

図5 尾懸垂テストにおける無動時間のゲノムワイドな2遺伝子座間相互作用の解析

横軸（左→右）、縦軸（上→下）には第1染色体からX染色体のマーカーがプロットしてある。LODスコアに応じてマーカー・マーカー相互作用の強さを色分けしてある。図は、左上から右下に向かう対角線に関して対称であり、ゲノムワイドで $P < 0.05$ を満たすマーカー・マーカーペア周辺を丸で囲ってある。

(Yoshikawa T et al : *Genome Res* 12, 357-66, 2002⁹⁾ より)

ア2.8以上が両テストでゲノムワイド危険率 $P < 0.05$ のところであり、LODスコア3.60以上（尾懸垂テスト）あるいは3.65以上（強制水泳テスト）が $P < 0.01$ のところである。 $P < 0.05$ レベルを満たす主要なQTLは強制水泳テストで5か所、尾懸垂テストで4か所見出された。これらのうち、第8染色体と第11染色体は両方に共通していた。

3) 遺伝子間相互作用解析—相乗効果を示す遺伝子座の組合せを探索する

多遺伝子で決まる複雑形質は、各遺伝子の相加作

用ばかりでなく、複数の遺伝子の相互作用により相乗効果（エピスタシス）^{*3}を受ける可能性がある。筆者らは2遺伝子座間のエピスタシスをゲノムワイドに解析した。強制水泳テストの無動時間ではゲノムワイド危険率 $P < 0.05$ の遺伝子座の組合せはなかったが、尾懸垂テストでは図5に示すように第6と第11染色体、第11とX染色体上の遺伝子座の組合

*3 エピスタシス 広義にはある表現形質に及ぼす遺伝子間相互作用全般を指すが、厳密には各遺伝子の単純な相加作用からは予測できない効果を指す。

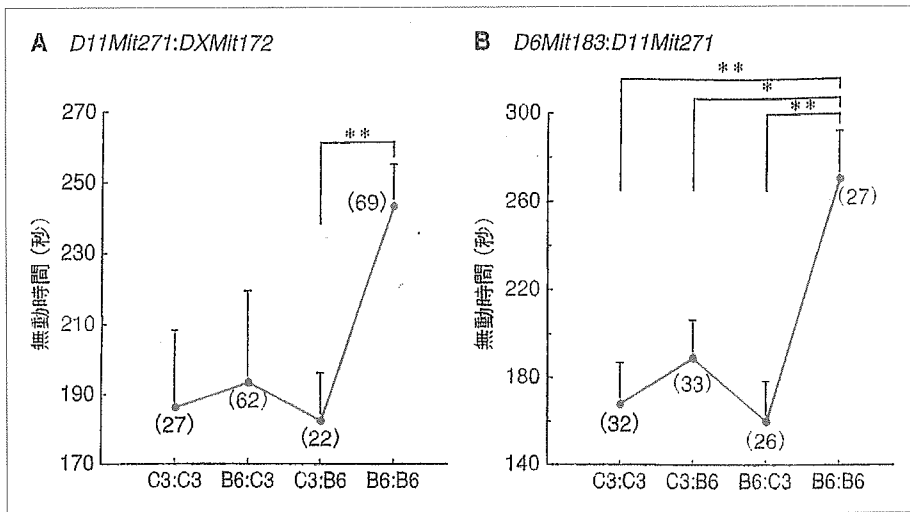


図6 尾懸垂テストの無動時間に及ぼすマーカー・マーカー相互作用
 図5で有意を示したマーカーのペアで、遺伝子型による無動時間の違いを調べた。カッコ内は計測に用いたそれぞれの遺伝子型をもつマウスの数である。
 A : D11Mit271:DXMit172の組合せ、
 B : D6Mit183:D11Mit271の組合せ、
 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
 (Yoshikawa T et al : *Genome Res* 12, 357-66, 2002⁹⁾ より)

せが有意なLODスコアを示した⁹⁾。行動に戻って調べると、図6のようにそれらの遺伝子座がB6マウス由来の場合、ほかの組合せの場合に比べて相乗効果的な無動時間の上昇が確認された。

4) マウス第11染色体のQTLには候補遺伝子としてGABA_Aレセプター遺伝子がコードされている強制水泳テストおよび尾懸垂テストで共通し、また尾懸垂テストのエピスタティック相互作用でも有意なQTLであったD11Mit271周辺は、ヒトの相同染色体では第5染色体長腕の5q32-q35に相当し、躁うつ病¹²⁾、不安障害¹³⁾で連鎖が報告されている部位でもある。その領域には、 γ -アミノ酪酸(GABA_A)レセプター群のファミリーである $\alpha 1$, $\alpha 6$, $\beta 2$, $\gamma 1$ サブユニット遺伝子がコードされている。これら遺伝子産物のアミノ酸配列をB6とC3のマウスで調べたところ、 $\alpha 6$ サブユニットの357番目のアミノ酸がB6系統ではグルタミン酸、C3ではグルタミンであった⁹⁾。ヒトでも、第5染色体長腕にコードされているGABA_Aレセプター遺伝子群には複数の多型が知られており、現在それらの多型と気分障害の関連を調査中である。

今後の方向

QTL解析の欠点は、形質を支配する遺伝子座は90%以上の確率で20~30cMの領域に存在することはいえるが、遺伝子そのものまで絞り込むにはあまりにも広いことである。もちろん本稿で示したように、候補遺伝子を選んで解析を続けることはできるが、次のステップで系統的にquantitative trait genesを同定していく手段が必要である。これにはリコンビナント近交系(異なった2種類の近交系の複数のF₂分離個体を始祖とし、それぞれを近交系として樹立したもの)の利用のほか、染色体を丸ごと供与系統のもので置き換えたコンソミックマウスの確立、利用が注目されている¹⁴⁾。筆者らも現在、B6とC3系統間でコンソミックマウスを作製しており、これが完成すれば無動時間に影響する遺伝子の同定が可能になるばかりでなく、他のいろいろな複雑形質の責任遺伝子の同定に役立つことが期待される。いずれにしても、最終的には動物で同定された遺伝子をヒトに戻って検討することが必要である。

文献

- 1) Wong ML & Licinio J. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* 2, 343-51 (2001)
- 2) Cryan JF, Markou A & Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: Recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 23, 238-45 (2002)
- 3) Cowan MW, Kopnisky KL & Hyman SE. The human genome project and its impact on psychia-

- try. *Annu Rev Neurosci* 25, 1-50 (2002)
- 4) Merikangas KR, Chakravarti A, Moldin SO et al. Future of genetics of mood disorders research. *Biol Psychiatry* 52, 457-77 (2002)
 - 5) Nestler EJ, Gould E, Manji H et al. Preclinical models : Status of basic research in depression. *Biol Psychiatry* 52, 503-28 (2002)
 - 6) Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 83, 1-16 (1984)
 - 7) 融 道男. 向精神薬マニュアル 第2版, p97 (医学書院, 東京, 2001)
 - 8) American Psychiatric Association 著/高橋三郎, 大野 裕, 染矢俊幸訳. DSM-IV-TR 精神疾患の分類と診断の手引, p136 (医学書院, 東京, 1995)
 - 9) Yoshikawa T, Watanabe A, Ishitsuka Y, Nakaya A & Nakatani N. Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for "behavioral despair" in mice. *Genome Res* 12, 357-66 (2002)
 - 10) 鶴飼保雄. ゲノムレベルの遺伝解析MAPとQTL, p247 (東京大学出版会, 東京, 2000)
 - 11) Sullivan PF, Neale MC & Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression : Review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 157, 1552-62 (2000)
 - 12) Edenberg HJ, Foroud T, Conneally PM et al. Initial genomic scan of the NIMH genetics initiative bipolar pedigrees : Chromosomes 3, 5, 15, 16, 17, and 22. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 74, 238-46 (1997)
 - 13) Crowe RR, Goedken R, Samuelson S et al. Genomewide survey of panic disorder. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 105, 105-9 (2001)
 - 14) 城石俊彦. マウス亜種間コンソミック系統の作製とその応用 : 森脇和郎, 樋野興夫編. 自然発症疾患モデル動物. *Mol Med* 36 (別冊), p166-70 (中山書店, 東京, 1999)

統合失調症の候補遺伝子および連鎖領域の多型解析

Polymorphism analysis of candidate genes and linkage regions for schizophrenia

シカゴ大学精神医学部門 客員研究員,
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 非常勤研究員

服部 栄治

Eiji Hattori

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

吉川 武男

Takeo Yoshikawa

要約

統合失調症(分裂病)の病因に関わる遺伝子もしくは変異として、コンセンサスが得られているものはまだない。しかしながら、多くの機能的候補遺伝子の多型と統合失調症の関連が報告されている。それら多型の中には、遺伝子機能に及ぼす影響が示されているものもある。またポジショナルアプローチ(連鎖解析研究)においても、統合失調症との連鎖が報告されている染色体領域から、最近次々と関連を示す遺伝子が同定されている。候補遺伝子研究では関連が報告者間で一貫せず、有意な結果に対しても偽陽性の可能性を完全に否定することはできないし、またp値が有意でなくとも偽陰性の可能性も残る。このような問題を解決するため、それぞれの遺伝子のもつ弱い効果までも検出するべく大規模サンプルを用いる、表現型を再定義しサンプルの均質性を高める、といった方策が考えられている。一方、連鎖解析より見出された遺伝子では、今後機能面から疾患における役割を明らかにしていくことが求められる。

Key words 連鎖(解析), 連鎖不平衡(解析), 伝達不平衡テスト, 関連(研究), NMDA

はじめに

疫学研究は、統合失調症(分裂病)の病因に遺伝因子が関与することを示唆している¹⁾。しかし、統合失調症は単一遺伝子疾患ではなく複雑な遺伝様式をとり、その発症には複数の効果の弱い遺伝子(感受性遺伝子)と環境要因が相互作用を及ぼし合っているとされる。さらに家系あるいは患者ごとに異なる遺伝子(群)が関与している状況も想定され(遺伝的異種性)、これらの要因が感受性遺伝子の同定を困難にしていると考えられる。疾患研究で

