

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書

研究課題名：統合失調症の遺伝子解析研究

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

研究要旨

精神疾患の診断は、医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法はいまだ確立したとはいえない。そこで、MRIによる構造的異常、神経繊維走行の異常及び、それに起因する脳機能の異常を解析し中間表現型としての脳局所レベルでの異常を明らかにし、それら中間表現型の異常と脆弱遺伝子多型との関連、認知機能異常との関連を明らかにすることにより、統合失調症のサブタイプを明らかにし、生物学的異常に基づく統合失調症の診断を可能とすることを目的とする。

分担研究として遺伝子解析を担当し、脳機能に影響を与えることが知られている機能的多型であるドパミンの代謝酵素のカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) の Val158Met 多型と脳由来神経栄養因子である BDNF の Val66Met 多型のジェノタイピングを行った。その後の脳構造と組み合わせた解析は大西主任研究者から報告する。新たな統合失調症の関連遺伝子として anaplastic lymphoma kinase 遺伝子を見出した。さらに、躁うつ病とうつ病についても検討を行い、躁うつ病と BDNF の新たな多型との関連、うつ病と Gem-interacting protein 遺伝子との関連も見出した。これらの所見はさらに大サンプルにおける追試研究が必要であると思われるが、機能的な多型であることから、客観的診断法の確立に向けた脳構造と組み合わせた解析に用いるのに適当であると考えられる。

key word: 統合失調症、MRI、遺伝子解析、中間表現型、客観的診断法

A. 研究目的

精神疾患の診断は、医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法はいまだ確立したとはいえない。現在、DSM-IVによる症状によって操作的に分類する診断法がよく使われるようになってきているが、従来の外因、内因、心因の原因を想定した診断法が実際の臨床場面では有用な場合が少なくない。しかし、いずれの診断法も客観的な診断法とはいえず、客観的な診断法の開発が待ち望まれている。

そこで、MRIによる構造的異常、神経繊維走行の異常及び、それに起因する脳機能の

異常を解析し中間表現型としての脳局所レベルでの異常を明らかにし、それら中間表現型の異常と脆弱遺伝子多型との関連、認知機能異常との関連を明らかにすることにより、統合失調症のサブタイプを明らかにし、生物学的異常に基づく統合失調症の診断を可能とすることを目的とする。

そのためには、統合失調症、健常者、またはうつ病などの対照疾患において、脳 MRI 画像や認知機能検査データと遺伝子解析に用いるゲノムサンプルを同一被験者において収集する必要がある。また、脳 MRI 画像と遺伝子解析を組み合わせた解析を行うため 200

例以上の多数の症例を必要とすることから十分な検討を行うための精神疾患のリサーチリソース・データベースを構築することも目的とする。

B. 研究方法

国立精神・神経センター武蔵病院にて統合失調症、躁うつ病、うつ病の患者様をリクルートした。健常者の研究参加に関しては、武蔵病院や神経研究所のスタッフや近隣のボランティアの協力を得て行った。被験者については、文書による説明と同意をいただいた上で、原則的にMRI撮像（3D画像、拡散テンソル画像、一部の症例についてfMRI）といくつかの認知機能検査バッテリー（知能指数：WAIS-R：Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised、記憶検査：WMS-R：Wechsler Memory Scale-Revised、前頭葉機能検査：WCST：Wisconsin Card Sorting Test、視空間ワーキングメモリ検査：ATMT：Advanced Trail Making Test）や性格検査（TCI：Temperament and Character Inventory）を行ったうえで、採血を行いDNAを抽出した。さらに既存のDNAサンプル（統合失調症、双極性障害、うつ病、健常者）を精神疾患に関連する遺伝子の探索に用いた。遺伝子多型の判定を行うに当たって、Applied BiosystemsのTaqMAN法を用いた。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、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究である。試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた

上で研究を行った。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。また、遺伝子解析研究においては、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いる。

本研究の説明を行う過程や試料等提供の過程で、強制的な態度や同意の強要をしないことはいうまでもない。試料提供の依頼を拒否したからといって、診療行為等に不合理または不公平なことが行われることは全くない。また、同意はいつでも文書によって撤回することができ、その場合、試料等は廃棄される。治療中の患者様に関しては、試料提供を依頼することが主治医によって不適切であると判断された場合は、試料提供の依頼は行わない。強制入院（医療保護入院や措置入院）している患者様や未成年者は対象から除外する。

