200400757A

厚生労働科学研究費補助金
こころの健康科学研究事業

DNA チップを用いたうつ病の診断と病態解析

平成１６年度　総括・分担報告書

主任研究者　大森　哲郎

平成１７(２００５)年　４月

目次

I. 総括研究報告
DNAチップを用いたうつ病の診断と病態解析
大森哲郎 ---------- 1

II. 分担研究報告
1. DNAチップを用いたうつ病の診断と病態解析
ー電気けいれん療法（ＥＣＴ）によるmRNA発現の変化に関する研究ー
原田誠一 ---------- 8
2. 精神病性障害の評価と解析
橋本亮太 ---------- 13

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ---------- 21

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ---------- 22

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

DNA チップを用いたうつ病の診断と病態解析

主任研究者　大森哲郎　徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部教授

要旨
うつ病は、心身に著しい苦悩をもたらし、社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、しばしば自殺企図に結びつく。生涯罹患率が１０％にも上るこの疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。主任研究者らは、ストレス反応と関連する遺伝子の mRNA の発現量を一括解析する DNA チップを開発した。これを用いた研究から学位審査などのストレスに曝されると、共通の遺伝子発現が増減し、翌日には回復することが判明している。本研究はこの DNA チップをつ病の診断と病態解析に応用するものである。分子生物学的な先端技術を応用した先駆的な研究でありながら、患者負担は最少 2.5ml の通常採血のみであることから臨床応用が容易である。これまでの検討から、うつ病と健常者とを識別することに成功している。DNA チップという新たな方法論を導入して、うつ病の早期診断、治療評価および病態研究に画期的な進歩をもたらすものである。

分担研究者
原田誠一　　国立精神・神経センター武蔵病院　外来部長
橋本亮太　　国立精神・神経センター神経研究所　疾病研究第三部室長

A. 研究目的

うつ病は、心身に著しい苦悩をもたらし、社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、しばしば自殺企図に結びつく。年間３万人以上にものぼる自殺者の多くがうつ病に罹患していたと推定される。また、怠学、失職、引きこもりなどの社会的問題やアルコール関連障害などの医学的問題にも深く関連している。生涯罹患率が１０％にも上るこの疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。病態の評価、早期診断、及び治療評価に応用できる簡便かつ客観的な指標の確立の意義は絶大であり、その必要性は高い。

我々のグループは、神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAの発現量を、白血球を試料として一括解析するDNAチップを開発した。学位審査発表などの心理的ストレスにさらされると、特定の遺伝子発現が増減し、翌日には回復することを見出し、ストレスに鋭敏に反応する測定系とな

ることを確認している。本研究の目的は、このDNAチップを用いて白血球中のmRNA発現量を解析し、うつ病の診断と病態解析へ応用することである。

B. 研究方法

徳島大学精神科神経科を受診した未治療のうつ病患者のうち、本診断法開発のための研究に参加することについて文書により説明し同意を得たものを対象とした。診断は、DSM-Vの中等症または重症うつ病エピソードに合致するものとし、精神病症状をともなう重症うつ病エピソードおよび双極性障害うつ病エピソードは今回の解析対象からは除外した。また精神科合併症を有するもの、重篤な身体合併症を有するもの、および身体疾患治療薬を服用しているものは除外した。採血は、午前10時から午後１時までの間に医師または看護師が、安静下に肘静脈より行った。うつ病の重症度はハミルトン評価尺度で評価した。外来診察終了後に血液5－10mlを採取した。キアゲン社製mRNA抽出用試験管を用いてmRNAを抽出した。抽出したmRNAの増幅と蛍光ラベルを行い、DNAチップを用いて神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する1500種類の遺伝子のmRNAの発現量を解析し、クラスター解析を行った。血液からのmRNAの抽出は徳島大学医学部ストレス制御医学分野（六反一仁教授）で行い、DNAチップの解析は、日立ライフサイエンス事業部に委託して行っている。測定のCV値は20%以下であり、信頼性と再現性は良好である。

（倫理面への配慮）

本研究は遺伝子多型解析ではなく、すべての人に発現しているｍＲＮＡの発現量を測定するものであり、いわゆる遺伝子解析研究ではない。しかし、倫理面への配慮は十分に行い、連結可能匿名化を行ってプライバシーを保護する。対応票は、研究代表者（大森哲郎）が厳重に保管し、解析を行う日立ライフサイエンス事業部には番号のみを通知する。希望者のみを対象とし、本研究の目的、方法、危険性、得られる分析結果、及びその情報の管理について説明し、書面で合意を取得する。尚、研究計画は徳島大学病院倫理委員会の承認を平成13年に受けている。

また共同研究施設の国立精神・神経センターの倫理委員会へも倫理審査を求め、平成16年2月13日付けで承認を受けている。

C. 研究結果および考察

平成16年度の解析対象は徳島大学病院を受診した単極性うつ病患者である。うつ病の診断はDSM-IVに従い、ハミルトン評価尺度で重症度を評価した。血液10mlを採取し、キアゲン社製mRNA抽出用試験管を用いてmRNAを抽出した。抽出したmRNAの増幅と蛍光ラベルを行い、DNAチップを用いて神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する1500種類の遺伝子のmRNAの発現量を解析し、クラスター解析を行った。血液からのｍＲＮＡの抽出は徳島大学医学部ストレス制御医学分野（六反一仁教授）で行い、DNAチップの解析は、日立ライフサイエンス事業部に委託して行っている。測定のCV値は20%以下であり、信頼性と再現性は良好である。