DNA多型を調べる目的の1つは、それが発症に寄与する真の変異(感受性変異)に場所的に近いか否かを知ることにある。これは「連鎖」あるいは「連鎖不平衡」を通じて推定できる。連鎖は数世代の、連鎖不平衡は数十から数百世代の間に起こった「染色体組み換え」の効果をそれぞれ反映している。ゲノム上のごく短い距離の中に数世代で組み換えが起こる確率はきわめて低いので、ある程度限定された染色体領域から感受性遺伝子(あるいは変異)を探索するには連鎖不平衡解析が適している(近年、ゲノムワイドに連鎖不平衡解析を行うことが検討され、特殊な集団についてはすでに報告もあるが本稿では触れない)。連鎖不平衡解析には多型間の物理的距離以

外に, population admixture, genetic driftといった集団の歴史が影響することがあるが²⁾, この方法は連鎖解析に比べ効果の弱い遺伝子を検出するのに有利であり, サンプル収集が容易であるというメリットをもつ。

連鎖不平衡解析の対象となる染色体領域としては, ①生物学的機能上の候補遺伝子とその周辺領域, ②ゲノムスキャンにおいて疾患との連鎖が認められた領域, が挙げられる。②で連鎖領域について等間隔の高密度マーカーを用い系統的に連鎖不平衡解析を行う手法では, 病因仮説, 遺伝子機能によらず比較的効果の大きい感受性遺伝子の同定に迫れる可能性がある。もっともこの方法には膨大な時間と費用を要するため, ゲノムスキャンの結果を基礎に特定の染色体領域の中から機能的候補遺伝子を選び出すことも多く, この①②を組み合わせた第3の戦略をpositional-candidate法と呼ぶ。連鎖不平衡解析には, 明らかな血縁関係にはない患者群と対照群を比較する「ケースコントロール解析」が実行のしやすさから多用されてきた。この方法では, 両群間で疾患に関係なく対立遺伝子頻度が異なっている状態(集団の階層化)が存在する場合に偽陽性を生じるため, 近年, 家系サンプルを用いた連鎖不平衡解析である伝達不平衡テスト(transmission disequilibrium test; TDT)³⁾が重用されている。前述のような純粋な集団遺伝学的手法による解析の後, 疾患との連鎖不平衡(関連)が示された多型がどのようなメカニズムで疾患発症のリスクになるのか, 遺伝子の機能や発現に及ぼす効果の解明が感受性遺伝子である証明に必要である。

これらの点を踏まえ, 以下日本人サンプルを用いた筆者らのグループによる研究の他, 最近注目される遺伝子研究について具体的に述べる。

GNAL, IMPA2, C18orf1 (染色体18p11の遺伝子群)

染色体18番動原体付近(18p11)には, 統合失調症, 躁うつ病双方の連鎖が指摘されている⁴⁾⁵⁾。筆者ら⁶⁾は, この染色体領域から新しいタイプのmyo-inositol monophosphatase遺伝子(IMPA2)をクローニングした。この遺伝子は8個のエクソンからなり, 全長は約27kbに及ぶ⁷⁾。IMPA2の遺伝子産物は, 躁うつ病の治療薬で

あるlithiumにより阻害されることが想定されることから, IMPA2は精神疾患の有力な候補遺伝子と考えられた。筆者ら⁸⁾は, 統合失調症患者302名, 気分障害患者205名, コントロール308名のサンプルを用い関連研究を行った。58G>A(エクソン1, 5'非翻訳領域), IVS1-15G>A(イントロン1), 800C>T(Phel178Phe, エクソン6)の3個の一塩基多型(SNP)について調べた。いずれも統合失調症においては遺伝子型関連を示した($p=0.031-0.0001$)が, 気分障害では有意な関連は認められなかった。

IMPA2遺伝子のテロメア側145kbにはguanine nucleotide binding protein(G protein), alpha activating activity polypeptide, olfactory type(GNAL)遺伝子, 動原体側1MbにはC18orf1遺伝子⁹⁾が存在し, GNAL遺伝子と統合失調症の関連は別のグループにより報告されている¹⁾。そこでKikuchiら¹⁰⁾は, さらにこれら3つの遺伝子を含む14Mbにわたる領域について, ほぼ等間隔の15個のマーカー(7個のマイクロサテライトと8個のSNP)をタイピングした。この研究には発端者とその両親からなる家系単位(トリオ)を80組用い, 伝達不平衡テストを行った。その結果, C18orf1遺伝子の3'非翻訳領域の2マーカーおよび同遺伝子の約20kb下流の1マーカーに有意な連鎖不平衡を認めた($p=0.046-0.010$)。さらにC18orf1近傍の3マーカーについて, 統合失調症214名, コントロール313名を用いてケースコントロール解析を行ったところ, C18orf1遺伝子3'非翻訳領域の2マーカーからなるハプロタイプが強い関連を示した($p=0.00001$)。IMPA2遺伝子のIVS1-15G>A, 800C>Tは伝達不平衡テストにおいては有意ではなかった。

IMPAがlithiumにより阻害されることから, IMPA2との関連が気分障害でなく統合失調症にのみ認められたことは意外であった。またIMPA2の同一のマーカーについて, 統合失調症のケースコントロール解析と伝達不平衡テストが異なった結果を出している。ケースコントロール解析では集団の階層化による偽陽性をみている可能性は否定できないが, これらの食い違いの理由としてサンプルサイズ, 解析法による検出力の違いが考慮されるべきであろう。今後, 家系サンプル数やマーカー密度を増して解析することが必要であるが, 現在のところ日

本人の統合失調症の感受性部位の1つとして、*IMPA2* 遺伝子および*C18orf1*遺伝子の近傍が有力と考えている。



NMDA受容体2Aサブユニット (*GRIN2A*)遺伝子(染色体16p13)

Phencyclidineは、グルタミン酸受容体の1つであるN-methyl-D-aspartate (NMDA)受容体の非競合拮抗薬であるが、ヒトに投与すると統合失調症様症状を惹起する。これには陽性症状のみならず陰性症状に似た状態も含まれることから、統合失調症の病因としてNMDA受容体の機能低下仮説が提唱されている¹¹⁾。この受容体のサブユニットとしてNR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D, NR3A, NR3Bが知られているが、このうちNR2A (*GRIN2A*)に相当するサブユニット遺伝子を破壊したマウスは、統合失調症に似た行動を呈する¹²⁾。また、*GRIN2A*の発現は思春期に始まり成人期にかけて一定量に達し、統合失調症の発病年齢、経過と一致する¹³⁾ことから、本遺伝子は統合失調症の候補遺伝子と考えられる。Itokawaらは、この遺伝子の構造解析によりプロモータ領域に繰り返し配列(GT)_nを見出した(投稿中)。統合失調症375名、コントロール378名を用いケースコントロール解析を行ったところ、繰り返し数nの分布は患者群とコントロール間で異なる傾向にあり(p=0.05)、患者群では長いアレルが多く認められた。長いアレルは転写活性を低下させること、繰り返し配列のサイズとPositive and Negative Symptom Scale (PANSS)で評価した臨床症状の重症度が有意に相関することも同時に示された。これらの結果から、*GRIN2A*の繰り返し配列は統合失調症の発症、転帰に影響を与えていることが示唆された。ちなみにこの遺伝子の存在する染色体16番短腕は、躁うつ病との連鎖が指摘されている領域でもある。



Nuclear receptor subfamily 4, group A, member 2 (*NR4A2*)遺伝子(染色体2q22)

統合失調症の病因として、特に妊娠中期の神経発達障害が示唆されている¹⁴⁾。レチノイド(ビタミンA)はその受容体と結合して種々の遺伝子の発現調節に関与し、こ

の時期の神経発達に重要な役割を果たすと考えられている。レチノイドの中毒や欠乏は統合失調症に似た症状を引き起こす。またレチノイドは、グルタミン酸受容体遺伝子、チロシン水酸化酵素遺伝子、ドパミンD₂受容体遺伝子など、統合失調症の候補遺伝子群の発現調節に関与し、レチノイド受容体遺伝子ファミリーのいくつかは統合失調症の連鎖領域に存在する¹⁵⁾。Iwayama-Shigenoら¹⁶⁾は、レチノイド受容体遺伝子ファミリーのうち染色体2q22に存在する*NR4A2* (*Nurr1*とも呼ばれている)を候補遺伝子として調べた。-2922C>T, IVS+6~+18insG, Ex8+657(CA)₉₋₁₀の3つのコモンな多型について、統合失調症180名、コントロール180名のサンプルを用いて解析したが、有意な関連は見出せなかった。



Cholecystokinin (*CCK*)遺伝子(染色体3p21)

Cholecystokinin (*CCK*)は、脳内に最も豊富に存在する神経ペプチドであり、特に不安や摂食との関係が注目されている¹⁷⁾。筆者らは、*CCK*遺伝子5'上流のマイクロサテライトがパニック障害と関連し¹⁸⁾、このマイクロサテライトが*CCK*遺伝子の転写活性に影響を与えている¹⁹⁾ことを示した。このペプチドはラットの側坐核でドパミンと共存し、ドパミン放出やドパミンに関連した行動を調節している²⁰⁾ことから、統合失調症との関わりも示唆されている。そこで*CCK*のマイクロサテライトについてさらに統合失調症でケースコントロール解析(患者305名、コントロール252名)を行ったが、有意な関連は見出されなかった¹⁹⁾。



Dysbindin (*DTNBP1*)遺伝子(染色体6p22)

Straubらは、アイルランド家系を用い染色体6番短腕と統合失調症との有意な連鎖を認めた²¹⁾²²⁾。彼らは6番短腕の中に複数の連鎖シグナルのピークを見出したが、その中で特に有望と思われる6p22.3の約1 Mbの領域について41個のSNPマーカーをタイピングし、ケースコントロール解析および伝達不平衡テストを行った²³⁾。その結果、*DTNBP1*遺伝子座の複数のマーカーとハプロタ

タイプに有意な関連を認めた。隣接する遺伝子近傍のマーカー群はどれも有意でなかったことから、彼らは *DTNBP1* の中に感受性部位が存在する可能性が高いと結論付けた。

Neuregulin 1 (*NRG1*) 遺伝子 (染色体 8p12)

同一の染色体部位について複数のゲノムスキャンが矛盾する結果を出しているが、この問題に対する試みとして Badner と Gershon²⁹ は、現在までに出版されたすべての連鎖解析によるゲノムスキャンについてのメタ解析を行った。その結果、統合失調症では染色体 8p, 13q および 22q が有意であった。

それらの領域の中で、Stefansson ら²⁵ は染色体 8p について高密度マッピングやハプロタイプ解析を行い、*NRG1* と統合失調症の有意な関連を見出した。*NRG1* やその受容体遺伝子を改変したマウスは、統合失調症に関連する行動異常を示した。さらに彼らは、遺伝子改変マウス脳では、機能している NMDA 受容体が減少していることを示し、本遺伝子がグルタミン酸神経伝達を介して統合失調症の病因となりうることを示唆した²⁵。