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

被験者のリクルートと遺伝子解析を行った。2004年度に健常者、統合失調症あわせて295例でのデータ収集を行ったが、それに加えて2005年度には機能的MRIのデータを中心に新たに100例のサンプルを収集した。サンプルとしてDNAサンプルだけではなく、血中のRNAサンプルも追加して収集した。変わらない形質と考えられるDNAとそのときの状態によって変わると考えられる形質である血中のRNAの双方をこれからは解析していく必要があると考えられる。血中RNAに関しては、脳の病気である精神疾患を反映しているかどうかについて異論があるが、採取が簡単であることが利点である。

現在、精神疾患に関連するといわれている機能的な遺伝子多型として、ドパミンの代謝酵素であるカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) の遺伝子多型と脳由来神経栄養因子であるBDNFの多型が報告されていることから、まず最初に、この二つの遺伝子についての検討を行った。COMTの機能的遺伝子多型としてVal108/158Met多型があげられるが、Val型はMet型と比較して酵素活性が高いことが知られている。前頭葉におけるドーパミンの代謝はほぼCOMTによってなされていると考えられており、Val型では前頭葉のドーパミンがより分解されて少なくなり、その結果として、前頭葉機能が低下すると考えられている。我々は、タックマン法にて、COMT遺伝子のVal/Met多型を健常者76例と統合失調症47例についてタイピングし、Val/Valが38例、Val/Metが25例、Met/Metが13例、統合失調症患者においてはVal/Valが19例、Val/Metが22例、Met/Metが6例と決定した。

BDNFの機能的遺伝子多型としてVal66Met多型があり、Met型ではVal型と比較して活動依存的なBDNFの分泌が低いことから、Met型ではエピソード記憶のスコアが低いと報告されている。BDNFの

Val66Met多型を、タックマン法にて健常者109例についてタイピングし、健常者においては、Val/Valが41例、Val/Metが51例、Met/Metが17例と決定した。これらの結果を用いた脳構造と遺伝子多型との関連についての検討は主任研究者の大西が行ったので総括報告書にて述べる。

次に、中間表現型の異常と組み合わせで解析を行うために、統合失調症をはじめとする精神疾患の脆弱性遺伝子を見出す研究を行った。その結果、統合失調症、双極性障害、うつ病のそれぞれの疾患に関して成果があった。統合失調症においては神経発達に関与していると考えられているanaplastic lymphoma kinase (ALK)遺伝子のミスセンス変異であるArg1491LysとGlu1529Aspのうち、1491Lys-1529Aspのホモ型が統合失調症において優位に多い($p=0.0064$, odds ratio 2.4, 95% CI 1.3-4.6)ことを示した。このことから、ALK遺伝子は統合失調症と関連することが示唆された(Kunugi et al., in press)。

双極性障害においてはBDNFの新しい2塩基繰り返し配列、塩基挿入、塩基欠損、塩基置換の組み合わせによるBDNF-linked complex polymorphic region (BDNF-LCPR)を同定し、全部で23個ある多型のうちのひとつが双極性障害と関連することを見出した。さらに、この双極性障害のリスクとなる多型は神経細胞培養系におけるルシフェラーゼレポーターアッセイにより、転写活性が少ないことを明らかにした。この結果は、BDNFの新たに同定した多型は転写活性が低いことから双極性障害のリスクとなる可能性を示唆するものである(Okada et al., Mol psychiatry, in press)。

うつ病においては、神経突起の形態制御を行い、神経回路システムの構築に重要な役割を果たすRhoのGAP (Rho GTPase activating protein)の一種である、GMIP (Gem-interacting protein)について、大うつ病との関連について検討した。その結果、転写開始点から525bp上流に位置するG(-525)Aにおいて、有意な関連が認められた($p=0.03$, OR[95%CI]=1.7[1.0-2.8])。また、

うつ病のリスクとなる G(-525)A の A アレルをもつコンストラクトは G アレルと比較してルシフェラーゼレポーターアッセイにより、転写活性が少ないことを明らかにした。これらのことから、GMIP 遺伝子の -525A 多型は転写活性が低いことからうつ病のリスクとなることが示唆された (Tadokoro et al, Neurogenetics, 2005)。

