

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

気分障害の高精度候補領域解析および精神疾患

ゲノムバンクの構築

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉川 武男

平成18（2006）年 4月

目次

I. 総括研究報告

気分障害の高精度候補領域解析および精神疾患ゲノムバンクの構築 -----1

吉川武男

- (参考資料) 1. 複雑遺伝疾患の遺伝解析アプローチの変遷
2. 一次スクリーニング
3. 100K GeneChip (Affymetix)
4. *P*-values of genome-wide allelic association
5. 関連解析の結果
6. 二次解析

II. 分担研究報告

1. 家系の収集 -----14

岡崎祐士

2. FKBP5 および CRHR1 の遺伝解析-----17

尾崎紀夫

3. 家系の収集、遺伝子解析 -----19

加藤忠史

4. 精神疾患ゲノムバンク対象疾患における

Chromogranin A 遺伝子の大規模追加解析 -----21

稲田俊也

5. 気分障害におけるレトロポゾン Alu 挿入のメチル化状態について -----27

南光進一郎

6. 神経栄養因子遺伝子多型と気分障害 -----31

功刀 浩

7. 家系の収集および候補遺伝子の遺伝学的解析 -----54

三辺義雄

8. ラット視床下部 cDNA ライブラリーからストレス関連因子を

網羅的にスクリーニングする方法の確立研究 -----58

三國雅彦

9. 双極性障害の連鎖領域における候補遺伝子の解析に関する研究 -----62

塩江邦彦

10. 家系収集ならびに気分障害の再発に関与する遺伝子の探索 -----66

西川 徹

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----70

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷 -----76

気分障害の高精度候補領域解析および
精神疾患ゲノムバンクの構築に関する研究

主任研究者 吉川 武男 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 チームリーダー

研究要旨

気分障害の成因として感受性遺伝子群の寄与が明らかとなっているが、本研究では、これまで結論が不明確になりがちであった気分障害の遺伝子研究を、全国の気分障害遺伝研究で実績を持つ施設が共同し、力を結集して水準の高い遺伝子解析を実現することを目指した。具体的戦略は昨年と同様以下の5項目が基軸であり、それらを推進した：（1）解析対象の表現型を絞り遺伝的異質性を改善する、（2）解析対象サンプル数をなるべく多くする、（3）ゲノム上の候補遺伝子、候補領域に対して連鎖不平衡を考慮した十分な密度のタイピングをし、またハプロタイプの構築など精緻な遺伝解析を行う、（4）集団遺伝学的な解析で確かな証拠が得られた遺伝子多型については機能的な裏付けを行う、（5）収集するサンプルのリンパ球を株化し、「精神疾患ゲノムバンク」の構築の準備をする。今年度は、特に全ゲノム網羅的関連解析に注力した。

分担研究者

分担研究者

岡崎祐士（三重大学医学部・教授）
尾崎紀夫（名古屋大学医学部・教授）
加藤忠史（理化学研究所脳科学総合研究センター・
グループディレクター）
稲田俊也（帝京大学医学部・教授）
南光進一郎（帝京大学医学部・教授）
功刀浩（国立精神・神経センター神経研究所・部長）
三辺義雄（浜松医科大学・講師）
西川徹（東京医科歯科大学・教授）
三國雅彦（群馬大学医学部・教授）
塩江邦彦（山梨大学医学部・講師）

A. 研究目的

基本的には本研究開始時の一昨年（平成15年度）と同様であり、今年度（平成17年度）は、着実に一步一步研究を推進した。再掲すると、2大内因性精神疾患の1つである気分障害は、主にうつ病と躁うつ病から成り、比較的高い発症頻度をもつ（うつ病で生涯発症率20-30%、躁うつ病で1%弱）。薬物で症状を完全にはコントロールできない症例も多く、中高年の自殺の潜在的な原因として大きな問題ともなっている。このように、気分障害はその頻度の高さ、患者個人、家族、そして社会に及ぼす影響を考えると、原因究明、それに基づく合理的な治療の開発、予防法確立への努力は、厚生労働行政の重要な課題と言える。気分障害の発症には、遺伝的な基盤が関与することが明らかとなっている。例えば躁うつ病については、遺伝子の寄与は70%前後と推定さ

れている。よって、遺伝的基盤を明らかにしていく研究は、気分障害の原因究明—それに基づく医療・福祉の援助の考案にとって必要不可欠である。ただ、気分障害の発症に係る遺伝子(感受性遺伝子)は複数存在し、1つ1つの遺伝子の効果は大きくないことが予想されている(オッズ比は高々1.5~2程度)。このような複雑遺伝機構により、これまでの分子遺伝学的な研究は結果が曖昧なものが多かった。感受性遺伝子群の疾患の発症に対する関与の程度を明確にするには、(1)解析対象の表現型を絞り遺伝的異質性を改善する、(2)解析対象サンプル数をなるべく多くする、(3)ゲノム上の候補遺伝子、候補領域に対して連鎖不平衡を考慮した十分な密度のタイピング、ハプロタイプの構築など精緻な遺伝解析を行う、(4)集団遺伝的な解析で確かな証拠が得られた遺伝子多型については機能的な裏付けを調べる、の4つが必要と考える。本研究では、これら4条件を高い水準で満たした「気分障害の高精度候補遺伝子・候補領域解析」のアプローチをとることによって、多くの偽陽性および偽陰性の両方を排除し、真の感受性遺伝子群を明らかにし、診断・創薬・予防の根本的方策につながることを目的とする。(5)また、遺伝子研究においては長期的な視野に立った研究資源の整備が重要と考え、収集するサンプルの末梢血リンパ球を株化し、「精神疾患ゲノムバンク」の構築を目指す。このようなリソースは、当該研究の近視眼的成果ばかりでなく、幅広く国民の保健・医療・福祉の充実に資することが期待されるからである。