G72/G30 遺伝子 (染色体 13q33) および D-amino acid oxidase (*DAAO*) 遺伝子 (染色体 12q24)

Chumakov ら²⁶ は、染色体 13q の一部の領域について、多数のマーカーを用いた系統的な連鎖不平衡解析 (ケースコントロール解析) を行い、統合失調症との関連を示す領域から新規遺伝子 *G72/G30* を同定した (2 つの遺伝子は別々の strand に重なり合って存在し、*G72/G30* の周囲に既知の遺伝子は存在しない)。これら遺伝子のごく近傍の 3 個の SNP が、フランス系カナダ人の集団で統合失調症と有意に関連し、うち 2 個についてはロシア人サンプルでも関連が再現された。*G72* については、*in vitro* での機能、発現研究により、遺伝子産物が D-amino acid oxidase (*DAAO*) と相互作用することが示唆された。さらに統合失調症との関連において、*G72* と *DAAO* の遺伝子型間に統計学的な相互作用も認められた。*DAAO* は、NMDA 受容体のアゴニストである D-serine の活性に

影響を与える。以上の結果から、彼らは、*G72* 活性の上昇が D-serine を介した NMDA 受容体機能の低下をもたらし、統合失調症の病因となるという仮説を提唱した²⁶。

Catechol-O-methyltransferase (*COMT*), proline dehydrogenase (oxidase) 2 (*PRODH2*) 遺伝子 (染色体 22q11)

染色体 22q11 は統合失調症との連鎖が繰り返し報告されており、さらにこの部位に微小欠失 (microdeletion) を有する者は、高率に統合失調症様症状を呈することが報告されている^{27/28}。この微小欠失の範囲に存在する遺伝子群のうち、*COMT* はドパミンの代謝酵素でもあり、以前から有力候補遺伝子として注目されてきた。*COMT* 遺伝子には Val^{108/158}Met という多型が知られており、これは酵素活性に 4 倍以上の違いをもたらす²⁹が、従来の研究からはこの多型と統合失調症の関連について明確な結論を出せなかった。そこで Egan ら³⁰ は、Wisconsin Card Sorting Test (WCST) や functional MRI を用いて、この多型が認知機能に関連していること示し、統合失調症への関与を示唆した。一方 Shifman ら³¹ は、大規模なケースコントロール解析 (患者約 700 名、コントロール約 2,800 名) を行い、この遺伝子の SNP とハプロタイプが統合失調症と関連することを報告したが、彼らは Val^{108/158}Met でない別の変異が統合失調症の病因に関与していることを示唆した。

また Liu ら³² は、微小欠失が認められる 1.5 Mb の領域について系統的な連鎖不平衡解析を行い、*PRODH2* 遺伝子座が統合失調症に関連していることを示した。

おわりに

これまでの多くの候補遺伝子研究は、ドパミンおよびセロトニン神経伝達に関わる遺伝子に注目してきたが、それらの遺伝子多型の関連について複数の報告で一致した結果は出されていない。ここで取り上げた *COMT* 遺伝子の研究は、このような状況に対処する 2 つの方向を示しているといえる。統合失調症では個々の遺伝子は決定的な効果を及ぼさず、多くの研究は検出力不足の問題

を抱えていると思われる。このため、1つの方策は大規模サンプル数を用いることである。大規模サンプルで関連を証明した研究としては、前述のCOMTの他、ヨーロッパの多施設共同研究で患者571名とコントロール639名のサンプルを用い、セロトニン5-HT_{2A}受容体遺伝子のT102C多型と統合失調症の関連を示した例がある³³⁾。もう1つの方向は、endophenotype(疾患と重なりをもちながら遺伝する生物学的形質)を用いることである。Straubらは認知機能に注目したが、眼球運動や事象関連電位といった生理学的指標または解剖学的指標を用いることもできる(本特集、小島らの稿参照)。

一方、ポジショナルアプローチにより見出されたDTNBP1, NRG1, G72/G30, PRODH2では、遺伝子機能についての知見がある程度蓄積していても、それらがどのように疾患に関与するかは必ずしも明らかではない。さらに感受性変異の同定という課題も残されている。

歴史的に機能的な精神病は統合失調症と躁うつ病に二分されてきたが、これまでのゲノムスキャンは同一の染色体領域(特に18p, 13q, 22q)に双方の疾患への連鎖を認めている。このため、これらの染色体領域には両疾患に共通の感受性遺伝子が存在する可能性が指摘されている³⁴⁾³⁵⁾。今後こうした遺伝子が実際に同定されれば、「統合失調症」と「躁うつ病」という表現型分類自体に再検討が促される可能性がある。

●文 献●

- 1) Gottesman II: Schizophrenia genesis. New York, W. H. Freeman and Company, 1991
- 2) Jorde LB: Linkage disequilibrium and the search for complex disease genes. *Genome Res* 10: 1435-1444, 2000
- 3) Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ: Transmission test for linkage disequilibrium; The insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 52: 506-516, 1993
- 4) Schwab SG, Hallmayer J, Lerer B, et al: Support for a chromosome 18p locus conferring susceptibility to functional psychoses in families with schizophrenia, by association and linkage analysis. *Am J Hum Genet* 63: 1139-1152, 1998
- 5) Detera-Wadleigh SD, Badner JA, Berrettini WH, et al: A high-density genome scan detects evidence for a bipolar-disorder susceptibility locus on 13q32 and other potential loci on 1q32 and 18p11.2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 5604-5609, 1999
- 6) 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
- 7) 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
- 8) Yoshikawa T, Kikuchi M, Saito K, et al: Evidence for association of the myo-inositol monophosphatase 2 (IMPA2) gene with schizophrenia in Japanese samples. *Mol Psychiatry* 6: 202-210, 2001
- 9) Yoshikawa T, Sanders AR, Esterling LE, et al: Multiple transcriptional variants and RNA editing in C18orf1, a novel gene with LDLRA and transmembrane domains on 18p11.2. *Genomics* 47: 246-257, 1998
- 10) Kikuchi M, Yamada K, Toyota T, et al: Two-step association analyses of the chromosome 18p11.2 region in schizophrenia detect a locus encompassing C18orf1. *Mol Psychiatry* (in press)
- 11) Javitt DC, Zukin SR: Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148: 1301-1308, 1991
- 12) Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, et al: Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor epsilon1 subunit. *J Neurosci* 21: 750-757, 2001
- 13) Watanabe M, Inoue Y, Sakimura K, et al: Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport* 3: 1138-1140, 1992
- 14) Bullmore ET, Frangou S, Murray RM: The dysplastic net hypothesis; An integration of developmental and dysconnectivity theories of schizophrenia. *Schizophr Res* 28: 143-156, 1997
- 15) Goodman AB: Three independent lines of evidence suggest retinoids as causal to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 7240-7244, 1998
- 16) Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Toyota T, et al: Distribution of haplotypes-derived from three common variants of the NR4A2 gene in Japanese schizophrenic patients. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* (in press)
- 17) Crawley JN, Corwin RL: Biological actions of cholecystokinin. *Peptides* 15: 731-755, 1994
- 18) Hattori E, Ebihara M, Yamada K, et al: Identification of a compound short tandem repeat stretch in the 5'-upstream region of the cholecystokinin gene, and its association with panic disorder but not with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6: 465-470, 2001
- 19) Ebihara M, Ohba H, Ohno S, et al: Transcriptional activities of cholecystokinin promoter haplotypes and their relevance to panic disorder susceptibility. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* (in press)

- 20) Marshall FH, Barnes S, Hughes J, et al : Cholecystokinin modulates the release of dopamine from the anterior and posterior nucleus accumbens by two different mechanisms. *J Neurochem* 56 : 917-922, 1991
- 21) Straub RE, MacLean CJ, O'Neill FA, et al : A potential vulnerability locus for schizophrenia on chromosome 6p24-22 ; Evidence for genetic heterogeneity. *Nat Genet* 11 : 287-293, 1995
- 22) Straub RE, MacLean CJ, Ma Y, et al : Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes. *Mol Psychiatry* 7 : 542-559, 2002
- 23) Straub RE, Jiang Y, MacLean CJ, et al : Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71 : 337-348, 2002
- 24) Badner JA, Gershon ES : Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7 : 405-411, 2002
- 25) Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, et al : Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* 71 : 877-892, 2002
- 26) 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 U S A* 99 : 13675-13680, 2002
- 27) Murphy KC, Jones LA, Owen MJ : High rates of schizophrenia in adults with velo-cardio-facial syndrome. *Arch Gen Psychiatry* 56 : 940-945, 1999
- 28) Pulver AE, Nestadt G, Goldberg R, et al : Psychotic illness in patients diagnosed with velo-cardio-facial syndrome and their relatives. *J Nerv Ment Dis* 182 : 476-478, 1994
- 29) Lotta T, Vidgren J, Tilgmann C, et al : Kinetics of human soluble and membrane-bound catechol O-methyltransferase ; A revised mechanism and description of the thermolabile variant of the enzyme. *Biochemistry* 34 : 4202-4210, 1995
- 30) Egan MF, Goldberg TE, Kolachana BS, et al : Effect of COMT Val¹⁰⁸/Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98 : 6917-6922, 2001
- 31) 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
- 32) Liu H, Heath SC, Sobin C, et al : Genetic variation at the 22q11 PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 : 3717-3722, 2002
- 33) Williams J, Spurlock G, McGuffin P, et al : Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet* 347 : 1294-1296, 1996
- 34) Berrettini WH : Are schizophrenic and bipolar disorders related ? A review of family and molecular studies. *Biol Psychiatry* 48 : 531-538, 2000
- 35) Gershon ES : Bipolar illness and schizophrenia as oligogenic diseases ; Implications for the future. *Biol Psychiatry* 47 : 240-244, 2000

[特集: 抗うつ薬—2]

動物モデルを用いたうつ病感受性遺伝子群同定のアプローチ

中谷紀章* 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

(2003年4月9日受理)

