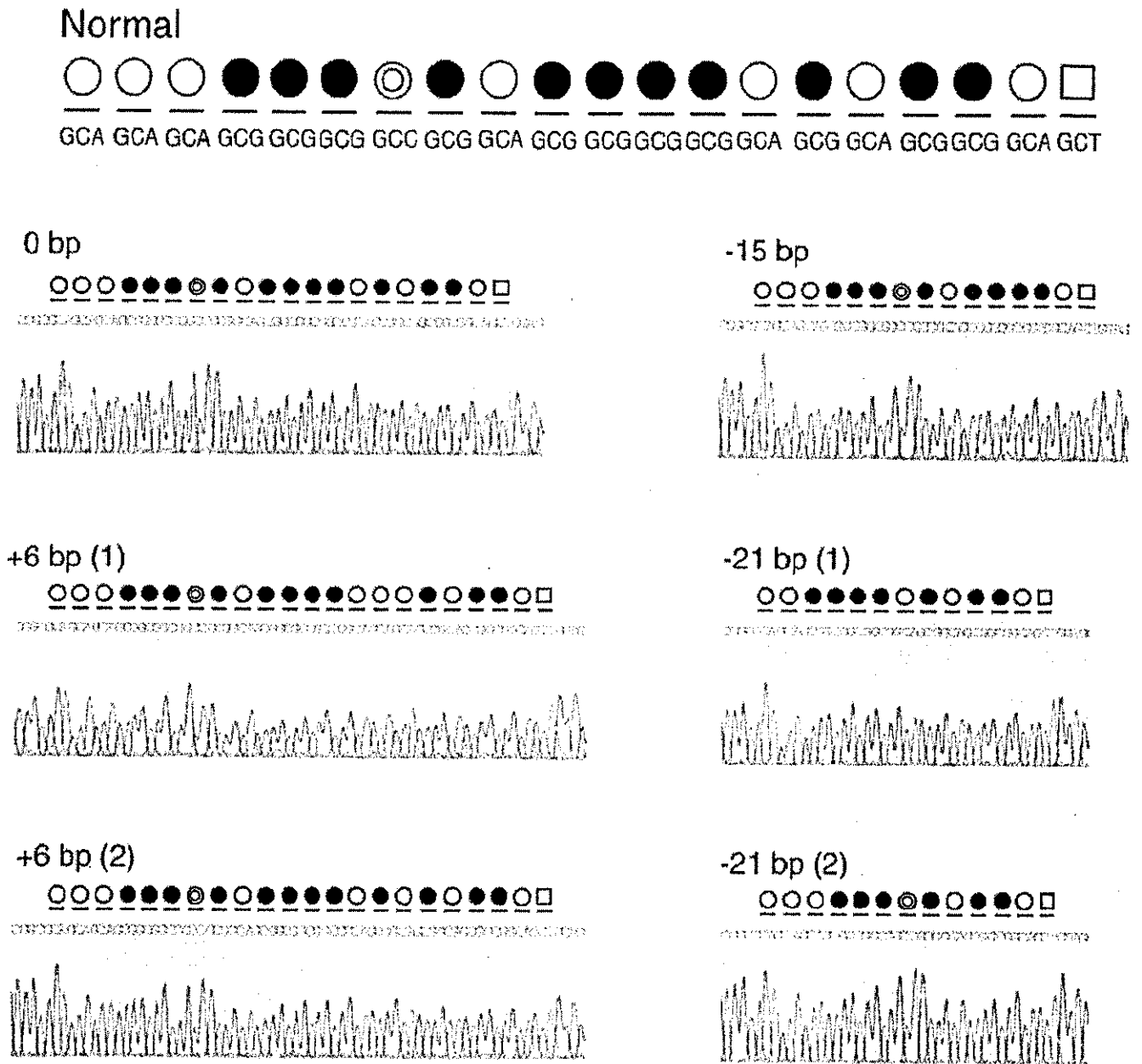


図3 PMX2B 遺伝子アラニン鎖 (Ala20) 長の変異 (文献 12) より引用)