今年度は、技術革新によって10万SNPs(single nucleotide polymorphisms: 一塩基置換)のゲノムスキャンが実現が可能となったため、気分障害感受性遺伝子の網羅的同定に特に注力した。

B. 研究方法

我々は、一昨年度から以下の4項目を研究の基軸に据えて気分障害の感受性遺伝子同定という研究目標にアプローチしている。

- (1)解析対象の表現型を絞り遺伝的異質性を改善する。
- (2)解析対象サンプル数をなるべく多くする
- (3)ゲノム上の候補遺伝子、候補領域に対して連鎖不平衡を考慮した十分な密度のタイピング、ハプロタイプの構築など精緻な遺伝解析を行う。
- (4)集団遺伝的な解析で確かな証拠が得られた遺伝子多型については機能的な裏付けを調べる。

これら方法論の詳細については、一昨年および昨年度報告した。今年度はさらに、昨年feasibility studyを行ったマイクロアレイを用いた疾患感受性遺伝子の網羅的同定を加えた。マイクロアレイの具体的方法論に関しては、昨年度の報告書で詳述した。検体は、年齢・性別をマッチさせた、双極性障害I型107例、対照群サンプル107例を用いた。アレイはAffymetrix社の100K SNP Chipを使用した。

(倫理面への配慮)

現在、研究参加施設すべてが3省庁合同倫理指針に準拠した倫理委員会で、本研究に関するプロトコルが承認されている。研究は、これら承認を受けたプロトコルを遵守し、研究参加者の人権に十分配慮し不利益がないよう留意し、また対象者に対する十分な説明と理解を確認しながら行っている。

C. 研究結果

- (1)全国ネットワークによる双極性障害サンプル収集

気分障害の中でも、発症に関して遺伝的効果が大きくかつ遺伝的異質性が少ないと考えら

れる双極性障害に解析の対象を絞っているが、双極性障害を単独ないし少数施設で十分な数収集するのは現実に非常に困難である。よって本研究では、分担研究者が中心となり気分障害の遺伝的研究の全国組織 JGIMD (Japanese Genetics Initiative for Mood Disorder、代表世話人：樋口輝彦、岡崎祐士、吉川武男) を立ち上げた(一昨年度および昨年度報告済み)。現在大学病院を中心に 44 施設に参加いただいている。これまでに合計 600 例以上の双極性障害サンプルが収集できたが、検体 DNA の量、質および対照群との年齢・性別のマッチングを考慮すると、約 500 サンプルがゲノム研究に適する結果となった。

(2) 全ゲノム関連解析

双極性 I 型 107 例、年齢性別をマッチさせた対照群 107 例を用いて、Affymetrix 社の 100K SNP chip を使って全ゲノム上の 10 万個の SNP 解析を行った。製品の販売が平成 16 年後半であったため、解析時間には限りがあり、本研究では第 1 次スクリーニングまでとなった。常染色体上の SNP で、 $P < 0.01$ 以下で対立遺伝子頻度および遺伝子型頻度で有意だったもの 1516 個、X 染色体上の SNP で同様に有意だったもの 60 個、合計 1576 個の SNP を選択した。これらは現在イルミナのプラットフォームで、約 400 例の双極性障害、年齢性別をマッチさせた 400 例の対照群サンプルを用いて第 2 次スクリーニングを遂行している段階である。(参考資料 1, 2, 3, 4, 5, 6)

D. 考察

本研究の最終目標は、オールジャパンの総力を結集して双極性障害のサンプルを出来るだけ多く収集し、10 万 SNPs による全ゲノム関連スクリーニングをすることにおいていたが、最終年度にあたり第一次スクリーニングを完了すること

ができたのは、意義深いと考える。

E. 結論

気分障害の感受性遺伝子の同定に向けて、質の高い遺伝解析を実現すべく組織した共同研究体制は、平成 16 年度と同様その成果を着実に積み上げた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英語原著論文)

1. Aoki-Suzuki M, Yamada K, Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Ohba H, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Suto Y, Nakatani N, Dean B, Nishimura S, Seki K, Kato T, Itohara S, Nishikawa T, Yoshikawa T: A family-based association study and gene expression analyses of netrin-G1 and -G2 genes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 57: 382-393, 2005.
2. Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Itokawa M, Toyota T, Meerabux JMA, Minabe Y, Mori N, Inada T, Yoshikawa T: Extended analyses support the association of a functional (GT)_n polymorphism in the *GRIN2A* promoter with Japanese schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 378: 102-105, 2005.
3. Yamada K, Ohnishi T, Hashimoto K, Ohba H, Iwayama-Shigeno Y, Toyoshima M, Okuno A, Takao H, Toyota T, Minabe Y, Nakamura K, Shimizu E, Itokawa M, Mori N, Iyo M and Yoshikawa T: Identification of multiple

- serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol Psychiatry* 57: 1493-1503, 2005.
4. Iwamoto K, Bundo M, Yamada K, Takao H, Iwayama-Shigeno Y, Yoshikawa T, Kato T: DNA methylation status of the *SOX10* CpG island correlates with its down-regulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J Neurosci* 25: 5376-5381, 2005.
 5. Meerabux JMA, Ohba H, Fukasawa M, Suto Y, Aoki-Suzuki M, Nakashiba T, Nishimura S, Itohara S and Yoshikawa T: Human netrin-G1 isoforms show evidence of differential expression. *Genomics* 86: 112-116, 2005.
 6. Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Sakurai T, Ohba H, Toyota T, Yamada K, Ruby Nagata R, Irukayama-Tomobe Y, Shimizu H, Yoshitsugu K, Ohta K and Yoshikawa T: Association of an orexin 1 receptor 408Val variant with polydipsia- hyponatremia in schizophrenics. *Biol Psychiatry* 58: 401-407, 2005. Cover Photo.
 7. Hattori E, Liu C, Zhu Hand, Gershon ES: Genetic tests of biologic systems in affective disorders. *Molecular Psychiatry* 10: 719-740 2005
 8. Ide M, Yamada K, Toyota T, Iwayama-Shigeno Y, Ishitsuka Y, Minabe Y, Nakamura K, Hattori N, Asada T, Mizuno Y, Mori N, Yoshikawa T: Genetic association analyses of *PHOX2B* and *ASCL1* in neuropsychiatric disorders: evidence for association of *ASCL1* with Parkinson's disease. *Human Genetics* 117: 520-527, 2005.
 9. Kato T, Iwayama-Shigeno Y, Kakiuchi C, Iwamoto K, Yamada K, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Nanko S, Yoshikawa T: Gene expression and association analyses of *LIM (PDLIM5)* in bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry* 10: 1045-1055, 2005.
 10. Iwamoto K, Bundo M, Nakatani N, Yoshikawa T, Kato T: Altered RNA editing of serotonin 2C receptor in a rat model of depression. *Neuroscience Research* 53: 69-76, 2005.
 11. Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Kunugi H, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T: Functional polymorphisms of *HSPA5*: possible association with bipolar disorder. *Biochem Biophys Res Commun* 336: 1136-43, 2005.
 12. JSSLG, Arinami T, Ohtsuki T, Ishiguro H, Ujike H, Tanaka Y, Morita Y, Mineta M, Takeichi M, Yamada S, Imamura A, Ohara K, Shibuya H, Ohara K, Suzuki Y, Muratake T, Kaneko N, Someya T, Inada T, Yoshikawa T, Toyota T, Yamada K, Kojima T, Takahashi S, Osamu O, Shinkai T, Nakamura M, Fukuzako H, Hashiguchi T, Niwa S, Ueno T, Tachikawa H, Hori T, Asada T, Nanko S, Kunugi H, Hashimoto R, Ozaki N, Iwata N, Harano M,

- Arai H, Ohnuma T, Kusumi I, Koyama T, Yoneda H, Fukumaki Y, Shibata H, Kaneko S, Higuchi H, Yasui-Furukori N, Numachi Y, Itokawa M, Okazaki Y: Genome-wide high density SNP linkage analysis of 236 Japanese families supports the existence of schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 1p, 14q, and 20p. *Am J Hum Genet* 77: 937-944, 2005.
13. Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M: Association between polymorphisms in the promoter region of the sialyltransferase 8B (*SIAT8B*) gene and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59: 652-659, 2006.
 14. Iwayama Y, Hashimoto K, Nakajima M, Toyota T, Yamada K, Shimizu E, Itokawa M, Hoshika A, Iyo M, Yoshikawa T: Analysis of correlation between serum D-serine levels and functional promoter polymorphisms of *GRIN2A* and *GRIN2B* genes. *Neurosci Lett* 394: 101-104, 2006.
 15. Nakamura K, Yamada K, Iwayama Y, Tomoko Toyota T, Furukawa A, Takimoto T, Terayama H, Iwahashi K, Takei N, Minabe Y, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y, Pillai A, Nakamoto Y, Ikeda K, Yoshii M, Fukunishi I, Yoshikawa T, Mori N: Evidence that variation in the peripheral benzodiazepine receptor (PBR) gene influences susceptibility to panic disorder. *Am J Med Genet* 141B: 222-226, 2006.
 16. Arai M, Obata N, Kockelkorn TJP, Yamada K, Toyota T, Haga S, Yoshida Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T, Itokawa M: Lack of association between polymorphisms in the 5' upstream region of the *DISC1* gene and mood disorders. *Psychiat Genet* in press.
 17. Yoshitsugu K, Yamada K, Toyota T, Aoki-Suzuki M, Minabe Y, Nakamura K, Sekine Y, Suzuki K, Takei N, Itokawa M, Mori M, Yoshikawa T: Novel scale including strabismus and 'cuspidal ear' for distinguishing schizophrenia patients from controls using minor physical anomalies. *Psychiatry Research* in press.
 18. Yamada K, Hattori E, Iwayama Y, Ohnishi T, Ohba H, Toyota T, Takao H, Minabe Y, Nakatani N, Higuchi T, Detera-Wadleigh SD, Yoshikawa T: Distinguishable haplotype blocks in the *HTR3A* and *HTR3B* region in the Japanese reveal evidence of association of *HTR3B* with female major depression. *Biol Psychiatry* in press.
 19. Hatada I, Fukasawa M, Kimura M, Morita S, Yamada K, Yoshikawa T, Sakurada A, Sato M, Horii A, Kato A, Tsujimoto A, Matsubara K, Ushijima T, Sasaki H: Genome-wide profiling of promoter methylation in humans. *Oncogene* in press.
 20. Iwamoto K, Bundo M, Yamada K, Takao H, Iwayama Y, Yoshikawa T, Kato T: A family-based and case-control association study of *SOX10* in schizophrenia. *Am J Med Genet* in press.