平成16年度までに120検体以上のうつ病患者血液を採取し、診断、重症度、治療前後などの臨床データをデータベース化している。うつ病以外の疾患でも、未服薬例を中心に、統合失調症２０例、双極性障害10例、パニック障害３０例、強迫性障害２０例のサンプルの臨床データと血液サンプルを収集している。

このうち身体合併症および精神科的合併症のない当該病相未治療の単極性うつ病32例を、性年齢のマッチした身体合併症のない非喫煙者を対照として解析した。非喫煙者としたのは、習慣的ならびに直前の喫煙の影響がないとは言えないためである。その結果、１）うつ病未治療例において、全例にほぼ共通して変化している遺伝子が約20種見出された。２）同時に、うつ病の半数でのみ変化している遺伝子群も約60種存在するため、遺伝子発現パターンからうつ病が2群に分かれた。この2群間の性別、年齢、症状、ハミルトン評価点などには差異がなく、両群を分ける臨床指標は現在のところ明らかではない。罹病期間が一方で長い傾向が認められたので今後症例数を増やして検討する。３）全例にほぼ共通して変化している遺伝子は症状改善後に一定の変化を示さず、そのまま変化が持続している遺伝子も存在する。うつ病の半数で変化している遺伝子群の半数は、正常方向へ有意な反転を示した。４）これらの所見は疾患特異的であり、学位審査発表における心理的ストレスのさいの変化とはほとんど重なりがなく、急性ストレスに由来する変化ではない。また、統合失調症との重なりも少ない。

以上の所見は、mRNAの発現パターンを指標として、うつ病を健康成人および精神科他疾患から識別できること、および治療経過にそった変化が捉えられることを意味している。日米の特許を申請している。現在双極うつ病、パニック障害などについても順次解析を進めている。うつ病マーカーとして臨床応用可能な実用型チップの開発とDNAチップのうつ病病態解析への応用に向けて研究を継続している。

抽出したmRNAの一部を用いて、いくつかの遺伝子に関して定量性に優れるreal time PCRを確立し、治療前後の変化などにつきより詳細な検討にも着手している。

分担研究者の原田誠一は、国立精神・神経センター武蔵病院において、電気けいれん療法（ECT）前後のうつ病患者を対象としてDNAチップを用いた調査を行い、「ECTによる抑うつ症状の改善」と「mRNA発現の変化」の関連を明らかにして、ECTの奏功機序を解明する研究に着手した。

分担研究者の橋本亮太は、うつ病と同様に、自殺企図の頻度が高い重篤な精神疾患である精神病性障害（統合失調症）を対象として、同じDNAチップを用いて統合失調症の早期診断、治療評価および病態研究に応用することを目的とする研究に着手した。

D. 考察

うつ病は生涯罹患率が１０％前後の頻度の高い疾患であり、その頻度は現代社会の構造やストレスの影響を受けて今後さらに増加することが予想される。この疾患は、罹患者の精神と身体に著しい苦悩をもたらし、その社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、自殺企図に結びつ

くことも少なくない重大な疾患である。年間３万人以上にものぼる自殺者の大半はうつ病に罹患していたと推定されている。また、怠学、失職、引きこもりなどの社会的問題やアルコール関連障害などの医学的問題にも深く関連している。この疾患を的確に診断し、すみやかに治療する体制を確立することは、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。

うつ病の診断は、しかし決して簡単ではない。うつ病の主症状は、抑うつ気分、意欲低下、興味と喜びの喪失、集中力と注意力の減退、自己評価と自信の低下、罪責感と無価値感、将来への悲観、自殺念慮、睡眠障害、食欲不振などである。これらの症状には特有の特徴があり、誰でもが経験する気分の落ち込みとは異なっているし、身体疾患罹患時の疲弊感に伴う精神活動低下とも異なっている。うつ病の症状を把握するためには、詳しく病歴を聴取し、心理行動面に表れる症状がいつからどのように出現し、社会生活や家庭生活の上でどのような支障が生じているのかを聞きとり、受診時の患者の態度や会話内容などから、諸症状を確認することが主体となる。家族歴、既往歴、身体的健康状態、生育歴、生活史、性格傾向、病前社会適応状況、きっかけとなった出来事の有無、などは重要な参考事項となる。これらを的確に把握するためには、十分に熟練した精神科専門医による一時間ほどの面接が必要となる。さらに一般的身体状態および神経学的状態に大きな異常のないことを確認し、必要に応じて脳波や脳画像検査によって脳器質性疾患を除外して診断に至る。得られた所見を、世界保健機構（WHO）やアメリカ精神医学会による診断基準と照合し、診断を確定することが一般的である。

このような従来の診断方法の大きな問題点は、診断には熟練した技能を要することである。うつ病に関する十分な知識と経験が必要であることはいうまでもないが、うつ病には該当しなくともうつ状態を呈する心理的、精神科的および身体的状態は数多い。それらとの鑑別診断も必須となる。したがって、診断には十分な研修と積んだ精神科専門医師があたらねばならない。しかし、生涯罹患率が10%前後というありふれた病気であるうつ病は、プライマリーケア医師を受診することが多い。精神科的な診察に習熟していない一般医師にとって、客観的検査所見のないうつ病の診断は必ずしも容易ではない。また、臨床心理士などの臨床心理学の専門家や保健婦などの精神保健活動従事者にとっては、薬物療法をはじめとする身体（脳）に対する治療が必要である医学的疾患であるうつ病は、単独では診断治療することは困難である。