要約: うつ病を含む精神疾患の研究において, 良い動物モデルの開発・存在は非常に重要である。これまで用いられてきた動物モデルは意外に歴史が古く, これから新しい手法をもって精神疾患を研究するものにとっても, これまでの動物モデルに関する研究知見は有用である。現在用いられているモデルには数十種類が存在し, その多くが病態の解明という目的とともに新規抗うつ薬の候補となりうる薬物のスクリーニングに使用されている。今後は, 現存する動物モデルに対してマイクロアレイなどの新技術を適用することにより, 病態に関して新たな知見を得られる可能性がある。また, 既存の動物モデルの新しいアプローチによる解析は, 抗うつ薬の作用機序の解明や標的遺伝子の同定にもつながる。本稿では, うつ病感受性遺伝子同定を目指したアプローチについて, 我々の研究室で行われている QTL (quantitative trait loci) 解析およびマイクロアレイ解析を含めて概説した。

キーワード: 動物モデル, うつ病, ドラッグスクリーニング, ゲノムワイド解析

気分障害は統合失調症と並んで精神疾患の中核であり, うつ状態と躁状態とを繰り返す「躁うつ病」と, うつ状態のみ繰り返す「うつ病」, 躁状態のみの「躁病」に分けられる。わが国のうつ病生涯発病率は6%程度とされるが, 欧米諸国では20%と高い発病率を示すことが知られており, 男性より女性の方が2倍も罹患率が多い。これに対し, 躁うつ病では1%前後と比較的低く, 男女の差はないといわれている。うつ病患者の高い自殺率や病態が社会に与える影響を鑑みると, 一刻も早い病態の解明が望まれる。これまでの研究から, うつ病の発症には一部遺伝的な要因が関与し, かつ単一の遺伝子による疾病ではなく, 複数の遺伝子が相互に影響し合う複雑性遺伝子疾患であると考えられている。近年の研究手法として, 連鎖解析や相関解析, 単一遺伝子をターゲットとした薬理実験に加え, 後述するマイクロアレイなどの実験技術の進歩により, ミクロかつマクロ的に病態をとらえようとする動きもある。しかし, 現存する三環系抗うつ薬は抗ヒスタミン薬の開発過程からセレンディピタスに発見されたものがベースになっており, 今のところ, 新しい治療薬のターゲットとなりそうな分子は報告されていない。ヒトを対象とした研究には薬の作用の個人差やコントロールの取り方等考慮しなければならない問題が多く, それが研究を困難にしている原因でもある。そこで新規治療薬の開発に有用となってくるのが動物モデルであり, 本稿では最近の知見に言及しつつ, 我々が行っているアプローチについても概説する。

動物モデル

現在知られている齧歯類を用いた動物モデルを Table 1 に示す。これらに見られるように, いずれも物理的ストレスにより「うつ状態」を作り出すもので, 遺伝子改変を施した適当なモデル動物は今のところ存在しない。よく用いられるうつ病モデル動物の基準は McKinney と Bunney によって提唱されたもので, (i) 表現型がヒトでの表現型に類似している, (ii) 客観的に観察できる行動変化が存在する, (iii) 観察される行動変化がヒトにおいて効果的な治療と同等の様相をもって回復する, (iv) 異なる研究者により再現可能である, というものである (McKinney and Bunney, 1969)。Table 1 にあるモデルはいずれの基準も満たすが, (iv) においては細かいノウハウが必要になり, 実際には実験者や場所により作製効率等が異なるのが現状である。以下に代表的な個々のモデルについて個別具体的に述べていく。

1. 強制水泳テスト (FST)

強制水泳テストはモデルというより評価系であり, Porsolt らにより提唱された (Porsolt et al, 1977)。このテストは水を張った円筒容器に動物を入れ, 強制的に泳がせ, 一定時間内の無動時間を積算する。強制水泳テストによって出現する無動時間を「絶望状態」と考える。動物にとって絶望という状態があるがどうかは議論の分かれるところであるが, 心理学的には絶望感是对処不可能なコントロールできない状態に直面したときに, 結果として生じる心理状態であるとされる。装置や測定の簡便さから, 現在では

* 〒351-0198 和光市広沢 2-1

(別刷請求先: 吉川武男)

略語 FST: forced swim test, GABA: γ -aminobutylic acid, LH: learned helplessness, QTL: quantitative trait loci, SSRI: selective serotonin reuptake inhibitor, TST: tail suspension test

Table 1 Examples of animal models used in depression research

Model	Main features
Forced swim test	Antidepressants acutely increase the time an animal struggles in a chamber of water; lack of struggling thought to represent a state of despair
Tail suspension test	Antidepressants acutely increase the time an animal struggles when suspended by its tail; lack of struggling thought to represent a state of despair
Learned helplessness	Animals exposed to inescapable footshock take a longer time to escape, or fail to escape entirely, when subsequently exposed to escapable footshock; antidepressants acutely decrease escape latency and failures.
Chronic mild stress	Animals exposed repeatedly to several unpredictable stresses (cold, disruption of light-dark cycle, footshock, restraint, etc.) show reduced sucrose preference and sexual behavior; however, these endpoints have been difficult to replicate, particularly in mice.
Social stress	Animals exposed to various types of social stress (proximity to dominant males, odors of natural predators) show behavioral abnormalities; however, such abnormalities have been difficult to replicate, particularly in mice.
Early life stress	Animals separated from their mothers at a young age show some persisting behavior and HPA axis abnormalities as adults, some of which can be reversed by antidepressant treatments.
Olfactory bulbectomy	Chemical or surgical lesions of the olfactory bulb cause behavioral abnormalities, some of which can be reversed by antidepressant treatments.
Fear conditioning	Animals show fear-like responses when exposed to previously neutral cues (e.g., tone) or context (cage) that has been associated with an aversive stimulus (e.g., shock).
Anxiety-based tests ^a	The degree to which animals explore a particular environment (open space, brightly lit area, elevated area) is increased by anxiolytic drugs (e.g., benzodiazepines).
Reward-based tests ^b	Animals show highly reproducible responses to drugs of abuse (or to natural rewards such as food or sex) in classical conditioning and operant conditioning assays.
Cognition-based tests ^c	The ability of animals to attend, learn, and recall is measured in a variety of circumstances.

Most of these tests are available in rats and mice; the tail suspension test is used in mice only (from Nestler et al, 2002).

a: Examples include open field, dark-light, and elevated plus maze test.

b: Examples include conditioned place preference, drug self-administration, conditioned reinforcement, and intra-cranial self-stimulation assays.

c: Examples include test of spatial memory (Morris water maze, radial arm maze), working memory (T-maze), and attention (5 choices serial test).

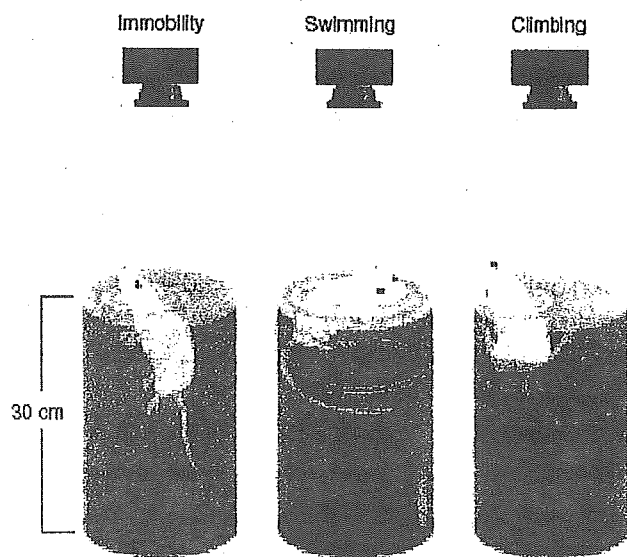


Fig. 1 Rats undergoing forced swim test (FST) behaviors. The modified FST to assess the role of monoamines in antidepressant action. Rats can engage in at least three different forms of behavior: immobility, swimming or climbing (from Cryan et al, 2002).

トはマウスを用いた場合、選択的セロトニン再取り込み阻害剤である selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) では効果が見られないことに注意すべきである。Lucki (1997) は、ラット用に通常用いられるシリンダーの深さ 15~18 cm を 30 cm にまでのばし、さらに 5 秒以上の間隔で現れる行動を評価する方法を開発した (Fig. 1)。これにより行動を climbing behavior, swimming behavior, immobility の 3 つに分けることができる。SSRI は swimming behavior (水泳時間) を増加させ、また immobility (無動時間) を減少させることが判明し、これまで見られなかった薬剤の効果を確認することが可能となった (Cryan and Lucki, 2000; Cryan et al, 2002)。

2. 尾懸垂テスト (TST)

このテストも FST 同様、動物の尾を固定して一定時間つり下げたときの無動時間を測定するものである。無動時間は抗うつ薬の投与により減少する。FST と異なるのは SSRI の効果が見られることである (Porsolt and Lenegre, 1992)。さらに、セロトニン受容体 1B (5-HT_{1B}) のアゴニストは TST では無動時間を増加させる一方、FST では減少させる。これらの結果は TST と FST はうつ状態の異なる側面を表現していると思われる。また、これらのテストにおける無動時間や抗うつ薬投与による影響がマウスの系統により異なることが報告されている (Van der Heyden et

ラットおよびマウスを用いて抗うつ薬のスクリーニング等広く行われている。無動時間は抗うつ薬や電気痙攣では短縮するが、抗不安薬では短縮されない。しかし、このテス

al, 1987; Vaugeois et al, 1996).