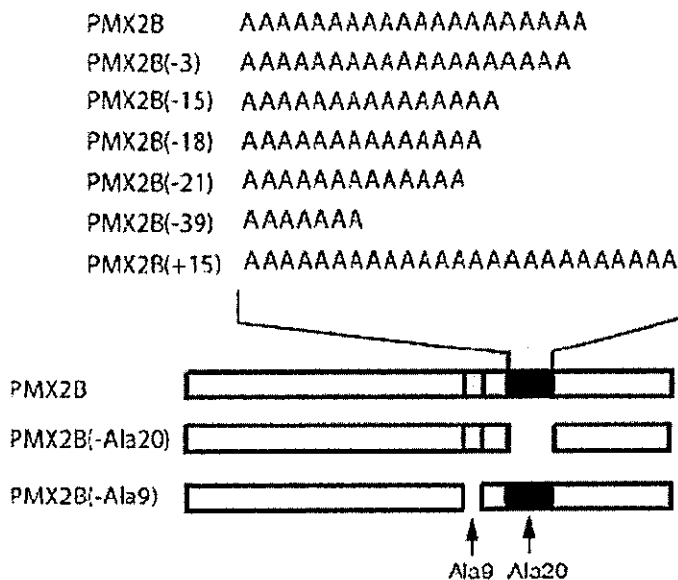
表1 PMX2B アラニン鎖 (Ala20) 長変異と斜視の関連

サンプル	斜視	n	遺伝子型					P-value
			0/0	0/-15 bp	-15/-15 bp	0/-21 bp	0/+6 bp	
対照群	恒常性外斜視	2	2	0	0	0	0	1.000
	斜視なし	515	472	33	3	6	1	
統合失調症群	恒常性外斜視	24	17	6	0	0	1	0.029
	斜視なし	300	266	32	0	1	1	

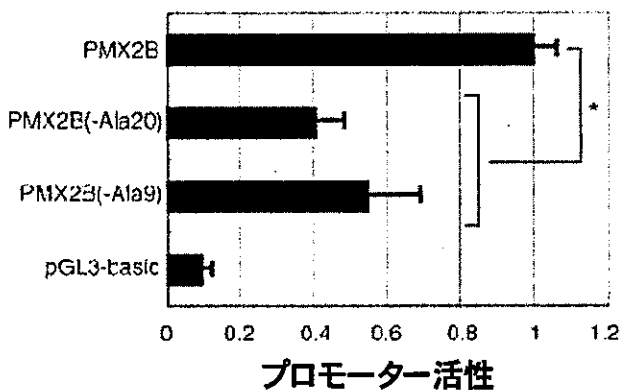
表2 PMX2B アラニン鎖 (Ala20) 長変異と統合失調症の関連

サンプル	n	遺伝子型 (%)					P-value
		0/0	0/-15 bp	15/-15 bp	0/-21 bp	0/+6 bp	
統合失調症全体	324	283 (87)	38 (12)	0 (0)	1 (0.3)	2 (0.6)	0.012
斜視なし	300	266 (87)	32 (11)	0 (0)	1 (0.3)	1 (0.3)	0.076
恒常性外斜視合併	24	17 (71)	6 (25)	0 (0)	0 (0)	1 (4.2)	0.004
対照群	515	472 (92)	33 (6.4)	3 (0.6)	6 (1.2)	1 (0.2)	

A



B



C

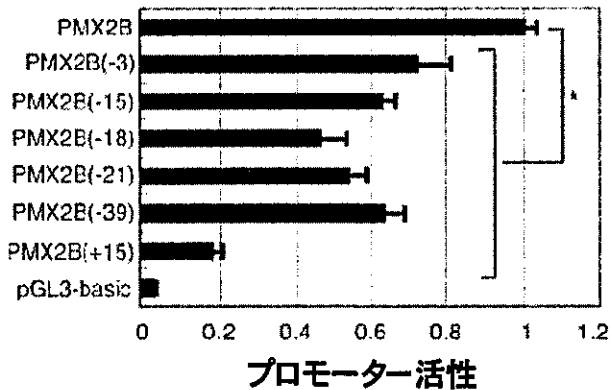


図4 PMX2B 遺伝子アラニン鎖長の変化が転写機能に及ぼす影響 (文献12) より引用

であるため、ドーパミンβヒドロキシラーゼ遺伝子のプロモーター配列にルシフェラーゼ遺伝子 (レポーター遺伝子として使用) をつないで、その転写活性を測定した。まず、Ala9および