診断に習熟を要するのは、簡便かつ客観的な症状評価方法が存在しないことが大きな要因となっている。現在も、自己記入式の質問紙によるスクリーニング方法もあるが、あくまで主観的に記入されるため、性格要因、環境要因あるいは身体状態不良による気分の落ち込と本来のうつ病を区別することはできない。医師の用いる症状評価尺度もあり、重症度の判定にはしばしば使用されるが、これも各項目の評価には適切な問診が必要であ

って、診察に代わる物ではない。

客観的な指標を目指して、これまでにもいくつかの検査方法が試みられている。うつ病は、脳内のモノアミン系の機能的変調があり、その変調は心身相関作用を通して、神経内分泌系、神経免疫系、自律神経系に少なからぬ影響を及ぼしていることが知られている。特に、神経内分泌的な異常のひとつである軽度の副腎皮質ホルモン分泌亢進をデキサメサゾン抑制試験によって的確に把握してうつ病の診断に応用する試みは、1980年代以降に精力的に研究されたが、試験薬服用という煩雑さおよび感度や特異性の限界から臨床応用には至らなかった。研究段階では、その他の神経内分泌系、神経免疫系、自律神経系、日内リズムや睡眠構築の異常なども報告されている。最近では、脳画像を用いた脳血流や脳内モノアミン受容体の変化なども指摘されはじめているが、いずれも感度や再現性に問題が残る。いずれに着目するにしても、限られた因子を測定する方法ではうつ病という複雑な心身疾患を評価することそのものが困難であるとも言える。また、従来の検査は、施行と評価には膨大な時間と労力が必要であり、簡便性という観点をも考慮すると、日常診療への応用はとうてい望むことが出来ないのが現状である。

本研究は、DNAチップを用いてうつ病を評価する世界で最初の試みである。これを可能とした技術的基盤は、独自に開発したプローブ配列設計ソフトウエアー、半導体ナノテクノロジーを駆使したスポッテイング技術、並びに解析ソフトであり、CV値20%以下の極めて信頼性の高いチップを実現している。この技術に加え、神経伝達・免疫・内分泌あるいはストレス反応と関連する1500種類の遺伝子を搭載するという独創的なアイデアによって本研究で用いるチップが実現した。

末梢血白血球中のRNA発現量をDNAチップによって一括定量することによってうつ病に特有の所見を得た本研究結果は、うつ病の診療に画期的な向上をもたらす可能性がある。本法は、患者の特別な協力を必要とせず、通常の採血による2.5mlの血液をもとに解析可能であり、非侵襲的で簡便な日常的に行うことのできる検査法である。数多くのRNA発現量から生体機能を多面的に把握する本法は、従来の限られた因子を測定する方法に比べ、うつ病のように心と身体にまたがる複雑な心身疾患の評価方法として原理的にも適切である。

本研究の結果は、未治療うつ病患者の白血球内のmRNAが、特有の発現パターンを示すことを示している。しかも、それらの変化の一部は症状改善後には特徴的な反転パターンを示している。これらの所見は疾患特異的であり、統合失調症では見られず、ストレス時の変化とも異なる。これらの所見は、mRNAの発現パターンを指標として、うつ病を健康成人および精神科他疾患から識別できること、および治療経過にそった変化が捉えられることを意味している。

今後、現在までに変動が判明している遺伝子群を中心に、治療前後において発現量の変動する遺伝子の検索を継続する。層別解析によって発症状況、症状特性、重症度、治療反応、予後との関連を検討する。治療経過としては、薬物療法のみ

でなく、電気けいれん療法施行前後における解析も推進する。同時に、うつ病と関連の深い双極性障害とパニック障害、強迫性障害についても解析を行い、統合失調症に関してもある程度の症例数を解析する。うつ病の病状の消長と治療経過に沿った縦断的な解析も行って、再発との関連や、治療薬剤の影響を明らかにする。

これらの結果をもとに、搭載遺伝子を絞り込み、安価で簡便な実用型の DNA チップを作成する。うつ病の客観的な指標としてプライマリーケア医師が容易に使用でき、診断の確立や治療の導入にきわめて有用となる。また、職場、学校及び地域の検診時や人間ドック等で、集団の中からハイリスクグループを簡便かつ高精度に、しかも安価に選び出すことにより、うつ病の早期発見が可能となり、予防医学的見地から国民のこころの健康の向上にも大きく寄与することができる。本法の有用性はプライマリーケアと検診に限らない。精神科専門医師にとっても、うつ病発症に関わる心理社会環境因子の検索、病態の評価、診断、及び治療評価、予後判定に応用することができ、精神医学の分野でも革命的な検査技術となる。本研究の成果は、DNA チップによるうつ病の評価が可能であることを示した点で、大きな意義がある。

なお、平成 16 年における研究では直接踏み込むことはできなかったが、DNA チップを用いた末梢白血球をサンプルとする研究は、病態研究の糸口としても有望である。すでに、末梢血をサンプルとした研究においても、双極性障害におけるイノシトールリン酸化酵素遺伝子発現の低下や、統合失調症におけるドパミン３型受容体遺伝子発現の増加などが報告されており、末梢レベルにおいても中枢と共通する病態変化が存在する可能性はある。また、発現量の変化している遺伝子に着目して遺伝子多型を探索し、それを端緒として遺伝子多型と疾患との関連研究に展開するという研究手法が最近注目されている。本研究の成果はその糸口としても大きな意義を持ちうるものである。

E. 結論

神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAを解析する革新的なDNAチップを用い、うつ病の新しい評価方法の確立を目指して研究を行った。うつ病に特異的なmRNA発現パターンを見出し、健康対照者および精神科他疾患から識別に成功している。