3. 学習性無力ラット (LH ラット)

もともとイヌをモデルとして用いられ (Overmier and Seligman, 1967), のちに齧歯類にも適用されるようになったが, ラットでの研究が多く, 我々もラットを用いている。マウスでは作製が困難とされていたが, 最近マウスでの報告も出された (Ukai et al, 2002; Naudon et al, 2002)。方法としてはレバー押しやシャトルボックスを用いたものがあるが, 我々は後者の方法を用いている。具体的にはラットを仕切り板のあるシャトルボックスに入れ (Fig. 2), 床グリッドから電流を与える。通常ラットはこのフットショックから回避しようと隣の部屋に逃げ込むが, 電流は切れないようになっていたので隣の部屋でもフットショックを受け, 連続的なストレスを受けることになる。この試行を繰り返すと回避が「無力」であることを学習し, いずれ回避することを諦めるようになる。この状態は反応性うつ病のモデルとして考えられており, またその表現型が数週間持続すること (Musty et al, 1990), かつ抗うつ薬投与により回復する (Geoffroy et al, 1990; Nankai et al, 1995) ことから, FST および TST 同様, 抗うつ薬の試験に用いられている。我々の研究室で行った結果を Fig. 3 に示す。LH ラットを生理食塩水投与群 (LH-S), fluoxetine 投与群 (LH-F), imipramine 投与群 (LH-I) の3つのグループに分け, 電気刺激回避実験を行った。LH-S ではコントロール群に比べ有意に回避失敗数が増加しており, imipramine および fluoxetine 投与により回避失敗数は有意に減少した。fluoxetine 投与群では回避失敗数の減少率が imipramine 投与群に比べ小さかったが, これは臨床において imipramine が fluoxetine より重度のうつ病患者に有効であることに対応しているものと思われる。最近, 40 世代

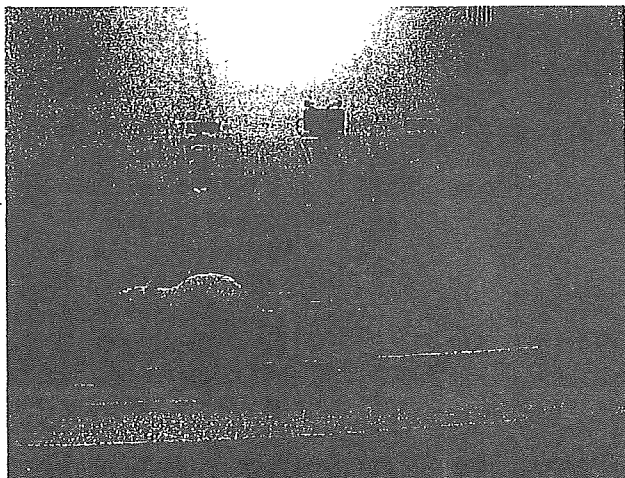


Fig. 2 The shuttle box used. Rats were subjected to inescapable shock (IS) pretreatment (0.5 mA, 10 sec duration, shock interval 1-5 sec, 160 trials) in a Plexiglas chamber (460W×200D×180H mm, Myromachi, Tokyo, Japan).

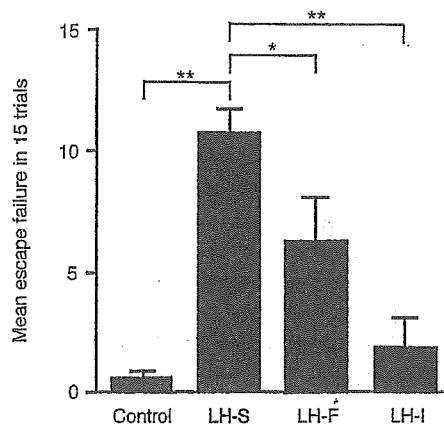


Fig. 3 Mean number of escape failures (± SE) during the 15 avoidance trials. Controls ($n=15$) were not given inescapable shocks. The rats exposed to prior inescapable shocks were treated with saline (LH-S) ($n=10$), fluoxetine (LH-F) ($n=7$) and imipramine (LH-I) ($n=9$) once a day for consecutive days (days 2 to 5). Escape failure refers to the failure of animals to move into the safe compartment during an electric footshock (0.5 mA, 3 sec duration). *: $P<0.01$ and **: $P<0.001$ by Tukey-Kramer test.

にわたって掛け合わせて作った congenital LH ラットではストレスにより引き起こされる BDNF (brain-derived neurotrophic factor) の減少が見られないことが報告された (Vollmayr et al, 2001)。しかし, ストレスによる血中コルチコステロン濃度はこの動物でも上昇しており, congenital LH ラットではコルチコステロン-BDNF のカップリングが起こっていないことが確認された。

4. 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を含む新しい環境下での hyperactivity や食事パターンの乱れ, passive avoidance learning の欠損等の持続した行動の変化が見られるようになり, ヒトうつ病に類似した表現型を示す。具体的なメカニズムは定かではないが, 抗うつ薬の単回投与では表現型の回復は見られないものの, 反復投与により表現型の改善が見られるようになることから, 臨床での抗うつ薬の反応性と類似しており, モデルとして適すと考えられている (Kelly et al, 1997)。これまでに, 前頭葉でのセロトニン神経系の亢進 (Zhou et al, 1998), ストレスによるセロトニン代謝の減少 (Connor, 1999), オープンフィールド等の新しい環境下における活動性の向上と線条体でのグルタミン酸放出の亢進 (Ho et al, 2000), コルチコトロピン放出因子, ソマトスタチン (Bissette, 2001), ニューロペプチド Y の減少 (Holmes, 1998) などが報告されている。

動物モデルを用いた

うつ病感受性遺伝子群同定のアプローチ

上記のような動物モデルは, これまで薬物の評価系とし

て、あるいは特定の分子のあるモデルでの働きを検討する目的で用いられてきたものがほとんどで、こうしたストラテジーに則った場合、既知の仮説の範囲の知見に限られ、どうしても予想外の分子の発見までは困難という限界があったが、近年のゲノム研究の進歩により以下のような新しい手法がとられるようになった。

1. 評価系を利用した量的形質遺伝子座解析 (quantitative trait loci (QTL) analysis)

前述したように FST や TST などのいくつかの評価系ではマウスに系統差が存在することが明らかとなり (Vaugeois et al, 1997; Lucki et al, 2001; David et al, 2003), また系統によっては適しない評価系があることも報告されるようになった (Mayorga and Lucki, 2001). ヒトにおけるうつ脆弱性やうつ重症度は、身長や体重などと同じく連続分布を示す「量的形質 (quantitative trait)」といえる。マウスにおける FST, TST の無動時間も量的形質

であり、量的形質を支配する遺伝子座は、表現型の異なる系統種を用いた遺伝解析で求めることができる (量的形質遺伝子座の解析 (QTL analysis)). 我々は, BALB, c57BL/6, C3H/He および DBA の 4 系統のマウスを用い FST と TST を検討したところ, 両テストにおいて c57BL/6 では無動時間が一番長く, C3H/He は最も短いことがわかった (Fig. 4). そこで無動時間を支配している遺伝子座を QTL 解析により求めるため, c57BL/6 と C3H/He より F2 世代 560 匹を作製し, 全ての個体より DNA を抽出後, 全ゲノムにわたる 120 個のマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝子型をタイピングした. そして, 個体ごとの無動時間と遺伝子型を対応させ連鎖解析をして Fig. 5 に示す結果を得た. QTL 解析の具体的な理論に関しては成書を参照されたい (鵜飼, 2000). ゲノムワイドで $P < 0.05$ を満たす QTL は FST で 5 カ所, TST で 4 カ所見いだされ, 第 8 番染色体と第 11 番染色体においては両方のテストに共通して見

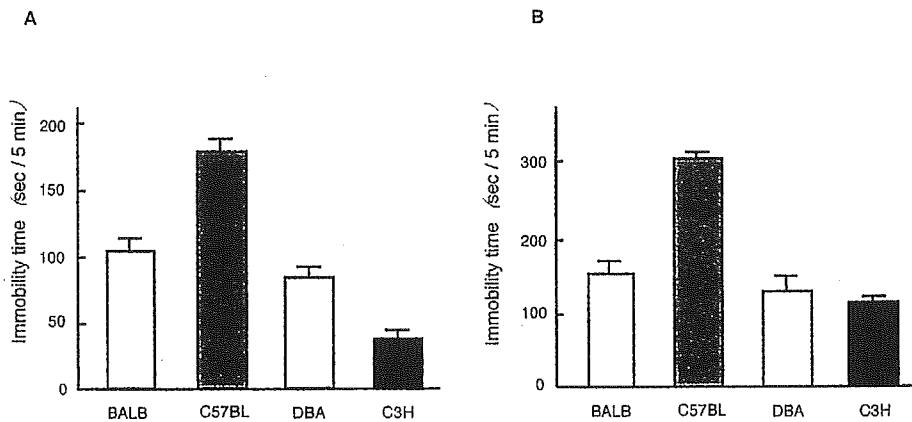


Fig. 4 Four mouse strains were compared in the forced swim test (A) and tail suspension test (B) (from Yoshikawa et al, 2002).

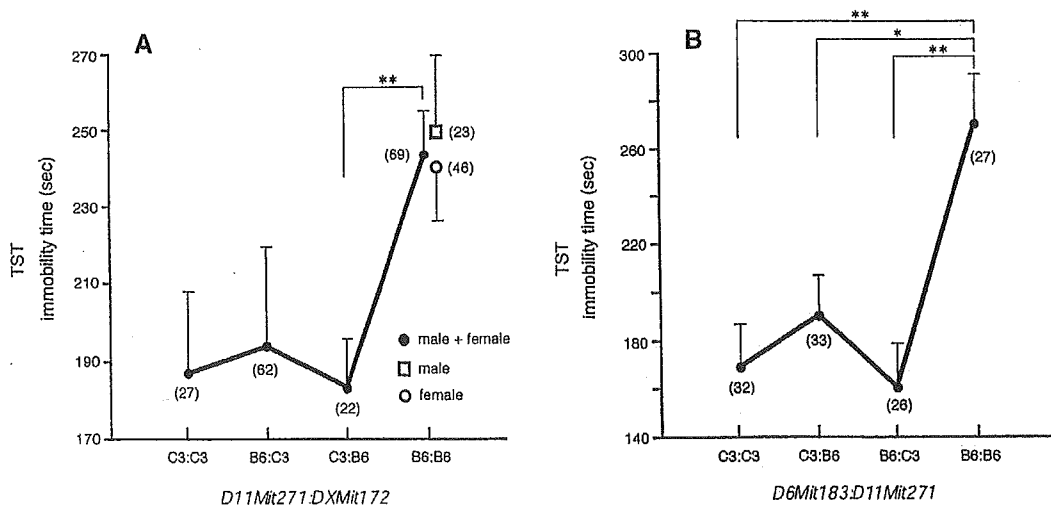


Fig. 6 Genome-wide scan for tail suspension immobility. (A) Graph showing the genotype vs. the mean immobility times in the tail suspension test (TST) at significant locus pairs are indicated. The double B6 homozygote at the locus combination of *D11Mit271:DXMit172* showed a lod score of 5.6 (significant at $\alpha = 0.01$). Parentheses show the number of animals with indicated genotypes. **: $P < 0.01$ by Bonferroni/Dunn test. (B) The double B6 homozygotes at the locus pair of *D6Mit183:D11Mit271* showed a lod score of 5.0 (significant $\alpha = 0.05$). *: $P < 0.05$ (from Yoshikawa et al, 2002).