D. 考察

COMT 遺伝子の Val/Met 多型と BDNF 遺伝子の Val/Met 多型に関して遺伝子多型を決定した。この遺伝子多型と脳構造との関連に関しては、総括報告書に詳しく述べるのでここでは言及しない。

次に、統合失調症、双極性障害、うつ病のそれぞれの疾患に関して脆弱性遺伝子を見出した。

ALK 遺伝子は、染色体の転座がある未分化のリンパ腫にて活性化されている発癌遺伝子として発見された。その後、この遺伝子はインシュリン受容体ファミリーに属する受容体型のチロシンキナーゼであることがわかった。この遺伝子は神経発達に重要な役割を果たす神経栄養因子群の受容体としても働くと考えられている。よって、この遺伝子のミスセンス変異が統合失調症と関連することは大変興味深い所見であると考えられる。また、このミスセンス変異は、このタンパクの C 端にある NPTY モチーフの近傍にある。NPTY モチーフは、受容体型のチロシンキナーゼとそのシグナル分子である insulin receptor substrate-1 などとの相互作用を制御していると考えられている。よって、Arg1491Lys と Glu1529Asp 変異は、この NPTY モチーフの機能に影響を与える可能性が考えられる。

一方、本研究において、疾患特異性という観点において、躁うつ病やうつ病についても検討していく必要がある。まず、最初に躁うつ病に関しては、BDNF の新たな遺伝子多型を同定し (BDNF-LCPR)、そのうちの 하나가躁うつ病に関連することを見出した。BDNF の Val66Met 多型は、白人などの人種では躁うつ病や統合失調症との関連が報告されてき

たが、日本人においてはその関連について否定的な報告がなされてきた。その理由として、人種差が挙げられてきたが、我々の同定した BDNF-LCPR は、BDNF の Val66Met 多型と連鎖不平衡にあることから、今までの BDNF の Val66Met 多型との関連は BDNF-LCPR によるものであり、真の脆弱性多型は BDNF-LCPR であると考えられる。しかも、躁うつ病に関連する多型では転写活性が低い機能的な多型であり、病態を考える上で重要な知見であると考えられる。

次にうつ病における脆弱性遺伝子として、GMIP を見出した。この遺伝子は、神経突起の形態制御を行い、神経回路システムの構築に重要な役割を果たす Rho の GAP (Rho GTPase activating protein) の一種である。我々は、転写開始点の上流に位置する G(-525)A 多型の A アレルがうつ病のリスクでありその A アレルは転写活性が低い機能的な多型であることを見出した。うつ病は精神疾患の中でもっとも頻度が高く (発症頻度: 約 10%、統合失調症: 1%、双極性障害: 1%)、うつ病についても検討を進めていく必要があると考えられる。

これらの遺伝子は我々のサンプルにおいてそれぞれの疾患との関連が認められたが、他の日本人のサンプルまたは他の人種におけるサンプルで追試研究を行い、結果を確認する必要があると考えられる。今回の結果は、ただ遺伝子多型と精神疾患の関連を解析するのみではなく精神疾患と関連する多型の機能についても検討を行ったことから、その病態機序の解明により貢献できると考えられる。