21. Shimizu H, Iwayama Y, Yamada K, Toyota T, Yoshio Minabe Y, Nakamura K, Nakajima M, Hattori E, Mori N, Osumi N, Yoshikawa T: Genetic and expression analyses of the STOP (*MAP6*) gene in schizophrenia. *Schizophrenia Research* in press.
22. Doi N, Itokawa M, Hoshi Y, Arai M, Furukawa A, Ujike H, Sora I, Yoshikawa T: A resistance gene in disguise for schizophrenia? *Am J Med Genet* in press.
23. Nakamura K, Chen C-K, Yoshimoto Sekine Y, Iwata Y, Pillai A, El-Wui Loh E-W, Takei N, Suzuki A, Kawai M, Takebayashi K, Suzuki K, Minabe Y, Tsuchiya K, Yamada K, Iyo M, Ozaki N, Toshiya Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, David M Ball DM, Yoshikawa T, Lin S-K, Mori N: Association Analysis of SOD2 Variants with Methamphetamine Psychosis in Japanese and Taiwanese Populations. *Hum Genet* in press.

(日本語総説)

1. 山田和男、岩山佳美、吉川武男：マイクロアレイを用いた疾患感受性遺伝子の同定。臨床検査 Vol. 49 No. 5 509-511 2005
2. 大西哲生、大羽尚子、佐藤友美、Sung-Kee Chung、平林義雄、山田和男、岩山佳美、古市貞一、吉川武男：精神疾患感受性候補遺伝子 IMPA2 の機能解析。精神薬療研究年報 37, 42-48
3. 糸川昌成、新井誠、古川愛造、小幡菜々子、

柴田伸江、佐藤加奈、太朗良久美、吉田有希、氏家寛、曾良一郎、吉川武男：統合失調症の治療抵抗性・難治性に關与する候補遺伝子研究。精神薬療研究年報 37, 116-120

4. 糸川昌成、吉川武男：統合失調症關連遺伝子。日本臨床、Vol. 63, 437-440、2005.
5. 糸川昌成、吉川武男：統合失調症のグルタミン酸低下仮説。Clinical Neuroscience、Vol. 24, No. 2, 215-218、2006.
6. 糸川昌成、吉川武男：話題になった遺伝子多型その後-DISC1. 分子精神医学、Vol. 6, No. 1, 77-83、2006.

2. 学会発表

(国際学会)

1. Yamada K, Iwayama Y, Hattori E, Ishitsuka Y, Toyota T, Minabe Y, Mori N, Yoshikawa T: Genome-wide association study of trio samples on 100K SNPChip in Japanese schizophrenic pedigrees. 13th World Congress on Psychiatric Genetics, Boston, 2005.10

(国内学会)

2. 山田和男、吉川武男：「マイクロアレイによる全染色体領域關連解析－可能性と問題点－」、第32回日本脳科学会、千葉、2005年6月
3. 中島みずほ、山田和男、岩山佳美、三辺義雄、森則夫、豊田倫子、吉川武男：「DRD4 遺伝子多型の系統発生学的検討」、第32回日本脳科学会、千葉2005年6月

4. 井出政行、大西哲生、山田和男、岩山佳

美、豊田 倫子、村山 美由紀、松本 出、Irina Dedova、高島 明彦、朝田 隆、吉川 武男：「統合失調症患者における AKT1 関連タンパク質の測定」、第 27 回日本生物学的精神医学会/第 35 回日本神経精神薬理学会、大阪、2005 年 7 月

5. 中島 みずほ、山田 和男、岩山 佳美、三辺 義雄、森 則夫、豊田 倫子、星加 明德、吉川 武男：「日本人における統合失調症と DRD4 遺伝子多型との関連研究」、第 27 回日本生物学的精神医学会/第 35 回日本神経精神薬理学会、大阪、2005 年 7 月

6. 大西 哲生、大羽 尚子、佐藤 友美、三津井 五智子、Sang-Kee Chung、吉原 良浩、古市 貞一、吉川 武男：「気分安定薬リチウムの標的候補イノシトールモノフォスファターゼ 2 の生化学的性質」、第 27 回日本生物学的精神医学会/第 35 回日本神経精神薬理学会、大阪、2005 年 7 月