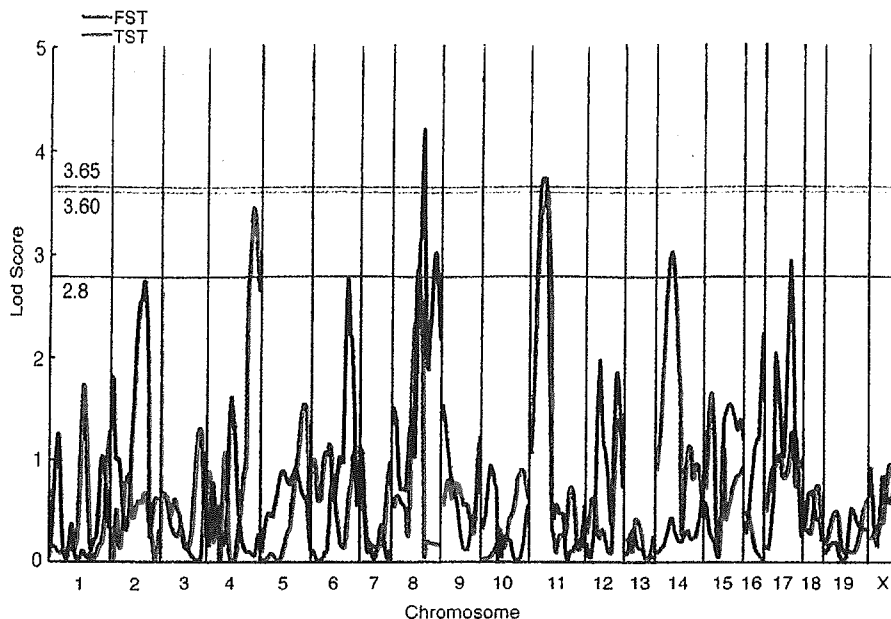


Fig. 5 Lod score plots for the whole genome obtained for 560 F2 animals. The results of both the forced swim test (FST) and tail suspension test (TST) are shown. Lod score were calculated using CARTOGRAPHER and the composite interval mapping approach under the unconstrained genetic model. Thresholds of significant linkage (genome-wide $P < 0.05$) for the FST and TST were estimated by permutation analysis, and were 3.65 and 3.60, respectively (from Yoshikawa et al, 2002).

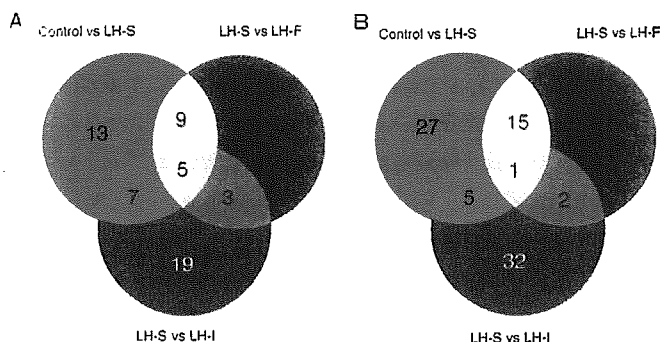


Fig. 7 Venn-diagram selection of LH- and antidepressant-associated transcripts in the frontal cortex (A) and the hippocampus (B). The comparisons were made between control ($n=6$) and saline-treated LH rats (LH-S) ($n=6$), LH-S and fluoxetine-treated rats (LH-F) ($n=5$), and between LH-S and imipramine-treated animals (LH-I) ($n=5$). The number in each compartment denotes the number of differentially expressed transcripts between two groups.

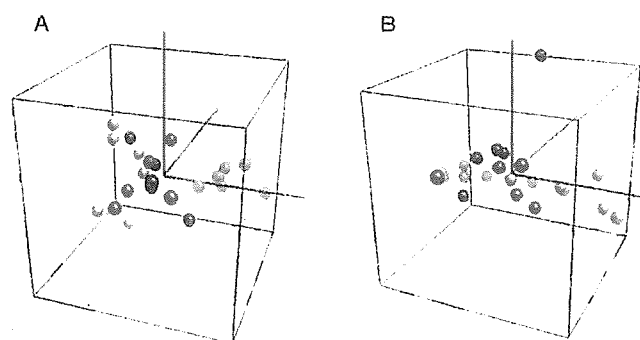


Fig. 8 All animals were plotted with respect to the first (blue), second (green) and third (red) principal components. PCA was performed on transcripts in the frontal cortex (A) and hippocampus (B). Yellow-colored dots represented control animals, green for LH-S rats, red for LH-F, and blue for LH-I.

られた。さらに遺伝子間のエピスタシス（表現形質に影響を及ぼす遺伝子間相互作用）を検討したところ、TSTでは第6番染色体と第11番染色体、第11番染色体とX染色体の遺伝子座の組み合わせが有意なLODスコアを示し、実際の表現型でも遺伝子間相互作用の影響が確認された（Fig. 6）。FSTとTSTの両方において共通し、かつエピスタティックな効果をもつ第11番染色体のマーカー[*D11Mit271*]付近は、ヒト染色体の5q32-q35に相当する。この領域は躁うつ病（Edenberg et al, 1997）や不安障害（Crowe et al, 2001）で連鎖が報告されており、GABA_Aレ

セプターのサブユニット、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 6$ 、 $\beta 2$ 、 $\gamma 1$ 、がコードされている。GABA_Aレセプターはヒトにおいても様々な多型が知られており、気分障害との関連性への可能性を示唆する結果となった。

2. モデル動物の遺伝子発現解析

1995年のインフルエンザ菌とマイコプラズマのゲノム塩基配列決定以来、いろいろな生物のゲノム情報が日進月歩で集積されてきている。そして今までのように個々の遺伝子を対象とするのではなく、ゲノム中に存在するすべての遺伝子の機能とネットワークを網羅的に解析する手法が可能となってきた。従来の遺伝子発現解析法である

differential display や cDNA subtraction に取って代わる包括的遺伝子発現解析法として DNA microarray が誕生した。なかでも Affymetrix 社製の GeneChip は 1 つの検体から半定量的な発現データが得られるのが特徴であり、検体内で対応する遺伝子の絶対量としての精度や再現性は良好である。ラットの GeneChip は EST (expressed sequence tag) を含むおよそ 24,000 個の遺伝子が半導体製造用光リソグラフィのテクノロジーにより、ガラス基盤上でプローブとなるオリゴヌクレオチドの配列を合成したものである。

我々は前述の LH ラットとこの GeneChip を組み合わせ、うつ病感受性遺伝子の探索を行った。LH ラットに三環系抗うつ薬である imipramin を投与した群 (LH-I) と SSRI の fluoxetine を投与した群 (LH-F) および生理食塩水を投与した群 (LH-S) の前頭葉および海馬から RNA を抽出し、GeneChip にハイブリダイズさせ各群で発現変動の見られた遺伝子を選んだ。ベン図をもとに両薬剤でコントロールレベルに発現量が回復した遺伝子、fluoxetine だけで回復した遺伝子および imipramine だけに反応した遺伝子、あるいは両薬剤に対して反応しなかった遺伝子を選んだ (Fig. 7)。前頭葉では EST を含む 34 遺伝子が、海馬では EST を含む 48 個の遺伝子が LH-S 群でコントロール群に比べ有意に変化していた。それらを遺伝子の機能ごとにまとめたところ、前頭葉および海馬とも受容体やイオンチャンネルに分類された遺伝子がすべて LH-S ラットで低下していた。前頭葉においては、セロトニン 2A 受容体 (*Htr2a*) およびイノシトール-3 リン酸受容体 1 型 (*Itpr1*) がそれぞれコントロール群に比べ 1.6 倍、1.1 倍と有意に減少しており、いずれも fluoxetine および imipramine の両薬剤でコントロールレベルにまで回復していた。これらの結果は、これまでのモノアミン仮説に適合するものである。その他の遺伝子では、脳の発達や細胞骨格に関与するといわれている *Limk1* 遺伝子が LH-S ラットでコントロール群に比べ有意に減少 (9.5 倍) しており、統計的に有意ではなかったものの、imipramine 投与によりコントロールレベルにまで回復する傾向が見られたことから、LIMK 1 がうつ病の新しいターゲットである可能性が示唆された。また興味深い結果としては、プロスタグランジン D₂ 合成酵素遺伝子 (*Pgds*) が LH-S でコントロール群に比べ有意に上昇しており、fluoxetine および imipramine の両方の薬剤によりコントロールレベルに発現が低下していた。最近、睡眠誘導物質である PGD₂ がノンレム睡眠に関与していることが報告されたが (Mizoguchi et al, 2001)、LH ラットでは *Pgds* の発現が上昇しているので、ノンレム睡眠増加の可能性が考えられる。今回の結果は、LH ラットを用いてうつ病と睡眠障害との関わりについて研究できる可能性を示唆した。海馬においては *Snap*, *Rab3b*, *Rab13*

といったシナプス分泌に関与する遺伝子群の発現がいずれも LH-S でコントロール群に比べ有意に低下しており、LH ラットでは神経伝達物質の低下が示唆された。また、これらのデータに対して主成分分析 (principal component analysis) を行い、3 次元的に表示することで視覚的にわかりやすくしたものが Fig. 8 である。この図の第一主成分に相当する X 軸からデータを眺めると、抗うつ薬の反応性は海馬遺伝子群より前頭葉遺伝子群の方が高いことがわかる (前頭葉では約 62%、海馬では約 44% の遺伝子が反応している)。Fig. 8A の第 2 主成分からは前述した *Limk1* を含む細胞骨格に関わる遺伝子が抽出され、うつ状態における細胞骨格遺伝子 (タンパク) 群のゆらぎの可能性が示唆された (Nakatani, 投稿中)。この分野では、今後大規模データから有意な仮説を抽出できるようなパイオインフォマティックスのさらなる進歩が望まれる。