本研究は、DNAチップを用いてうつ病を評価する世界で最初の試みである。先端的かつ独創的なものであるが、一方で患者負担は少量通常採血のみであり、うつ病評価への臨床応用が現実的である。プライマリーケア、健康診断、精神科診療施設などの場で早期診断、病態評価および治療評価に応用可能である。うつ病の診断や治療に客観的な指標の導入を実現させることが期待され、社会的・医療行政的意義は大きい。本研究の成果は、DNAチップによるうつ病評価が可能であることを示している。

F. 健康危険情報

特になし

G.研究発表（主任研究者分のみ）

（1）論文発表

Ueno S, Yamauchi K, Iga J, Nakamura M, Sano A, Ohmori T
Serotonin transporter gene in relation to psychiatric disorders.
pp185-197 、 in Dynamical Genetics. Transworld Research Network *2004*

Eiji Takeda, Junji Terao, Yutaka Nakaya, Ken-ichi Miyamoto, Yoshinobu Baba, Hiroshi Chuman, Ryuji Kaji, Tetsuro Ohmori, and Kazuhito Rokutan. Stress control and human nutrition. J Med. Investigation 51: 139-145, 2004

大森哲郎、森田恭子、上野修一、谷口隆英、木内佐和子、田吉純子、斉藤俊郎、太田雅之、六反一仁. ＤＮＡチップを用いたうつ病の診断と病態解析　精神神経学雑誌　106：1045－1049, 2004

大森哲郎　臨床現場と臨床エビデンスの近くて遠い距離　精神神経学雑誌 106：923－927, 2004

Morita K, Ohmori T, Rokutan K et al. Expression analysis of psychological stress-associated genes in peripheral blood leukocytes. Neurosci. Letters 2005 in press.

（2）学会発表

大森哲郎、上野修一、谷口隆英、六反一仁他；DNAチップによるうつ病の評価と解析：日本精神神経学会　2004.5.20.　札幌

大森哲郎、上野修一、六反一仁　他；　DNAチップによるうつ病の新しい診断マーカー　日本精神神経学会　2005.5.20　大宮（予定）

Ohmori T, Rokutan K et al. DNA microarray analysis of mRNA in the leukocyte of patients with depression. World Federation of Society of Biological Psychiatry. 2005.6.29. Vienna （予定）

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

US Application No 10/739,329 Dec.19.2003

特願2004-096068　平成16年3月29日

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

ＤＮＡチップを用いたうつ病の診断と病態解析
－電気けいれん療法（ＥＣＴ）によるmRNA発現の変化に関する研究－

分担研究者　原田誠一　国立精神・神経センター武蔵病院　外来部長

要旨
うつ病は、心身に著しい苦悩をもたらし、社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、しばしば自殺企図に結びつく。生涯罹患率が１０％にも上るこの疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。主任研究者らは、ストレス反応と関連する遺伝子のmRNAの発現量を一括解析するDNAチップを開発した。本研究の目的は、電気けいれん療法（ECT）前後のうつ病患者を対象としてDNAチップを用いた調査を行い、「ECTによる抑うつ症状の改善」と「mRNA発現の変化」の関連を明らかにして、ECTの奏功機序を解明することである。また、ECT対象群の多くが薬物療法抵抗性のうつ病患者であるため、「ECTと薬物療法によるDNAチップ所見の変化パターンの異同」を詳しく調べることで、①従来明らかになっていなかったうつ病の病態の理解が進み、②今後、新しい抗うつ薬を開発していく際の示唆が得られる可能性もあると考えている。

A. 研究目的

うつ病は、心身に著しい苦悩をもたらし、社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、しばしば自殺企図に結びつく。生涯罹患率が１０％にも上るこの疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。病態の評価、早期診断、及び治療評価に応用できる簡便かつ客観的な指標の確立の意義は絶大であり、その必要性は高い。

主任研究者らは、神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAの発現量を、白血球を試料として一括解析するDNAチップを開発した。学位審査発表などの心理的ストレスにさらされると、特定の遺伝子発現が増減し、翌日には回復することを見出し、ストレスに鋭敏に反応する測定系となることを確認している。本研究の目的は、電気けいれん療法（ECT）前後のうつ病患者を対象としてDNAチップを用いた調査を行い、「ECTによる症状の改善」と「mRNA発現の変化」の関係を明らかにすることである。

B. 研究方法

国立精神・神経センター武蔵病院精神科を受診してECTを受けるうつ病患者のうち、本診断法開発のための研究に参加することについて文書により説明し同意を得たものを対象とした。診断は、DSM-IV

(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disoreders forth edition)の大うつ病エピソードに合致する中等症または重症例とし、精神病症状をともなうエピソードおよび双極性障害うつ病エピソードは除外した。また、重篤な身体合併症を有するものも除外した。採血は、ECT前、初回ECT前・後、３回目ECT前、５回目ECT前、８回目ECT前、ECT終了後の計７回行った。うつ病の重症度はハミルトン評価尺度で評価した。なお、ECT施行中は薬物療法の処方内容は変更しないこととした。

得られた血液サンプルから、キアゲン社製mRNA抽出用試験管を用いてmRNAを抽出した。抽出したmRNAの増幅と蛍光ラベルを行い、DNAチップを用いて神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する1500種類の遺伝子のmRNAの発現量を解析し、クラスター解析を行った。血液からのmRNAの抽出は徳島大学医学部ストレス制御医学分野（六反一仁教授）で行い、DNAチップの解析は、日立ライフサイエンス事業部に委託して行っている。測定のCV値は20%以下であり、信頼性と再現性は良好である。