7. 服部栄治：「気分障害のリスク遺伝子」、第 27 回日本生物学的精神医学会/第 35 回日本神経精神薬理学会、大阪、2005 年 7 月

8. 吉川 武男 「Genetic analysis of schizophrenia-related trait in mice」第 48 回日本神経化学会大会、福岡、2005 年 9 月

9. 服部栄治：「双極性障害の感受性遺伝子同定とその成果応用の可能性」日本薬理学会、横浜 2006 年 3 月

(シンポジウム等)

10. 吉川武男：「Neurodevelopmental model of

schizophrenia: minor physical anomalies and a gene」長岡技術科学大学 21 世紀 COE プログラムーグリーンエネルギー革命による環境再生 第 6 回国際シンポジウム、長岡 2006 年 1 月

11. 吉川武男：「統合失調症関連遺伝子ンドフェノタイプ・動物モデルからのアプローチ」、第 10 回静岡スキゾフレニア研究会、静岡 2006 年 2 月

12. 大西哲生：「Functional analysis of myo-inositolmonophosphatase2 (IMPA2)」長岡技術科学大学 21 世紀 COE プログラムーグリーンエネルギー革命による環境再生 第 6 回国際シンポジウム、長岡 2006 年 1 月

II. 知的財産権の出願・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。

参考資料1

複雑遺伝疾患の遺伝解析アプローチの変遷

候補遺伝子アプローチ



Cascade-based アプローチ



Whole Genome Association Scan (WGA)

(2005~)

参考資料2

一次スクリーニング

○ 対象

- ケース: **JGIMD (双極I型障害) 107例**

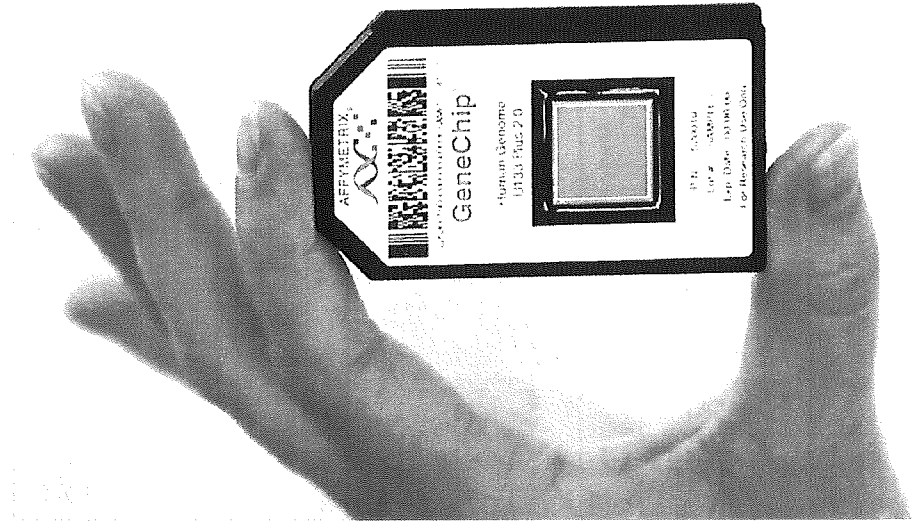
	Males	Females	Total
Counts	53	54	107
Mean age	50.2	50.0	50.1
Std	14.9	14.6	14.7