E. 結論

我々は、サンプル収集と遺伝子解析を行った。その結果、統合失調症、双極性障害、うつ病のそれぞれの機能的な脆弱性遺伝子多型を見出すことができた。これらの成果と脳画像を組み合わせることで解析を行うことにより、本研究班が目的とする統合失調症の客観的診断法が確立し、国民の健康・福祉・医療に貢献することができると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada T, Hashimoto R, Numakawa T, Iijima Y, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kato T, Kunugi H. A complex polymorphic region in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene confers susceptibility to bipolar disorder and affects transcriptional activity. *Mol Psychiatry* (in press).
2. Chiba S, Hashimoto R, Hattori S, Yohda M, Lipska B, Weinberger DR, Kunugi H. Effect of antipsychotic drugs on DISC1 and dysbindin expression in mouse frontal cortex and hippocampus. *J Neural Transm* (in press).
3. Kunugi H, Hashimoto R, Okada T, Hori H, Nakabayashi T, Baba A, Kudo K, Ohmori M, Takahashi S, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Asada T, Harada S, Arima K, Saitoh O. Possible association between nonsynonymous polymorphisms of the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene and schizophrenia in a Japanese population. *J Neural Transm* (in press).
4. Nakahachi T, Iwase M, Takahashi H, Honaga E, Sekiyama R, Ukai S, Ishii, R, Ishigami W, Kajimoto O, Yamashita K, Hashimoto R, Shimizu A, Takeda M. Discrepancy of performance among working memory related tasks in autism spectrum disorders was caused by task characteristics except working memory which could interfere with task execution. *Psychiatry Clin Neurosci* (in press)
5. Hashimoto R, Hattori S, Chiba S, Yagasaki Y, Okada T, Kumamaru E, Mori T, Nemoto K, Tanii H, Hori H, Noguchi H, Numakawa T, Ohnishi T, Kunugi H. Susceptibility genes for schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 60:S4-S10, 2006.
6. Ohnishi T, Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Iida H, Yamada M, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Ohmori M, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Harada S, Arima K, Saitoh O, Kunugi H. The association between the Val158Met polymorphism of the Catechol-O-methyl transferase gene and morphological abnormalities of the brain in chronic schizophrenia. *Brain*, 129:399-410, 2006.
7. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Kunugi H, Koyama T. A possible association between -116C/G single nucleotide polymorphism of XBP1 gene and lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 9(1):83-88, 2006.
8. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Kunugi H, Koyama T. Lithium response and Val66Met polymorphism of the BDNF gene in Japanese patients with bipolar disorder. *Psychiatr Genet*, 16:49-50, 2006.
9. Kato T, Hashimoto R. Microarrays Detect Altered Expression of Mitochondria-Related Genes in Brains of Patients with Bipolar Disorder. *AFFYMETRIX MICROARRAY BULLETIN*, 1(4):31-34, 2005.
10. Nemoto K, Ohnishi T, Mori T, Moriguchi Y, Hashimoto R, Asada T, Kunugi H. The Val66Met polymorphism of the BDNF gene affects age-related brain morphology. *Neurosci Lett*, 397:25-29, 2006.
11. 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. *Biol Psychiatry*, 57(10):1097-1102, 2005.
12. 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.
13. 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.
 14. Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M, Kosuga A, Kamijima K, Kunugi H. The Gem interacting protein (GMIP) gene is associated with major depressive disorder. *Neurogenetics*, 6(3):127-133, 2005.
 15. Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T. Relationship between XBP1 genotype and personality traits assessed by TCI and NEO-FFI. *Neurosci Lett*, 391(1-2):7-10, 2005.
 16. 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*, 349:1-14, 2005.
 17. 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*, 77(6):937-944, 2005.
 18. 橋本亮太, 沼川忠広、矢ヶ崎有希、岡田武也、服部聡子、千葉幸恵、功刀浩、統合失調症：分子から治療まで、統合失調症の病態とディスプレインジン. *脳* 21, 8(1):29-33, 2005.
 19. 橋本亮太, 沼川忠広、矢ヶ崎有希、服部聡子、千葉幸恵、岡田武也、功刀浩、dysbindin(DTNBP1). *分子精神医学*, 5(4):64-65, 2005.
 20. 橋本亮太, 統合失調症脆弱性遺伝子 dysbindin の機能に関する新たな知見. *Congress Reports: Psychiatry Today, Supplements II*, p14, 2005.
 21. 橋本亮太, 気分安定薬の作用機序の新しい知見、*精神科治療学*, 20(11), 1091-1098, 2005
2. 学会発表
 - 1) Chiba S, Hashimoto R, Hattori S, Yohda M, Kunugi H. Effect of antipsychotic drugs on DISC1 and dysbindin expression in mouse hippocampus and frontal cortex. Society for neuroscience annual meeting, Washington DC, USA, November 12-16(16), 2005.
 - 2) Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Kunugi H, Koyama T. Association study between Val66Met SNP of BDNF gene and lithium prophylaxis in Japanese patients with bipolar disorder. Society for neuroscience annual meeting, Washington DC, USA, November 12-16(14), 2005.
 - 3) 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. 2005 World Congress of Psychiatric Genetics, Boston, USA, October 14-18(16), 2005.
 - 4) Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M,