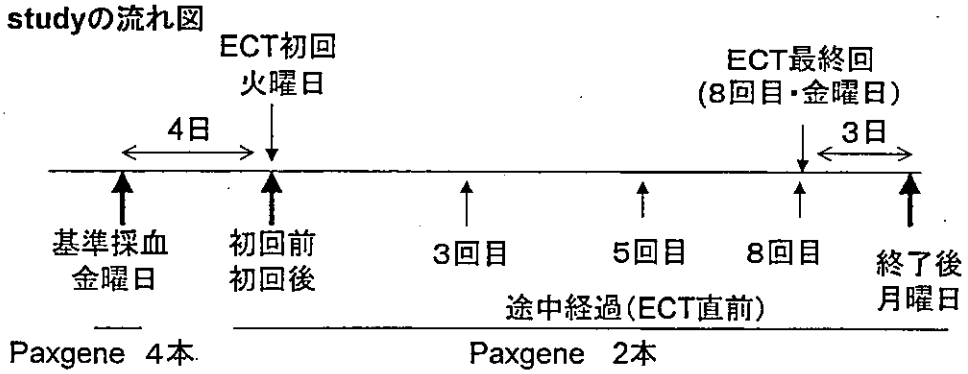
図に、国立精神・神経センター武蔵病院における本研究のプロトコール概要を示す。

NCNP DNAチップ　ECT study

１．対象：気分障害でECTを受ける患者様（パニック障害の合併のみ可）
２．ECTスケジュール：週2回（火、金）で計8回で行う。
３．薬剤：ECT中変更しない（できれば一週間前より一定が望ましい）。
４．採血：Paxgene(4本または2本）と血液検査（血球：患者負担）を計７回行う。
　　ECT前、初回前・後、３回目前、５回目前、８回目前、終了後
５．臨床データ：採血の度に臨床データシート、血液検査、HAMDをつける
６．Paxgeneの処理：採血後、２時間からオーバーナイト室温で放置し、その後
　　臨床検査部・臨床研究室の冷凍庫（＊）に保存する。
７．Paxgeneの採血管：患者ID、名前、採血日、採血回を記入する。
８．ECT studyセット：プロトコール、同意書、臨床データシート(６枚)、HAMD（６枚)、
　　血液検査(６枚)、補足（DSMIV診断用)、Paxgeneの採血管(16本)

（＊）臨床研究室のディープフリーザーに入っているA2「精神科DNAチップ研究用」と書いてあるラックに入れてください。臨床研究室の鍵は医局にあります。

ECT studyの流れ図



（倫理面への配慮）

本研究は遺伝子多型解析ではなく、すべての人に発現している mRNAの発現量を測定するものであり、いわゆる遺伝子解析研究ではない。しかし、倫理面への配慮は十分に行い、連結可能匿名化を行ってプライバシーを保護する。対応票は、研究代表者（大森哲郎）が厳重に保管し、解析を行う日立ライフサイエンスセンターには番号のみを通知する。希望者のみを対象とし、本研究の目的、方法、危険性、得られる分析結果、及びその情報の管理について説明し、書面で合意を取得する。尚、研究計画は徳島大学病院倫理委員会の承認を平成13年に、国立精神・神経センター武蔵病院倫理委員会の承認を平成16年2月13日に受けている。

C. 研究結果および考察

本年度は、ECTを受けた2名のうつ病患者の参加を得て、サンプルの解析を開始した。今後、更に患者数を増やして研究を進めていく予定である。

本研究を通して、「ECTによる抑うつ症状の改善」と「DNAチップ所見の変化」の関連を明らかにして、ECTの奏功機序を解明することを目標としている。また、ECT対象群の多くが薬物療法抵抗性のうつ病患者であるため、「ECTと薬物療法によるDNAチップ所見の変化パターンの異同」を詳しく調べることで、①従来明らかになっていなかったうつ病の病態の理解が進み、②今後、新しい抗うつ薬を開発していく際の示唆が得られる可能性もあると考えている。

D. 結論

神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAを解析する革新的なDNAチップを用いて、「ECTによるうつ病の改善」と「mRNA発現パターンの変化」の関係についての調査研究を開始した。本研究は、DNAチップを用いてうつ病でのECTの奏功機序を調査する世界で最初の試みである。今後症例数を増やして、研究を継続する予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

（1）論文発表

1. 原田誠一、佐藤博俊、小堀修、松本武典、大森まゆ、勝倉りえこ、稲森晃一、高島知昭：統合失調症の治療と認知行動療法の活用．精神療法 30: 639-645, 2004

2. 原田誠一：認知療法からみた統合失調症の治療とリハビリテーション．精神経誌 107: 45-51, 2005

3. 原田誠一：統合失調症の個人精神療法－3つのキーワードによる三題噺．こころの科学 120: 99-106, 2005

4. 原田誠一、岡崎裕士、西田淳志、小堀修、勝倉りえこ、松本武典、大森まゆ：統合失調症の早期発見・発症予防の可能性．精神科治療学 20: 11-18. 2004

5. 原田誠一：境界性人格障害治療におけ

る認知療法の実践．精神科治療学 19: 709-718, 2004

（2）学会発表

Harada S. Cognitive therapy for schizophrenia. World Congress of Behavioral and Cognitive Therapies 2004, Kobe, July 20-24(20), 2004