- コントロール: **107例**

	Male s	Females	Total
Counts	53	54	107
Mean age	50.2	49.8	50.0
Std	14.4	14.1	14.2

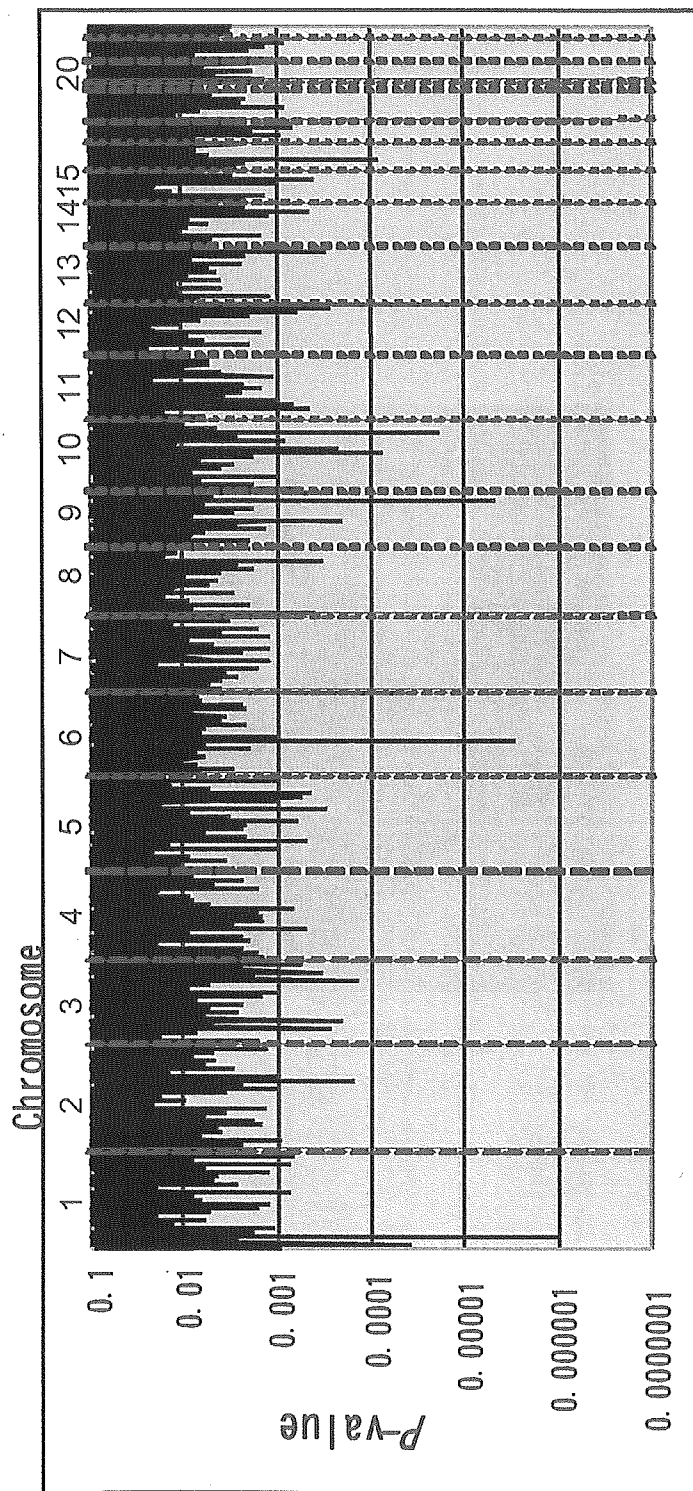
参考資料3

100K GeneChip (Affymetrix).



参考資料4

P-values of genome-wide allelic association



参考資料5

関連解析の結果

- 常染色体 $P < .01$
 - Allelic association 764
 - Genotypic association 901
 - Recessive model 1035

- X染色体 $P < .01$
 - Allelic association 30
 - Genotypic association (female) 13
 - Recessive model 17

- 合計 1576 SNPs

二次解析

一次で有意な1576マーカーについて、別個のサンプルセットにより追試を行う。

- 820 検体 (410 cases and 410 controls), 1536 SNPs
- Illumina社による委託ジェノタイピングサービスを利用
- 同社のデザインアッセイに合わないものマーカーは、可能なら連鎖不平衡($r^2 > 0.8$)にある他のマーカーに置き換える。

気分障害の高精度候補領域解析および精神疾患ゲノムバンクの構築

〔分担研究課題〕 家系の収集

分担研究者 岡崎 祐士（三重大学医学部精神神経科学・教授）

研究要旨

中高年の自殺の主要な原因であるうつ病を含む気分障害は、数%という生涯発症頻度が高く、数ヶ月（時に数年）の就業・就学を不可能にするエピソードが反復しやすいため、患者個人や家族だけでなく社会全体にとっても大きな損失と負担を強いるものである。したがって、気分障害の原因究明、それに基づく薬剤の開発、合理的な治療法や予防法確立への努力は、厚生労働行政の重要な課題と言える。

複雑疾患である気分障害の成因として感受性遺伝子群の寄与が明らかとなっているが、本研究はこれまで結論が不明確になりがちであった気分障害の遺伝子探索研究を、気分障害遺伝研究で実績を持つ施設の共同により、水準の高いサンプリングと解析を目指している。具体的には、（１）対象の表現型を絞り遺伝的異質性を改善する、（２）サンプル数を大規模なものにする、（３）連鎖不平衡高密度タイピング、ハプロタイプ解析など精緻な遺伝解析の併用、（４）証拠が得られた遺伝子多型の機能的裏付け解析、の４項目を研究の基軸に据えている。

分担研究者は、本研究の中核的研究組織である全国共同研究組織 JGIMD の組織化と家系集積を分担している。本年度は昨年同様この JGIMD の組織強化を主任研究者に協力する形で取り組んだ。また、一昨年度立ち上げた三重県内の５精神科医療施設による気分安定薬の共同治験研究体制を継続している。20 数例の登録がなされた。さらに、一卵性双生児気分障害（うつ病）不一致例の遺伝子発現差異をマイクロアレイによる検討も継続中である。

A. 本研究の目的

本研究は、複雑疾患である気分障害の発症に関わる感受性遺伝子群を高密度多型マーカー（SNPs など）による連鎖不平衡解析を機軸に候補遺伝子・候補変異をマッピングし、その変異の機能解析によって、気分障害の分子機構を解明しようとする研究である。

分担研究者は、この研究において、気分障害の日本人患者を全国的に集積し、感受性遺伝子マッピングを目指す気分障害遺伝子全国共同研究組織 JGIMD の組織化と家系集積を分担している。

この課題の遂行の前提条件となる機能性精神疾患の連鎖及び相関研究による感受性遺伝子解明のための研究計画については、平成 14 年 5 月に所属する三重大学医学部研究倫理委員会において、研究計画の承認を受けている。主任研究者

の施設においてもそれに先行して所属施設における承認が得られており、これらを参考にした JGIMD 参加施設における倫理委員会での研究計画の承認が進んでいる。現在、ほぼすべての施設が研究計画を倫理委員会に承認を受けている。JGIMD は約 40 施設が参加しており、この組織が十分に機能するならば、大きな標本の集積が可能になる。本年度も昨年同様、主に 3 つの課題に注力した：（１）JGIMD の機能を活性化、（２）独自の分担課題として、気分障害、とくに双極性障害のサンプリングを行う、（３）気分障害不一致一卵性双生児不一致ペアの遺伝子発現の差異の検討。