3. 抗うつ薬投与動物の遺伝子発現解析

動物モデルは 100% ヒトうつ病の病態を反映しているわけではないという観点から、抗うつ薬の作用機序をつきつめていってうつ病の病態生理を明らかにしようとするアプローチもある。たとえば、コントロール動物に対する抗うつ薬投与により変動する遺伝子をマイクロアレイで選別するという手法である。Landgrebe らは、マウスに 2 つの異なる抗うつ薬、paroxetine と mirtazapine、を最高 28 日間投与し、約 3,000 個の EST を含んだ cDNA microarray により、それぞれの薬剤に反応する遺伝子を選んだ (Landgrebe et al, 2002)。彼らは抗うつ薬投与 7 日目に、すでに遺伝子発現の変動は飽和状態にあると記述している。共通して遺伝子発現に影響を及ぼしたのはわずか 4 つの遺伝子であり、1 つはリボソームタンパク質であった。それぞれの薬剤は異なる遺伝子発現プロファイルを示しており、大部分が異なる細胞内代謝・情報伝達系を標的としていて共通の分子薬理基盤は遺伝子発現レベルではごくわずかであったことは、我々のデータ (Nakatani, 投稿中) とも一致しており興味深い。また、ラットに抗うつ薬投与と ECT (electroconvulsive therapy) を行い、共通して変動する遺伝子と同じく cDNA microarray を用いて選んでいる報告もある (Yamada et al, 1999, 2000, 2001, 2002)。これらの報告は、いずれも薬によるうつ病の治癒機転における遺伝子発現を検討したものであり、実際にうつ状態において変動しているかどうかは今後の課題である。

4. ジーンターゲットングによる遺伝子改変動物

ジーンターゲットング法などにより候補となりうる遺伝子のノックアウト動物を作り、その行動を評価するということが、現在でも盛んに行われている。Table 2 にこれまでに報告のあった遺伝子改変動物の表現型と抗うつ薬に対する応答性を示す。いずれも簡便な FST あるいは TST を用いて表現型を評価している。さらに我々の研究室の QTL

Table 2 Genetically altered mice that exhibit depression or antidepressant-related behavior

Genetically altered genes	Depression or antidepressant-related phenotype	Test used	Chromosome	QTL study*	Human chromosome
5-HT _{1A} receptor knockout	Antidepressant-like effects	FST, TST	13		5q11.2-q13
5-HT _{1B} receptor knockout	Increased sensitivity to the effects of SSRIs	TST FST	9		6q13
Dopamine- β -hydroxylase knockout	Blockade of antidepressant-like effects	FST	2		9q34
Dopamine- β -hydroxylase knockout	Blockade of antidepressant-like effects of the antidepressant from variety of classes	FST	2		9q34
α_{2A} -Adrenoceptor knockout	Blockade of antidepressant-like effects	FST	19		10q24-q26
α_{2A} -Adrenoceptor knockout	Depressive-like effects and blockade of the antidepressant-like effect of imipramine	FST	19		10q24-q26
α_{2C} -Adrenoceptor knockout	Antidepressant-like effects	FST	5		4p16
α_{2C} -Adrenoceptor overexpressing	Depressive-like effects	FST	5		4p16
Norepinephrine transporter knockout	Antidepressant-like effects	FST, TST	8	FST, TST	16q12.2
Monoamine oxidase A knockout	Antidepressant-like effects	FST	X		Xp11.4-11.3
Monoamine oxidase B knockout	Antidepressant-like effects	FST	X		Xp11.4-11.3
Mu opioid receptor knockout	Antidepressant-like effects	FST	10		6q24-q25
Delta opioid receptor knockout	Depressive-like effects	FST	10		6q24-q25
G ₂ α G-protein knockout	Blockade of antidepressant-like effects of desipramine and reboxetine	FST	10		22q11.22
Glucocorticoid-receptor-impaired transgenic	Antidepressant-like effects	FST	18		5q31
Glutamic acid decarboxylase (65-kDa isoform) knockout	Antidepressant-like effects	FST	2		10p11.23
Neural cell adhesion molecule knockout	Antidepressant-like effects	FST	9		11q23.1
Tumor necrosis factor α knockout	Antidepressant-like effects	FST	17	FST	6p21.3
Angiotensinogen knockout	Antidepressant-like effects	FST	8	FST, TST	1q42-q43
Adenosine A _{2A} receptor knockout	Antidepressant-like effects	FST, TST	10		22q11.23
Tachykinin NK ₁ receptor knockout	Antidepressant-like effects	FST, TST	6	FST	2p12
Interleukin-6 knockout	Blockade of antidepressant-like effects of <i>Hypericum perforatum</i>	FST	5		7p21
Dopamine D5 receptor knockout	Antidepressant-like effects	FST	5		4p16.1
DARPP-32 knockout	Reduced sensitivity to fluoxetine	FST	11	FST, TST	17q21.1
CREB mutant (α and Δ isoforms)	Antidepressant-like effects	FST, TST	1		2q34

Abbreviations: DARPP-32, dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein of molecular weight 32kD; CREB, cAMP response element-binding protein, FST, forced swimming test; TST, tail suspension test.

*Yoshikawa et al, 2002.

解析で有意な LOD スコアを示した染色体と比較検討すると、norepinephrine transporter, tumor necrosis factor α , angiotensinogen, tachykinin NK₁ receptor, DARPP-32 などが一致した。今後は、これら遺伝子のヒトでの詳細な検討が必要であろう。

おわりに

以上、現在用いられている動物モデルとうつ感受性遺伝子同定のストラテジーについて述べてきた。ここで述べて

きたモデルは歴史が古く、多くの積み重ねられたデータがある。しかし、うつ病を含む精神疾患の生物学的研究にはこうした動物モデルは有用ではあるものの、やはりヒトの認知行動を齧歯類にそのまま還元するのは疑問が残るものである。動物モデルはあくまで表現型の類似性であり、ある側面ではしか病態を反映していないことを念頭に置くべきである。かといって、霊長類を用いたモデルによる研究は再現性を得るためかなりのコストが強いられる。ヒトの精神機能を特定の要素に分解し、どの動物（齧歯類）モデ

ルでどの要素が評価可能なのかさらに分析的に再検討していく作業と、その後それらを有機的に結びつけ統合して新しい作業仮説を作っていく過程が必要と考えられる。

近年、精神世界の混沌とは対照的に、マイクロアレイをはじめとする実験技術の進歩は目覚ましく、データをマクロ的視野で眺めることができるようになった。まだ発展途上の段階ではあるが、技術の進歩に付随して解析手法も向上してきている。そうしたテクノロジーと融合させることで、少しでも病態の理解に近づければと願ってやまない。

文献

- Bissette, G. (2001) Effects of sertraline on regional neuropeptide concentrations in olfactory bulbectomized rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 69: 269-281.
- Connor, T. J., Song, C., Leonard, B. E., Anisman, H. and Merali, Z. (1999) Stress-induced alterations in serotonergic activity in an animal model of depression. *Neuroreport*, 10: 523-528.
- Crowe, R. R., Goedken, R., Samuelson, S., Wilson, R., Nelson, J. and Noyes, N. Jr. (2001) Genomewide survey of panic disorder. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)*, 105: 105-109.
- Cryan, J. F. and Lucki, I. (2000) Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine 2C receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 295: 1120-1126.
- Cryan, J. F., Page, M. E. and Lucki, I. (2002) Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test. *Eur J Pharmacol*, 436: 197-205.
- David, D. J. P., Renard, C. E., Jolliet, P., Hascoet, M. and Bourin, M. (2003) Antidepressant-like effects in various mice strains in the forced swimming test. *Psychopharmacology*, 166: 373-382.
- Edenberg, H. J., Foroud, T., Coneally, P. M., Sorbel, J. J., Carr, K., Crose, C., Willig, C., Zhao, J., Miller, M., Bowman, E., Mayeda, A., Rau, N. L., Smiley, C., Rice, J. P., Goate, A., Reich, T., Stine, O. C., McMahon, F., DePaulo, J. R., Meyers, D., Detera-Wadleigh, S. D., Goldin, L. R., Gershon, E. S., Blehar, M. C. and Nurnberger, J. I. Jr. (1997) Initial genomic scan of the NIMH genetics initiative bipolar pedigrees: Chromosomes 3, 5, 15, 16, 17, and 22. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)*, 74: 238-246.
- Geoffroy, M., Scheel-Kruger, J. and Christensen, A. V. (1990) Effect of imipramine in the "learned helplessness" model of depression in rats is not mimicked by combinations of specific reuptake inhibitors and scopolamine. *Psychopharmacology*, 101: 371-375.
- Ho, Y. J., Chang, Y. C., Liu, T. M., Tai, M. Y., Wong, C. S. and Tai, Y. F. (2000) Striatal glutamate release during novelty exposure-induced hyperactivity in olfactory bulbectomized rats. *Neurosci Lett*, 287: 117-120.
- Holmes, P. V., Davis, R. C., Masini, C. V. and Primeaux, S. D. (1998) Effects of olfactory bulbectomy on neuropeptide gene expression in the rat olfactory/limbic system. *Neuroscience*, 8: 587-596.
- Kelly, J. P., Wrynn, A. S. and Leonard, B. E. (1997) The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: An update. *Pharmacol Ther*, 74: 299-316.
- Landgrebe, J., Welzl, G., Metz, T., van Gaalen, M. M., Ropers, H., Wurst, W. and Holsboer, F. (2002) Molecular characterization of antidepressant effects in the mouse brain using gene expression profiling. *J Psychiatr Res*, 36: 119-129.
- Lucki, I. (1997) The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol*, 8: 523-532.
- Lucki, I., Dalvi, A. and Mayorga, A. (2001) Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology*, 155: 315-322.
- Mayorga, A. J. and Lucki, I. (2001) Limitations on the use of the C57BL/6 mouse in the tail suspension test. *Psychopharmacology (Berl)*, 155: 110-112.
- McKinney, W. T. Jr. and Bunney, W. E. Jr. (1969) Animal model of depression. I. Review of evidence: Implications for research. *Arch Gen Psychiatry*, 21: 240-248.
- Mizoguchi, A., Eguchi, N., Kimura, K., Kiyohara, Y., Qu, W. M., Huang, Z. L., Mochizuki, T., Lazarus, M., Kobayashi, T., Kaneko, T., Narumiya, S., Urade, Y. and Hayaishi, O. (2001) Dominant localization of prostaglandin D receptors on arachnoid trabecular cells in the regulation of non-rapid eye movement sleep. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 11674-11679.
- Musty, R. E., Jordan, M. P. and Lenox, R. H. (1990) Criterion for learned helplessness in the rat: A redefinition. *Pharmacol Biochem Behav*, 36: 739-744.
- Nankai, M., Yamada, S., Muneoka, K. and Toru, M. (1995) Increased 5-HT₂ receptor-mediated behavior 11 days after shock in learned helplessness rats. *Eur J Pharmacol*, 281: 123-130.
- Naudon, L., El Yacoubi, M., Vaugeois, J. M., Leroux-Nicollet, I. and Costentin, J. (2002) A chronic treatment with fluoxetine decreases 5-HT_{1A} receptors labeling in mice selected as a genetic model of helplessness. *Brain Res*, 936: 68-75.
- Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., Eisch, A. J., Gold, S. J. and Monteggia, L. M. (2002) Neurobiology of depression. *Neuron*, 34: 13-25.
- Overmier, J. B. and Seligman, M. E. (1967) Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance responding. *J Comp Physiol Psychol*, 63: 28-33.
- Porsolt, R., LePichon, M. and Jalfre, M. (1977) Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266: 730-732.
- Porsolt, R. D. and Lenegre, A. (1992) Behavioral models of depression. In Elliot, J. M., Heal, D. J. and Marsden, C. A. (Eds) *Experimental Approaches to Anxiety and Depression*. Wiley, Chichester, pp73-87.
- Ukai, M., Suzuki, M. and Mamiya, T. (2002) Effects of U-50,488H, a kappa-opioid receptor agonist, on the learned helplessness model of depression in mice. *J Neural Transm*, 109: 1221-1225.
- 鶴飼保雄 (2000) ゲノムレベルの遺伝子解析 MAP と QTL. 東京大学出版会, 東京, p247.
- Van der Heyden, J. A. M., Molewijk, E. and Oliver, B. (1987) Strain differences in response to drugs in the tail suspension test for antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 92: 127-130.
- Vaugeois, J. M., Odievre, C., Laisel, L. and Costentin, J. (1996) A genetic model of helplessness sensitive to imipramine. *Eur J Pharmacol*, 316: R1-R2.
- Vaugeois, J. M., Passera, G., Zuccaro, F. and Costentin, J. (1997) Individual differences in response to imipramine in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacology*, 134: 387-391.
- Vollmayr, B., Faust, H., Lewicka, S. and Henn, F. A. (2001) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) stress response in rats bred for learned helplessness. *Mol Psychiatry*, 6: 471-474.
- Yamada, M., Kiuchi, Y., Nara, Y., Kanda, Y., Morinobu, S., Momose, K., Oguchi, K., Kamijima, K. and Higuchi, T. (1999) Identification of a novel splice variant of heat shock cognate protein 70 after chronic antidepressant treatment in rat frontal