Ala20の部分を全部除いてしまうと、前者で50%近く、後者で60%活性が低下した (図4)<sup>12)</sup>。Ala20の部分を短縮および伸長すると、やはり転写活性は有意に低下するが、短縮した場合、削っ

表3 メンデル疾患と複雑遺伝疾患の対比

	メンデル疾患	複雑遺伝疾患
疾患の頻度	まれ	コモン
責任遺伝子	単一	複数
浸透率 (各遺伝子の効果)	高い (~100%)	不完全 (弱い)
遺伝子間相互作用	(-)	(+)
環境要因 (生活習慣)	(-)	(+)
病因	均一	異質
表現型	質的	量的
社会的コスト	+	+++

表4 転写因子のアラニン鎖長の変異

	PMX2B 以外の転写因子 PMX2B アラニン鎖伸長*	PMX2B アラニン鎖短縮
関連する遺伝形質	メンデル形質 (常染色体優性遺伝)	複雑遺伝形質 (非メンデル形質)
多型の頻度	まれ	コモン
多型の種類	アラニン挿入	アラニン欠失
表現型	重度の障害	軽度
浸透率 (変異の効果)	100%	不完全 (弱い)
変異の起源	減数分裂時の不等交差	太古

\*アラニン5個以上の伸長  
(文献14)より引用)

た長さで減少した転写能力の間には特に相関は見られなかった。興味深いことは、アラニンを5残基伸長した場合 (DNA塩基数で15bpに相当する)、活性が極端に低下した。つい最近、congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) という疾患で、PMX2B遺伝子のAla20鎖長が15bp以上伸長した例が報告されたが<sup>1)</sup>、CCHSというより重篤な表現型が、より大きな機能障害を起こす変異と関連していることは頷ける。なお、CCHSの原因としては呼吸中枢のカテコールアミン神経の異常が指摘されている。

一般に、アラニンがタンパク内で連続したものは転写因子に見られる。転写因子のアラニン鎖長変異は、PMX2B遺伝子以外では非常に稀であり、そのような変異が一旦生じると、優性遺伝形式の重篤な表現型が現れる。また、アラニン鎖長変異は通常伸長であり、短縮ではない。そして、アラニン鎖長変異の生成機序としては、減数分裂における不等交差 (従って de novo mutation である)

が原因であると考えられている<sup>2)</sup>。そこでPMX2B遺伝子の、一般人口においてコモンな変異がどのようにして生じたのかをいろいろな角度から検討した。まず、100家系以上で親子の遺伝子型を比べたところ、新たに生じた突然変異はなく、de novo mutationの可能性は考えにくいと思われた<sup>12)</sup>。もしゲノム上のPMX2B遺伝子Ala20の部分で頻繁に不等交差なり組み替えがおこるのなら、Ala20の両側のSNP間には連鎖不平衡のギャップが生じるはずである。実際、Ala20の両側のSNPを用いて各SNP間の連鎖不平衡を調べたところ、ギャップは全くなかった。また、マウスの親子300匹で調べたところ、すべてがAla20であり、Ala20の変異はヒト特異的である可能性が示唆された (他の霊長類では調べていない)。次に、ヒトPMX2B遺伝子で見られた多型の系統樹解析をしたところ、Ala20の短縮変異は比較的古い時代に生じた可能性が示された。よって、PMX2B遺伝子のAla20鎖長変異は、



人類の歴史の中で太古に生じ、それが世代毎に安定して伝播し（いわゆるトリプットリピートの変異とは対照的である）、現在の人類の中に広く分布したものと考えられる<sup>12)</sup>。

表3に、メンデル疾患と精神疾患のような複雑遺伝疾患の特徴を対比させてまとめた。表4に、PMX2B 遺伝子のアラニン鎖長変異とそれ以外の転写因子のアラニン鎖長変異の特徴を比べた。これら表から分かるように、PMX2B 以外の転写因子遺伝子のアラニン鎖長変異はメンデル疾患の基盤となり、PMX2B 遺伝子変異は、メンデル疾患と複雑遺伝疾患を結ぶ表現型の分子基盤となるという、興味深い事実がはっきりとする。