勝倉りえこ、小堀修、原田誠一；抑うつを伴う全般性不安障害の１症例：八ヶ岳シンポジウム　2004.8.21 茅野

佐藤博俊、原田誠一：強迫性障害を合併した統合失調症で認知行動療法が奏功した２症例：八ヶ岳シンポジウム　2004.8.21 茅野

原田誠一、大森まゆ；認知療法の視点からみた統合失調症の精神病理とリハビリテーション：日本精神病理学会　2004.10.7 小諸

大森まゆ、原田誠一；幻覚妄想症状を疑似体験できるバーチャルハルシネーション（VH）の制作ー心理教育や予防に役立つ統合失調症の精神病理・啓蒙用ツールの開発：日本精神病理学会　2004.10.7 小諸

原田誠一、本田秀夫：精神科面接の基本；日本コミュニケーション学会 2004.10.16 横浜

原田誠一；指定討論「精神医学の立場から」：シンポジウム「患者（クライエント）の語りを聴くことの意味—ナラティブ・アプローチの現在」　2004.10.30 東京

原田誠一、小堀修、勝倉りえこ；薬物療法抵抗性の幻覚妄想症状に認知療法が有効であった慢性統合失調症の１症例：日本認知療法学会　2005.2.19 札幌

勝倉りえこ、小堀修、原田誠一；コラム法の技法論：日本認知療法学会　2005.2.19 札幌

小堀修、勝倉りえこ、原田誠一；抑うつを伴う全般性不安障害の１症例ー「女三界に家なし」から「ここは私たちの家だ」へ：日本認知療法学会　2005.2.19 札幌

吉田統子、大森まゆ、原田誠一；精神科デイケアにおける生活機能レベル評価ー本人・スタッフ間の評価の差に着目して：日本認知療法学会　2005.2.19 札幌

稲森晃一、小堀修、勝倉りえこ、大森まゆ、原田誠一；幻聴・自我障害があり生活に支障をきたしていた統合失調症に認知療法が奏功した１症例：日本認知療法学会 2005.2.19 札幌

堀達、小宮山徳太郎、松本武典、原田誠一；行動薬理学を基盤としたアルコール依存症のbio-cognitive model：日本認知療法学会　2005.2.19 札幌

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

精神病性障害の評価と解析

分担研究者　橋本亮太　国立精神・神経センター　神経研究所　疾病研究第三部室長

要旨
うつ病は、心身に著しい苦悩をもたらし、社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、しばしば自殺企図に結びつく。生涯罹患率が１０％にも上るこの疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。主任研究者らは、神経伝達物質、サイトカイン、ホルモンとそれらの受容体や情報伝達分子に加え、ストレスタンパク質などのストレス反応と関連する遺伝子の mRNA の発現量を一括解析する DNA チップを開発した。これを用いた研究から学位審査などのストレスに曝されると、共通の遺伝子発現が増減し、翌日には回復することが判明している。主任研究者らのグループはこの DNA チップをうつ病の早期診断、治療評価および病態研究に応用することに成功している。うつ病と同様に、自殺企図の頻度が高い重篤な精神疾患として、精神病性障害（統合失調症）がある。本研究では、この DNA チップを用いて統合失調症の早期診断、治療評価および病態研究に応用することを目的とする。

A. 研究目的

統合失調症はおよそ人口の 100 人に 1 人が罹患する common disease であるが、思春期～成人早期に発症し、慢性・再発性の経過をたどる難治性疾患である。入院患者は全国で 20 万人を超え、あらゆる病気の中で最も多い。平成 10 年度の日本の精神医療費は 1 兆 6 千億円であるが、その半分以上が統合失調症の治療に費やされる。この疾患の的確な診断と適切な治療体制の確立は、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。病態の評価、早期診断、及び治療評価に応用できる簡便かつ客観的な指標の確立の意義は絶大であり、その必要性は高い。

主任研究者のグループは、神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAの発現量を、白血球を試料として一括解析するDNAチップを開発した。学位審査発表などの心理的ストレスにさらされると、特定の遺伝子発現が増減し、翌日には回復することを見出し、ストレスに鋭敏に反応する測定系となることを確認しており、うつ病における病態解析に応用している。本研究の目的は、このDNAチップを用いて白血球中のmRNA発現量を解析し、統合失調症の診断と病態解析へ応用することである。

B. 研究方法

国立精神・神経センターにて、統合失調症患者、健常被験者に、本診断法開発のための研究に参加することについて文書により説明し同意を得たものを対象とした。診

断はDSMIVにて行い、症状評価スケールによる評価（PANSS:Positive and Negative symptoms scale）や異常不随意運動スケールによる遅発性ジスキネジアの評価（DIEPS:Drug induced extrapyramidal symptoms scale）等を用いて症状評価を行った。採血は、医師または看護師が、安静下に肘静脈より行った。外来診察終了後に血液5mlを採取した。キアゲン社製mRNA抽出用試験管を用いてmRNAを抽出した。
本研究は、国立精神・神経センター武蔵地区倫理審査委員会において承認を受けており、それに基づいて、試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理（匿名化）などを徹底させた。

（倫理面への配慮）
本研究は遺伝子多型解析ではなく、すべての人に発現しているｍＲＮＡの発現量を測定するものであり、いわゆる遺伝子解析研究ではない。しかし、倫理面への配慮は十分に行い、遺伝子解析に準じた連結可能匿名化を行ってプライバシーを保護する。個人情報は、書類に記載されたもの（書類情報）とデータ・ベースに入力されたもの（電子情報）とがあり、前者は、研究参加への同意書と、個人情報や臨床データが記入された個人データ・シートである。書類情報のうち、同意書は２枚綴りであり、１枚をカルテに保管し、もう１枚は個人情報管理者（武蔵病院副院長、補助者：臨床検査室山下智子氏）のもとに集められ、匿名化ＩＤ番号を付与されて、臨床検査室内に金庫に保管される。個人データ・シートは武蔵地区の精神科医師がカルテ情報を基に記入した後に一旦臨床検査室のもとに集められ、原本を臨床検査室内の金庫に保管し、データ・シートから氏名、生年月日、院内ＩＤなどの個人識別情報を削除し、匿名化ＩＤ番号を付与した後に研究所に送られる。