- Kosuga A, Kamijima K, Kunugi H. The Gem interacting protein (GMIP) gene is associated with major depressive disorder. 2005 World Congress of Psychiatric Genetics, Boston, USA, October 14-18(17), 2005
- 5) Hashimoto R, Okada T, Shizuno T, Okada K, Kato T, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H. The Breakpoint Cluster Region (BCR) Gene on Chromosome 22q11 is Associated with Bipolar Disorder. 20th meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, Korea, September 29-30(30), 2005.
 - 6) Ohnishi T, Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Ohmori M, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Harada S, Arima K, Saito O, Kunugi H. The Association between the Val158Met Polymorphism of the Catechol-O-Methyl Transferase Gene and Morphological Abnormalities of the Brain in Chronic Schizophrenia. 20th meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, Korea, September 29-30(30), 2005.
 - 7) Nemoto K, Ohnishi T, Hashimoto R, Mori T, Moriguchi Y, Shizuno T, Okada K, Asada T, Kunugi H. The Val66Met Polymorphism of the BDNF Gene Affects Brain Morphology and Aging. 20th meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, Korea, September 29-30(30), 2005.
 - 8) Mori T, Ohnishi T, Nemoto K, Hashimoto R, Saitoh O, Matsuda H, Kunugi H. Age-Dependent White Matter Integrity Disruption in Schizophrenia Revealed by Diffusion Tensor Imaging. 20th meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, Korea, September 29-30(30), 2005.
 - 9) 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. International Congress of Schizophrenia Research, Savannah, GA, USA, April 3-6(6), 2005.
 - 10) Kunugi H, Hashimoto R, Tanaka M, Hori H, Nakabayashi T, Saitoh O, Hironaka N. Deficits in prepulse inhibition of acoustic startle are associated with positive symptoms in Japanese patients with schizophrenia. International Congress of Schizophrenia Research, Savannah, GA, USA, April 3-6(6), 2005.
 - 11) 橋本亮太, 統合失調症脆弱性遺伝子ディスプレインジンによる統合失調症の分子病態研究、広島大学医学部精神科セミナー、広島、1.31, 2006.
 - 12) 橋本亮太, 統合失調症脆弱性遺伝子ディスプレインジンによる統合失調症の分子病態研究、東京都精神医学総合研究所気分障害チーム研究室セミナー、東京、1.23, 2006.
 - 13) 橋本亮太, 統合失調症脆弱性遺伝子ディスプレインジンによる統合失調症の分子病態研究、統合脳5領域「平成17年度 冬の合同班会議」、東京、12.21-23(22), 2005
 - 14) 尾崎紀夫、橋本亮太、オーガナイザー シンポジウム<遺伝子解析のための intermediate phenotype>、第13回日本精神・行動遺伝医学会、福岡、10.1, 2005.
 - 15) 根本清貴, 大西隆, 橋本亮太, 森健之, 守口善也, 朝田隆, 功刀浩、BDNF Val66Met SNP が脳構造および加齢性変化に及ぼす影響、第13回日本精神・行動遺伝医学会、福岡、10.1, 2005.
 - 16) 橋本亮太, Dysbindin and pathogenesis of schizophrenia、第48回日本神経化学合同年会、福岡、9.28-30(29), 2005.
 - 17) 橋本亮太、統合失調症の脆弱性遺伝子による分子病態研究、徳島大学医学部精神科臨床検討会、徳島、9.14, 2005.
 - 18) 橋本亮太、功刀浩、一塩基多型と認知、脳構造、精神疾患との関連、第28回日本神経科学学会年会、横浜、7.26-28(28), 2005.
 - 19) Hattori S, Hashimoto R, Numakawa T, Yagasaki Y, Kumamaru E, Kunugi H. Effects of social crowding stress on adult