## V. ま と め

今回我々は、統合失調症を眼位の異常の有無で分類して比較的是っきりした genotype-phenotype correlation を検出することに成功したが、今後も精神疾患の分子遺伝学的解析にあたっては、内因性表現型を積極的に取り入れることにより、生物学的表現型の遺伝子基盤が明らかとなってくる場合があることが期待される。

謝辞：本研究は、理化学研究所の研究費および厚生労働科学研究費補助金こころの健康科学研究事業「機能性精神疾患の系統的遺伝子解析」（主任研究者：吉川武男）の分担研究として行われた。

## 文 献

1) Amiel, J., Laudier, B., Attie-Bitah, T., et al.: Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat Genet*, 33, 459-461, 2003

2) Brown, L.Y., Brown, S.A.: Alanine tracts: the expanding story of human illness and trinucleotide repeats. *Trends Genet*, 20, 51-58, 2004

3) Gottesman, I.I.: The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J*

*Psychiatry*, 160, 636-645, 2003

4) Ing, M., Pang, S.: The racial distribution of strabismus. The 3rd Meeting of the International Strabismological Assn. Grune & Stratton, New York, NY, p. 107-110, 1978

5) 丸尾敏夫, 久保田伸枝: 斜視と眼球運動異常. 文光堂, 東京, 2002

6) McNeil T.F., Cantor-Graae E., Ismail, B.: Obstetric complications and congenital malformation in schizophrenia. *Brain Res Rev*, 31, 166-178, 2000

7) Nakano, M., Yamada, K., Fain, J., et al.: Homozygous mutations in ARIX (PHOX2A) result in congenital fibrosis of the extraocular muscles type 2. *Nat Genet*, 29, 315-320, 2001

8) 南光進一郎: 神経発達障害仮説. *精神誌*, 106, 372-373, 2004

9) Nordlow, W.: Squint: the frequency of onset at different ages and the incidence of some associated defects in a Swedish population. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, 42, 1015-1037, 1964

10) Pattyn, A., Morin, X., Cremer, H., et al.: Expression and interactions of the two closely related homeobox genes Phox2a and Phox2b during neurogenesis. *Development*, 124, 4065-4075, 1997

11) Paul, T.O., Hardage, L.K.: The heritability of strabismus. *Ophthalmic Genet*, 15, 1-18, 1994

12) Toyota, T., Yoshitsugu, K., Ebihara, M., et al.: Association between schizophrenia with ocular misalignment and polyalanine length variation in PMX2B. *Hum Mol Genet* 13, 551-561, 2004

13) Yokoyama, M., Watanabe, H., Nakamura, M.: Genomic structure and functional characterization of NBPhox (PMX2B), a homeodomain protein specific to catecholaminergic cells that is involved in second messenger-mediated transcriptional activation. *Genomics*, 59, 40-50, 1999

14) 吉川武男: 統合失調症関連表現型の遺伝子解析——眼位異常を中心に. *脳* 21, 8, 39-43, 2005

15) Waldrop, M.F., Pedersen, F.A., Bell, R.Q.: Minor physical anomalies and behavior in preschool children. *Child Dev*, 39, 391-400, 1968

## Schizophrenia and Ocular Misalignment : Phenotypic and Genetic Association Analysis

Y. YOSHIKAWA<sup>1)</sup>, T. TOYOTA<sup>1)</sup>, K. YOSHITSUGU<sup>1)</sup>, K. YAMADA<sup>1)</sup>,  
M. ITOKAWA<sup>1,2)</sup>, Y. MINABE<sup>3)</sup>, K. NAKAMURA<sup>3)</sup>, Y. TOMARU<sup>4)</sup>,  
N. TAKEI<sup>3)</sup>, T. KUMAKURA<sup>5)</sup>, N. MORI<sup>3)</sup>

1) *Laboratory for Molecular Psychiatry, RIKEN Brain Science Institute*

2) *Department of Schizophrenia Research, Tokyo Institute of Psychiatry*

3) *Department of Psychiatry and Neurology, Hamamatsu University School of Medicine*