電子情報は、上記の個人識別情報が削除された個人データ・シートに基づいて研究員が外部と切り離されたコンピュータにおいて入力し、フロッピー・ディスクないしMOディスクなどの外部記憶装置を用いて研究責任者が厳重に管理する。また、解析作業を行う場合にも他の一切のコンピュータと切り離された状態で行う。なお、これらの電子情報のファイルには暗証番号を付け、外部記憶装置を紛失した場合でも他人がファイルを開けないような措置を講じる。

C. 研究結果および考察

本研究者は、本年度より分担研究者として本研究班に参加し研究遂行を開始した。初年度は、武蔵病院医師と連携して精神病性障害患者や健常被験者のリクルートを中心に行った。その結果として、精神病性障害約１６０症例と健常被験者約１５０症例のサンプル収集に成功した。精神病性障害患者の第一度親族である健常被験者のサンプルも１０例収集した。また、精神病性障害１６０症例のうち、身体合併症および精神科的合併症（精神発達遅滞など）のないものを約１４０症例収集した。そのうち、未治療の統合失調症が６症例であり、そのうち４症例において治療後（約８週）におけるサンプルを収集した。

D. 考察

精神病性障害は、うつ病とともに、罹患者の精神と身体に著しい苦悩をもたらし、その社会生活に甚大な支障をきたすばかりか、自殺企図に結びつくことも少なくない重大な疾患である。よってこの疾患を的確に診断し、すみやかに治療する体制を確立することは、国民生活の向上に必須であり、社会全体の急務である。

しかし、精神病性障害の診断は簡単なものではなく、十分に熟練した精神科専門医による一時間ほどの面接により、その症状を的確に把握することが必要である。さらに一般的身体状態および神経学的状態に大きな異常のないことを確認し、必要に応じて脳波や脳画像検査によって脳器質性疾患を除外して診断に至る。得られた所見を、世界保健機構（WHO）やアメリカ精神医学会による診断基準と照合し、診断を確定することが一般的である。診断に習熟を要するのは、簡便かつ客観的な症状評価方法が存在しないことが大きな要因となっている。

本研究班の成果として、mRNAの発現パターンを指標として、うつ病を健康成人および統合失調症から識別できること、および治療経過にそった変化が捉えられることが得られている。よって統合失調症においても同様に、白血球内のmRNAが、特有の発現パターンを示すことを見出せる可能性がある。

E. 結論

神経伝達物質、サイトカイン、ホルモン、熱タンパク質などと関連する遺伝子1500種のmRNAを解析する革新的なDNAチップを用い、統合失調症の新しい評価方法の確立を目指して研究を行った。本年度においては、多数のサンプル収集に成功した。

本研究は先端的かつ独創的なものであるが、一方で患者負担は少量通常採血のみであり、統合失調症評価への臨床応用が現実的である。プライマリーケア、健康診断、精神科診療施設などの場で早期診断、病態評価および治療評価に応用可能である。統合失調症の診断や治療に客観的な指標の導入を実現させることが期待され、社会的・医療行政的意義は大きい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hashimoto R, Okada T, Kato T, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. The breakpoint cluster region (BCR) gene on chromosome 22q11 is associated with bipolar disorder. Biological Psychiatry (in press)

Miki R, Hattori K, Taguchi Y, Tada M, Isosaka T, Hidaka Y, Hirabayashi T, Hashimoto R, Fukuzako H, Yagi T. Identification and characterization of coding single-nucleotide polymorphisms within human protocadherin-alpha and beta gene clusters. Gene (in press)

Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T,

Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. A missense polymorphism (H204R) of a Rho GTPase-activating protein, the chimerin 2 gene, is associated with schizophrenia in men. Schizophr Res, 73(2-3): 383-385, 2005.

Hashimoto R, Suzuki T, Iwata N, Yamanouchi Y, Kitajima T, Kosuga A, Tatsumi M, Ozaki N, Kamijima K, Kunugi H. Association study of the frizzled-3 (FZD3) gene with schizophrenia and mood disorders. J Neural Transm, 112(2):303-307, 2005.

Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Okada T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Tatsumi M, Kamijima K, Straub RE, Weinberger DR, Kunugi H, Hashimoto R. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. Hum Mol Genet, 13(21):2699-2708, 2004.

Hashimoto R, Straub RE, Weickert CS, Hyde TM, Kleinman JE, Weinberger DR. Expression Analysis of Neuregulin-1 in the Dorsolateral Prefrontal Cortex in Schizophrenia, Mol Psychiatry, 9(3):299-307, 2004.

Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. Association analysis of the -308G>A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor alpha (TNF-α) gene in Japanese patients with schizophrenia, J Neural Transm, 111(2):217-21, 2004.

Kunugi H, Hashimoto R, Yoshida M, Tatsumi M, Kamijima K. A missense polymorphism (S205L) of the low-affinity neurotrophin receptor $p75^{NTR}$ gene is associated with depressive disorder and attempted suicide. Am J Med Genet, 129B:44-46, 2004.

Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. Analysis on enhancer activity of a dinucleotide repeat polymorphism in the neurotrophin-3 gene and its association with bipolar disorder. Neuropsychobiology, 50(3):206-10, 2004.

Weickert CS, Straub RE, McClintock BW, Matsumoto M, Hashimoto R, Hyde, TM, Herman MM, Weinberger DR, Kleinman JE. Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain, Arch Gen Psychiatry, 61:544-555, 2004.

Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T. Lack of association between XBP1 genotype and calcium

signaling in the platelets of healthy subjects. Neurosci Lett. 369(1):1-3, 2004.

Kunugi H, Iijima Y, Tatsumi M, Yoshida M, Hashimoto R, Kato T, Sakamoto K, Inada T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Yamada K, Yoshikawa T. No association between the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and bipolar disorder in Japanese: a multi-center study. Biol Psychiatry. 56(5):376-8, 2004.

Numakawa T, Ishimoto T, Suzuki S, Numakawa Y, Adachi N, Matsumoto T, Yokomaku D, Koshimizu H, Fujimori KE, Hashimoto R, Taguchi T, Kunugi H. Neuronal roles of integrin-associated protein (IAP/ CD47) in developing cortical neurons. J Biol Chem, 279(41):43245-53, 2004

2. 学会発表

Hashimoto R, Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Okada T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Tatsumi M, Kamijima K, Straub RE, Weinberger DR, Kunugi H. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. Society for neuroscience annual meeting, San Diego, USA, October 23-27(23), 2004.

Masui T, Kusumi I, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Tanaka T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T. Relationship between XBP1 gene polymorphism and intraplatelet calcium signaling or personality traits. Society for neuroscience annual meeting, San Diego, USA, October 23-27(23), 2004.

Hattori S, Hashimoto R, Miyakawa T, Maeno H, Wada K, Kunugi H. Enriched environment influences depression-related behaviors and hippocampal neurogenesis in mice. Society for neuroscience annual meeting, San Diego, USA, October 23-27(24), 2004.

Numakawa T, Yagasaki Y, Hashimoto R, Kunugi H. Glucocorticoid depress brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-induced glutamate release in cultured neurons. Society for neuroscience annual meeting, San Diego, USA, October 23-27(26), 2004.

Law AJ, Lipska B, Weickert CS, Hyde TM, Hashimoto R, Harrison PJ, Weinberger DR, Kleinman JE. Splice variant - specific alterations of Neuregulin-1 gene expression in the hippocampus in schizophrenia. Society for neuroscience annual meeting, San Diego, USA, October 23-27(23), 2004.

Hashimoto R, Numakawa T, Yagasaki Y, Ishimoto T, Okada T, Suzuki T, Iwata N,

Ozaki N, Taguchi T, Tatsumi M, Kamijima K, Straub RE, Weinberger DR, Kunugi H. Evidence of novel neuronal functions of dysbindin, a susceptibility gene for schizophrenia. IPA / Asia Pacific Regional Meeting, Seoul, Korea, September 8-11(9), 2004.

Hashimoto R, Yoshida M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. Association analysis of the -308G>A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor alpha (TNF-α) gene in Japanese patients with schizophrenia, International Congress of Biological Psychiatry, Sydney, Australia, February 9-13(11), 2004.

橋本亮太
統合失調症脆弱性遺伝子ディスバインジンの関連解析と神経細胞における機能解析　センリライフサイエンスセミナー、ブレインサイエンスシリーズ第17回、大阪、10.19, 2004.

橋本亮太、田所 和幸、岡田武也、鈴木竜世、岩田仲生、山之内芳雄、北島剛司、尾崎紀夫、加藤忠史、巽雅彦、上島国利、功刀浩　低分子量Gタンパク質Rho関連遺伝子と精神疾患　第12回日本精神・行動遺伝医学会、東京、10.16, 2004.

橋本亮太、沼川忠広、矢ケ崎有希、石本哲也、鈴木竜世、岩田仲生、尾崎紀夫、田口隆久、巽雅彦、上島国利、Richard E. Straub, Daniel R. Weinberger、功刀浩
シンポジウム：こころの病の遺伝学
統合失調症脆弱性遺伝子ディスバインジンの関連解析と神経細胞における機能解析　第49回日本人類遺伝学会、東京、10.12-15(13), 2004.

橋本亮太、尾崎紀夫、岩田仲生、山之内芳雄、鈴木竜世、北島剛司、巽雅彦、上島国利、功刀浩　Chimerin2遺伝子のH204Rミスセンス多型は男性において統合失調症と関連する　第49回日本人類遺伝学会、東京、10.12-15(13), 2004.

橋本亮太、沼川忠広、矢ケ崎有希、石本哲也、鈴木竜世、岩田仲生、尾崎紀夫、田口　隆久、巽雅彦、上島国利、Richard E. Straub, Daniel R. Weinberger、功刀浩　統合失調症脆弱性遺伝子ディスバインジンの関連解析と神経細胞における機能解析　第27回日本神経科学学会・第47回日本神経化学合同年会、大阪、9.21-23(21), 2004.

服部聡子、橋本亮太、宮川剛、前野浩巳、和田圭二、功刀浩　豊かな飼育環境と抗うつ効果：マウスにおける検討
第27回日本神経科学学会・第47回日本神経化学合同年会、大阪、9.21-23(22), 2004.

橋本亮太、沼川忠広、矢ケ崎有希、石本哲也、鈴木竜世、岩田仲生、尾崎紀夫、田口　隆久、巽雅彦、上島国利、Richard E. Straub, Daniel R. Weinberger、功刀浩　統合失調症脆弱性遺伝子ディスバイ