- cortex. *Biochem Biophys Res Commun*, 261 : 541-545.
- Yamada, M., Yamada, M., Yamazaki, S., Takahashi, K., Nishioka, G., Kudo, K., Ozawa, H., Yamada, S., Kiuchi, Y., Kamijima, K., Higuchi, T. and Momose, K. (2000) Identification of a Novel Gene with RING-H2 finger motif induced after chronic antidepressant treatment in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 278 : 150-157.
- Yamada, M., Yamada, M., Yamazaki, S., Takahashi, K., Nara, K., Ozawa, H., Yamada, S., Kiuchi, Y., Oguchi, K., Kamijima, K., Higuchi, T. and Momose, K. (2001) Identification of cystein string protein after chronic antidepressant treatment in rat frontal cortex. *Neurosci Lett*, 301 : 183-186.
- Yamada, M., Takahashi, K., Tsunoda, M., Nishioka, G., Kudo, K., Ohata, H., Kamijima, K., Higuchi, T., Momose, K. and Yamada, M. (2002) Differential expression of VAMP2/synaptobrevin-2 after antidepressant and electroconvulsive treatment in rat frontal cortex. *The Pharmacogenomics J*, 2 : 377-382.
- Yoshikawa, T., Watanabe, A., Ishitsuka, Y., Nakaya, A. and Nakatani, N. (2002) Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for "behavioral despair" in mice. *Genome Res*, 12 : 357-366.
- Zhou, D., Grecksch, G., Becker, A., Frank, C., Pilz, J. and Huether, G. (1998) Serotonergic hyperinnervation of the frontal cortex in an animal model of depression, bulbectomized rat. *J Neurosci Res*, 54 : 109-116.

Abstract: Noriaki NAKATANI and Takeo YOSHIKAWA (Laboratory for Molecular Psychiatry, Brain Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, 351-0198 Japan) *Approaches for identifying depression-related genes using animal models*. *Jpn. J. Neuropsychopharmacol.*, 23 : 161-169 (2003).

The pathophysiology of psychiatric diseases including depression is characterized by the involvement of many genes contributing a small effect. This genetic complexity means larger amounts of information can be gathered by studying the disease process as a single entity, in an animal model. A number of genetically modified animals showing both depressive and anti-depressive phenotypes have been generated. Approximately ten of these models are in current use for screening novel antidepressants. The development of new therapies is intimately linked to the elucidation of mechanisms via which the drugs work and therefore the mechanisms of disease. It is now possible to combine the information from animal models with sophisticated technology including DNA microarray analysis. In this setting, the animal models can provide information about genes altered in both the depressive state and after anti-depressive treatment, whilst DNA microarrays can identify these genes, as well as the direction of change. This information will eventually lead to the discovery of new mechanisms involved in disease pathology. Here we summarize approaches for identifying genes related to depression.

Key words: Animal model, Depression, Drug-screening, Genome-wide analysis

(Reprint requests should be sent to T. Yoshikawa)

遺伝子研究からみた統合失調症のグルタミン酸仮説

糸川 昌成^{1,2)}, 吉川 武男²⁾

Masanari Itokawa, Takeo Yoshikawa: Hypoglutamatergic Hypothesis of Schizophrenia: evidence from genetic studies

統合失調症の遺伝子研究は、ここ10年でいくつかの染色体上に疾患と連鎖する領域を絞り込む段階まで進んだ。メンデル型遺伝形式をとる「まれな疾患」の場合と違って、「ありふれた病気」としての統合失調症では、報告された連鎖領域が複数の染色体にわたっている。昨年来、それらの領域から統合失調症との関連を示唆する遺伝子が相次いで同定された。それらは、どれも何らかの形でグルタミン酸神経伝達に関与する可能性が指摘されている。統合失調症の病態に、グルタミン酸神経伝達の低下が関与するという「グルタミン酸仮説」が提唱されたのは、およそ20年前のことである。この間、この仮説はグルタミン酸受容体の阻害物質による病態薬理学的根拠や神経生理学的証拠によって支えられてきた。ここ1-2年は、候補遺伝子研究からもグルタミン酸仮説を支持する結果が蓄積されつつある。本稿では、最近の統合失調症の遺伝子研究をグルタミン酸仮説の観点から概説した。

<索引用語：連鎖解析，関連研究，NMDA受容体，グルタミン酸仮説，統合失調症>

1. はじめに

統合失調症は、気分障害とならぶ2大精神疾患のひとつで、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、典型的なメンデルの伝播形式に合致しない。これは、統合失調症は大きい効果を持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み合わ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²⁰⁾。

統合失調症研究にも、分子遺伝学的手法が1990年代から積極的に用いられるようになった。分子遺伝学的研究には、関連研究と連鎖研究がある。前者は通常は集団を対象に、治療薬の作用部位や病因仮説に基づく関連蛋白をコードする遺伝子を候補として解析する研究手法である。後者は、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って、感受性遺伝子を「ポジショナルに」染色体上で絞り込んでゆく研究手法である。

これまで関連研究の結果からは、解析された遺伝子上にそれがあれば100%近い確率で発症に至るような変異は見つかっていない。見つかった多型はせいぜい発症危険率を1.5-2倍程度増加

著者所属：1) 東京都精神医学総合研究所統合失調症研究部門，Department of Schizophrenia Research, Tokyo Institute of Psychiatry

2) 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，Laboratory for Molecular Psychiatry, RIKEN Brain Science Institute

させる効果(オッズ比^{脚註1)})しか持たず、統合失調症との関連が支持された遺伝子多型は複雑遺伝疾患モデルの観点から解釈されている。一方、統合失調症の病態は依然不明であるため、疾患の本体がまったく未知の遺伝子によって規定されていた場合は候補遺伝子の対象にならない。こうした未知の遺伝子の検出には、比較的大きい効果を持つ遺伝子しか検出できないが、連鎖解析が妥当である。結果が一部の家系にしか当てはまらないとしても、未知の遺伝子による病態解明がなされれば、これをプロトタイプとして他の多くの孤発例の病態の解明につながる可能性が出てくる。

統合失調症の遺伝子研究において、上述した2つの研究手法で得られた結果が、期せずして同じ分子病態生理に辿りつきつつあることが最近明らかとなってきた。昨年来、連鎖研究によってポジショナルに染色体上で絞込まれた領域から、相次いで統合失調症に関連する遺伝子が同定された。それらは、どれもグルタミン酸の神経伝達に関与する可能性が指摘されている。もともと1980年代初頭より、グルタミン酸神経伝達の異常が統合失調症の病態に関与する証拠は集積しており、関連研究でもグルタミン酸受容体を候補遺伝子とした解析により、いくつかの機能性多型と疾患との関連が明らかになってきている。遺伝子研究における2つの流れが、グルタミン酸仮説を1つの交点として合流しようとしている。本稿では、このような近年の成果を踏まえ、統合失調症における遺伝子研究の現況を「グルタミン酸仮説」の観点から紹介する。

2. 統合失調症のグルタミン酸仮説の歴史、根拠

統合失調症でのグルタミン酸神経伝達の異常を最初に提唱したのは、Ulm大学のKimらで1980年のことである³⁵⁾。Kimらは、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た。彼らは、統合失調症ではグルタミン酸神経系に機能不全があってグルタミン酸の遊出が低下していると考察し、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^{18,50)}。

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置かれている。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³⁹⁾、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回り社会問題化した。フェンサイクリジン精神病の臨床症状は、統合失調症に酷似し陽性症状と陰性症状の双方を来すため、臨床症状だけでは統合失調症と鑑別できないほどと言われる³¹⁾。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¹⁾、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次々と報告され、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」としてまとめた³¹⁾。フェンサイクリジンがグルタミン酸受容体ファミリーのひとつであるNMDA型受容体を阻害してグルタミン酸神経の機能低下を起こすが、これと類似の病態が統合失調症でおこっているという仮説である。

グルタミン酸仮説は神経生理学的にも支持されており、その根拠として統合失調症における prepulse inhibition (PPI) の減弱があげられている。PPIとは、大きな音を聞かせたときの驚愕反応が、音刺激直前(50-500 ms)に小さい音を先行させることで抑制される現象のことである。1978

1) オッズ比: 多型頻度の除数をオッズといい、対立遺伝子間におけるオッズの比をオッズ比と呼んで、罹患危険率の近似値とみなす。たとえば、オッズ比2.2であればリスク多型を持った個体は持たない個体に比べて2.2倍罹患しやすいとみなされる。