4) *Yamada Hospital*

5) *Haryugaoka Hospital*

The increased incidence of minor physical anomalies (MPAs) in schizophrenia is the fundamental basis for the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia etiology. Ocular misalignment falls into the category of MPAs, but this phenotype has not been assessed in schizophrenia. This study reveals that constant exotropia displays marked association with schizophrenia. To assess the genetic mechanisms, we examined the transcription factor genes ARIX and its paralogue, PMX2B. We identified frequent deletion/insertion polymorphisms in the 20-alanine homopolymer stretch of PMX2B, with a modest association between these functional polymorphisms and constant exotropia in schizophrenia. The polymorphisms were also associated with overall schizophrenia and more specifically with schizophrenia manifesting strabismus. These results suggest a possible interaction between PMX2B and other schizophrenia-precipitating factors, increasing the risk of the combined phenotypes. This study also highlights the unique nature of the polyalanine length variations found in PMX2B.

(Authors' abstract)

<Keywords : schizophrenia, neurodevelopmental abnormality, minor physical anomaly, strabismus, PMX2B gene>

---

第100回日本精神神経学会総会

シンポジウム

## 動物モデルと遺伝子研究——動物モデルが示唆するもの

吉川 武男 (理化学研究所脳科学総合研究センター)

## I. はじめに

約半世紀前に抗うつ効果をもつ薬剤が発見され、それは治療の福音となると同時にうつ病の病理を解明する糸口を与えた。その後の研究で、抗うつ剤は神経シナプスにおけるモノアミン伝達を賦活する薬理作用を持ち、従ってうつ状態の基盤にはモノアミン神経伝達の減弱があるという理解が確立された。しかし、気分障害を遺伝的にみると多因子複雑遺伝疾患であり、モノアミン神経伝達に直接関係する分子が必ずしも疾患の感受性遺伝子になっているとは限らず、他の多くの遺伝子が疾患発症に寄与している可能性がある。新たな疾患遺伝子の同定は、今まで未知であった気分障害の原因解明につながり、新しいパラダイムに基づいた新規抗うつ薬の開発を可能にする。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基づかない未知のものを同定する1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のは膨大な作業を必要とし、一般的には困難と言わざるを得ない。そこで我々は、動物を用いて気分障害に関連のある遺伝子を、幾つかのアプローチを組み合わせ探索する試みを行ったので紹介する。動物モデルを遺伝解析に用いた場合の利点は、(1) 動物は遺伝的バックグラウンドが均質な個体を多数用意できる、(2) 世界的なゲノムプロジェクトの推進により、モデル動物の全ゲノム配列、EST (expressed sequence tag) の情報などが急速に完備されつつある、などが考えられる。

## II. マウス絶望モデルと QTL 解析

「うつ」という表現型は動物でも再現しやすいため、うつ病研究で用いられる動物モデルには複数ある<sup>3)</sup>。その中でも、絶望の行動モデルといわれる「強制水泳テスト」と「尾懸垂テスト」は測定方法も簡便であり、今でも抗うつ薬開発において有効性のスクリーニングに広く使用されている。強制水泳テストでは、マウスを水の張った容器に入れ、一定時間の中で、逃避を諦め泳ぐ行動をやめて無動になった時間を積算して「無動時間」とする。尾懸垂テストにおいても、一定時間マウスを尾からつるし、逃避行動を諦めた無動時間を測定する。無動時間には次のような特徴、可能性が考えられる：

(1) 両テストにおける無動時間は、抗うつ薬の急性投与で短縮する。

(2) 無動時間にはマウスによって系統差があり、無動時間の長いマウスの系統は、ストレスによって絶望しやすい(うつ状態になりやすい)と考えられる。

(3) 無動時間は連続変数であるため、「量的形質」である。従って遺伝学的には身長、体重などと同じように複数の遺伝子によって規定されていると思われる。なお、精神疾患も易罹患性、重症度などのパラメーターからみると、量的形質であり、量的形質—ありふれた疾患—多遺伝子疾患は、三位一体の関係にある。