B. 方法

（１）全国的なサンプリング

JGIMD は当初相極性障害の罹患同胞対家系集積

を主に目指したが、罹患同胞対の発見数が少なくサンプリング家系が少ないこと、膨大な数の SNPs 多型の集積や Chip の開発などの技術的進歩によって、ケースコントロールのゲノムワイドな連鎖不平衡解析によって候補遺伝子や多型のマッピングが可能になった。そのような状況に対応して、JGIMD の重点も、大きなケース(双極性障害)・コントロールのサンプル収集に移行した。また、トリオサンプルによる伝達不平衡解析も確認のために併用することが望ましいので、両親と患者である子どものトリオ家系サンプルも集積することにした。倫理委員会で承認された文書による説明と同意によって、自発的に協力を得た対象者の末梢血を採血し、血液の一部は匿名化・コード化して、主任研究者に送付し、株化(不死化)を行う。DNA 抽出は各施設で行い、いずれも研究期間は、サンプル収集施設では連結可能匿名化して保存する。各研究施設から主任研究者の施設を含む多施設に出る場合には、検体授受の覚書を交わし、管理と責任を明確にして行う。

(2) 三重県におけるサンプル収集

JGIMD 参加施設である三重大学医学部附属病院ではサンプリング可能であるが、倫理委員会がない外部の施設におけるサンプル収集については、研究計画書に記載したように、「つまり、「施設管理責任者(院長等)に対して研究者は研究計画を文書で説明し理解を得る。施設管理責任者(院長等)からの説明に賛同する主治医からの説明により研究者と会うことを承諾した対象者(患者・家族)に研究者が会い、インフォームドコンセントの手続きを行う。」というルールに従って行うものである。一昨年度企画し、昨年度スタートした三重県下 5 病院の双極性障害気分調節薬の治験による双極性障害登録を継続した。

(3) 一卵性双生児気分障害(うつ病)不一致例の遺伝子発現差異をビーズ法マイクロアレイによって検討した。

C. 結果

1. 全国サンプリング

JGIMD は参加施設が 40 施設に及んでいるがすべての施設が活発にサンプリングを行っているわけではない。実績がある施設によって COSMO という内部組織が組織され、JGIMD 全体の牽引的役割を担っている。しかし、JGIMD はわが国唯一の気分障害遺伝子共同研究組織であり、国際的にも数少ない組織である。年間 2 回の会議を設け、また随時の連絡網を確立してサンプリングを促進している。本研究課題の採用によって活性化を保っている。

2. 三重県におけるサンプリング

平成 16 年度から、前記のようにサンプリング

の母体となる気分障害薬の薬効治験を軸とする双極性障害登録体制を立ち上げた。これは県内の国立療養所榊原病院、県立こころの医療センター、中核的民間病院 2 つ及び三重大学医学部附属病院の 5 施設である。気分障害への反応性の評価が加わった資料は、表現型定義上も重要であり、北欧や欧米の一部では気分障害サンプリングの有力な方法となっている。この気分障害薬の治験の IRB への申請、承認が 16 年度にずれこんだために、知見の開始は 16 年 8 月となった。現在、各病院 2-3 人の知見登録がなされており、20 人以上の登録がなされている。

3. うつ病について不一致な一卵性双生児不一致例のリンパ芽球における遺伝子発現をビーズマイクロアレイ法(TAKARA)で実施し、ペア内で比較した。現在解析を継続中である。罹患双生児において非罹患双生児間との比較で、発現が増加していた 205 クローン、発現低下の 200 クローンを認めた。多くはイムノグロブリン遺伝子とミトコンドリア遺伝子であったが、幾つかの遺伝子の違いがあり、先行研究との比較も含めて検討予定である。

E. 結論

現在、複雑疾患である主要な精神疾患の遺伝子探索研究は、1 施設で実施できる時代は終了し、多施設による共同研究の時代を迎えている。気分障害についてもそれに対応して形成された JGIMD があり、分担研究者は主任研究者とともにその運営に当たっていること、17 年度はその活性化の維持に腐心した。また、三重県における双極性障害からの末梢血サンプリングをはかるために、気分障害薬の臨床治験体制を確立した。気分調節薬への反応性の評価は、その表現型定義にも有用な情報であり、サンプルの質を高めることが期待される。また、一卵性双生児気分障害(うつ病)不一致例のマイクロアレイによるリンパ芽球における遺伝子発現の比較を実施した。うつ病関連の遺伝子情報が得られるか期待される。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

直接の結果はない。

H. 知的財産権の出願・登録状況：

なし。

I. 参考論文

Arinami T, Ohtsuki T, Ishiguro H, Ujike H, Tanaka Y, Morita Y, Mineta M, Takeichi M,