(4) 無動時間を制御している遺伝子群が解明されれば、ヒトにおけるうつ病の感受性遺伝子のヒントになり、新規抗うつ薬の標的候補となり得る。

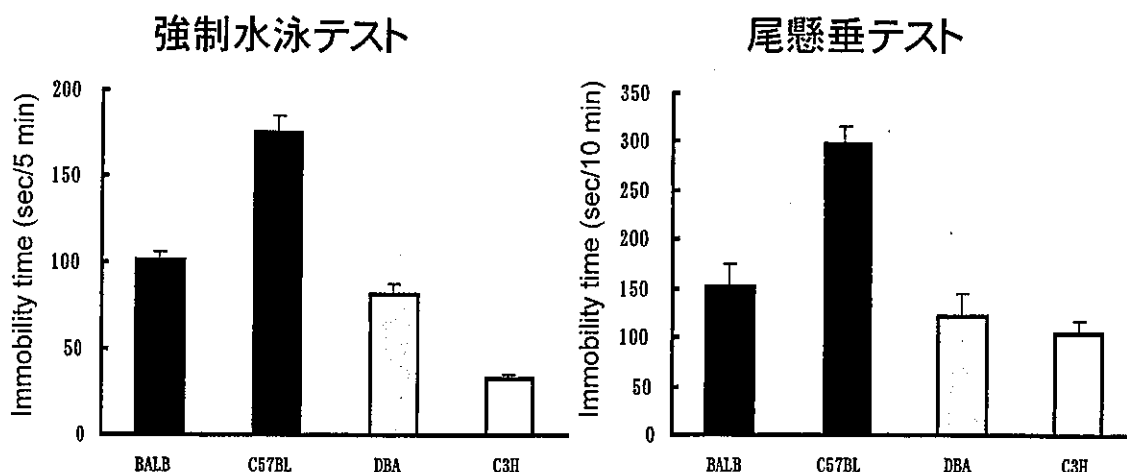


図1 無動時間のマウス系統差

量的形質を制御している遺伝子座を検出する1つの方法は、QTL (quantitative trait loci) 解析である。この方法では、目的とする表現型質に関してなるべく差が大きい2系統を選択し、2世代交配して多数のF2世代の個体を作成する。その後、各F2個体の表現型、遺伝子型を測定して連鎖解析を行って遺伝子座を求める。我々が4系統のマウスについて無動時間を調べた結果を図1に示す。強制水泳テスト、尾懸垂テストの両方で、C3H/He (C3) が最も無動時間が短く、C57/BL6 (B6) マウス系統が最も長かった<sup>6)</sup>。よって、この2系統を使ってQTL解析を行い、図2のような結果を得た<sup>6)</sup>。染色体8番と11番には、両テストの無動時間を支配している遺伝子座が認められ、その後の遺伝子座間相互作用解析から、染色体11番はX染色体上のローカスと相互作用して無動時間に影響を及ぼしているものと思われた<sup>6)</sup>。

マウス染色体11番は、ヒト5番染色体長腕端に相当し、候補遺伝子としてGABA A受容体の各種サブユニット遺伝子 ( $\alpha 1$ , GABRA1;  $\alpha 6$ , GABRA6;  $\beta 2$ , GABRB2;  $\gamma 1$ , GABRG1) がコードされている (図3)。C3マウスとB6マウスでこれら遺伝子の配列の違い、脳での発現量の違いを調べたところ、 $\alpha 1$ と $\alpha 6$ 遺伝子に差異が認められた<sup>6)</sup>。次に、ヒト気分障

害サンプルで上記4つのGABA A受容体サブユニット遺伝子を解析したところ、 $\alpha 1$  (GABRA1) と $\alpha 6$  (GABRA6) 遺伝子に関連が検出され、興味深いことに特に女性において顕著であった (図3)<sup>4)</sup>。これは、マウス染色体11番とX染色体の相互作用の存在という事実は何らかの関連があると推察される。

### III. QTL解析と遺伝子発現解析

QTLに位置する他の候補遺伝子を探索する手段として、次にゲノムワイドな発現解析を行った。強制水泳テスト、尾懸垂テストとも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。前者の可能性に基づいて、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。2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QTLにコードされている遺伝子を表1と表2に示した<sup>6)</sup>。これら14個の遺伝子のうち、我々はadenylyl cyclase-associated CAP protein 1 (Cap1) に着目した。理由の1つは、Cap1はアクチン代謝に関係する遺伝子であるが、