- Yamada S, Imamura A, Ohara K, Shibuya H, Ohara K, Suzuki Y, Muratake T, Kaneko N, Someya T, Inada T, Yoshikawa T, Toyota T, Yamada K, Kojima T, Takahashi S, Osamu O, Shinkai T, Nakamura M, Fukuzako H, Hashiguchi T, Niwa SI, Ueno T, Tachikawa H, Hori T, Asada T, Nanko S, Kunugi H, Hashimoto R, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Arai H, Ohnuma T, Kusumi I, Koyama T, Yoneda H, Fukumaki Y, Shibata H, Kaneko S, Higuchi H, Yasui-Furukori N, Numachi Y, Itokawa M, Okazaki Y; Japanese Schizophrenia Sib-Pair Linkage Group. Genomewide high-density SNP linkage analysis of 236 Japanese families supports the existence of schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 1p, 14q, and 20p. *Am J Hum Genet.* 2005 77: 937-44.
- Kato T, Iwamoto K, Kakiuchi C, Kuratomi G, Okazaki Y. Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Mol Psychiatry* 2005 10: 622-30.
- Kaiya H, Umekage T, Harada S, Okazaki Y, Sasaki T. Factors associated with the development of panic attack and panic disorder: survey in the Japanese population. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 59: 177-82.
- Tanii H, Fujita K, Okazaki Y. Neuroleptic malignant syndrome related to a switch to perospirone and anticholinergic withdrawal. *Am J Psychiatry* 2006 163: 547-548.
- 岡崎祐士, 峯田 聖, 谷井久志: 統合失調症の遺伝学. 脳神経疾患病態の分子生物学 (澤明編) 南山堂, 東京, 73-84, 2005
- 岡崎祐士, 伊藤 勉, 藤丸浩輔, 今村 明: FIGS (遺伝研究用間接家族診断). 分子精神医学, 5: 159-170, 2005

気分障害の高精度候補領域解析および精神疾患ゲノムバンクの構築

分担研究者 尾崎紀夫 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野

研究要旨：HPA axis の過剰反応がうつ病の病態と関連するとの考えが示されてきたが、近年、抗うつ薬の作用機序に係わることを示唆する報告もあり、改めて着目されている。中でも、glucocorticoid 受容体のコシャペロンの一つである FKBP5 遺伝子と CRH 受容体サブタイプ1 (CRHR1) 遺伝子はうつ病や抗うつ薬反応性との関連が報告されており、有力な候補遺伝子である。そこで、両遺伝子と大うつ病との関連解析を行った。結果、CRHR1 のハプロタイプとうつ病との関連が認められた。今後は、サンプルサイズを拡大し、構造化面接による診断の確認が、必要と考える。

研究協力者

池田匡志 1、高橋長秀 1、前野信久 1、斉藤真一 1、
季暁飛 1、青山渚 1、石原良子 1、吉田契造 1、
飯高哲也 1、威元麗 1、
岩田仲生 2、鈴木竜世 2、山之内芳雄 2、北島剛司
2、岸太郎 2、木下葉子 2
1 名古屋大学 大学院医学系研究科 精神医学・生
物学分野
2 藤田保健衛生大学医学部 精神医学教室

A. 研究目的

視床下部－脳下垂体－副腎系 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis: HPA axis) はストレス反応において中心的役割を果たし、この HPA axis 過剰反応とうつ病との関連については多くの先行研究がなされている。近年、抗うつ薬の作用点が視床下部での negative feedback における glucocorticoid 受容体への感受性を変化させることではないかという前臨床・臨床試験の証左が報告され、一層の注目を浴びている。

中でも、glucocorticoid 受容体のコシャペロンの一つである FKBP5 (glucocorticoid receptor-regulating cochaperone of hsp-90) 遺伝子は抗うつ薬治療反応性及びうつ病相経験回数との関連が報告された。また、下垂体における CRH 受容体サブタイプ1 (CRHR1) 遺伝子のハプロタイプが抗うつ薬反応性との関連が報告されている。これらの知見を踏まえ、FKBP5 および CRHR1 を候補遺伝子としてうつ病のゲノム解析を行った。

B. 研究方法

対象：大うつ病性障害患者 318 名：対照者 528 名から得た末梢血から DNA を抽出した。

遺伝子解析：各遺伝子座位に関して HapMap data 及び自験 data をもとに LD mapping を行い haplotype tagging SNPs を選定した。それぞれの SNPs を PCR-RFLP 法、dHPLC を用いた primer extension 法、あるいは TaqMan 法にてタイプを行った。

統計解析：各遺伝子のハプロタイプと疾患との case-control 解析には haplotype trend regression test を用いて解析を行った。

倫理的配慮

本研究は三省合同のゲノム研究に関する倫理指針に則った名古屋大学倫理審査委員会の承認を得ており、対象者には本研究に関して十分な説明を行い、文書にて同意を取得した。

C. 研究結果

1) 連鎖不平衡解析

FKBP5 は染色体 6p21.3-21.2 に存在し全長約 155 kb である。HapMap から LD を解析するとほぼ一つのブロックとなっており、4つの htSNPs が選択された。この4つの SNPs によるハプロタイプを用いて解析を行った。

CRHR1 は染色体 17q12-22 に存在し全長は約 20 kb である。比較的小さな遺伝子であり、ほぼ一つの LD ブロックになるが先行研究で関連が指摘された SNPs と htSNP として選択された一つの SNP でのハプロタイプを用いて解析を行った。

2) 関連解析