- hippocampal neurogenesis and emotional behaviors in mice、第 28 回日本神経科学学会年会、横浜、7.26-28(27), 2005.
- 20) Sachie Chiba, Ryota Hashimoto, Satoko Hattori, Masafumi Yohda, and Hiroshi Kunugi, Effect of antipsychotic drugs on DISC1 and dysbindin expression in mouse hippocampus and frontal cortex、第 28 回日本神経科学学会年会、横浜、7.26-28(27), 2005.
- 21) 功刀浩、橋本亮太、田中美穂、岡本洋平、堀弘明、中林哲夫、斎藤治、廣中直行、Deficits in prepulse inhibition of acoustic startle are associated with positive symptoms in schizophrenia、第 28 回日本神経科学学会年会、横浜、7.26-28(28), 2005.
- 22) 橋本亮太、功刀浩、統合失調症関連候補遺伝子とその機能、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(7), 2005.
- 23) Ryota Hashimoto, Takeya Okada, Tomoko Shizuno, Keiko Okada, Tadafumi Kato, Asako Kosuga, Masahiko Tatsumi, Kunitoshi Kamijima, Hiroshi Kunugi, The breakpoint cluster region (BCR) gene on chromosome 22q11 is associated with bipolar disorder、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(6), 2005.
- 24) 橋本亮太、野口広子、志津野朋子、岡田景子、中林哲夫、堀弘明、大西隆、根本清貴、森健之、馬場敦、工藤耕太郎、大森まゆ、高橋晶、津久江亮太郎、穴見公隆、平林直次、原田誠一、有馬邦正、斎藤治、功刀浩、COMT (カテコールアミンメチルトランスフェラーゼ) Val/Met 多型と認知機能・性格傾向との関連、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(7), 2005.
- 25) 橋本亮太、志津野朋子、野口広子、岡田景子、大西隆、根本清貴、森健之、田谷真一郎、貝淵弘三、功刀浩、Rho GTPase-activating protein である Chimerin2 遺伝子の H204R ミスセンス多型は見当識と関連する、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(7), 2005.
- 26) 大西隆、橋本亮太、根本清貴、森健之、野口広子、志津野朋子、岡田景子、中林哲夫、堀弘明、馬場敦、工藤耕太郎、大森まゆ、高橋晶、津久江亮太郎、穴見公隆、平林直次、原田誠一、有馬邦正、斎藤治、功刀浩、COMT (カテコールアミンメチルトランスフェラーゼ) Val/Met 多型は統合失調症での脳形態異常に関与する、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(6), 2005.
- 27) Takuya Masui, Ryota Hashimoto, Ichiro Kusumi, Katsuji Suzuki, Teruaki Tanaka, Shin Nakagawa, Tatsuyo Suzuki, Nakao Iwata, Norio Ozaki, Tadafumi Kato, Hiroshi Kunugi, Tsukasa Koyama、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(6), 2005.
- 28) 千葉幸恵、橋本亮太、服部聡子、養王田正、功刀浩、マウス海馬と前頭葉における DISC1 および dysbindin 発現量に対する抗精神病薬の影響、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(6), 2005.
- 29) 服部聡子、橋本亮太、沼川忠広、矢ヶ崎有希、熊丸絵美、功刀浩、過密飼育ストレスによる海馬の神経新生と行動への影響、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(6), 2005.
- 30) 緑川、橋本亮太、野口広子、斎藤治、功刀浩、中村克樹、運動課題を用いた統合失調症患者の判別、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(8), 2005.
- 31) 野口広子、橋本亮太、中林哲夫、堀弘明、原田誠一、平林直次、穴見公隆、斎藤治、功刀浩、統合失調症における気質・性格と症状との関連、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会、大阪、7.6-8(8), 2005.
- 32) 野口広子、橋本亮太、中林哲夫、岩瀬真生、梶本修身、堀弘明、原田誠一、平林直次、穴見公隆、武田雅俊、斎藤治、功刀浩、統合失

- 調症における高次脳機能検査と症状の関連、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会，大阪，7.6-8(8)，2005.
- 33) 功刀浩、橋本亮太、田中美穂、岡本洋平、堀弘明、中林哲夫、斉藤治、廣中直行、統合失調症におけるプレパルス抑制テストは陽性症状と相関する、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会，大阪，7.6-8(6)，2005.
- 34) 功刀浩、橋本亮太、堀弘明、中林哲夫、馬場敦、工藤耕太郎、大森まゆ、高橋晶、津久江亮太郎、穴見公隆、平林直次、朝田隆、原田誠一、有馬邦正、斉藤治、Anaplastic lymphoma kinase (ALK) 遺伝子と統合失調症との関連、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会，大阪，7.6-8(6)，2005.
- 35) 根本清貴、大西隆、橋本亮太、森健之、守口善也、志津野朋子、岡田景子、朝田隆、功刀浩、BDNF 遺伝子の一塩基多型 Val66Met が脳構造および加齢に及ぼす影響、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会，大阪，7.6-8(6)，2005.
- 36) 森健之、大西隆、根本清貴、橋本亮太、野口広子、志津野朋子、岡田景子、中林哲夫、堀弘明、馬場敦、工藤耕太郎、大森まゆ、高橋晶、津久江亮太郎、穴見公隆、平林直次、原田誠一、有馬邦正、斉藤治、功刀浩、松田博史、統合失調症における進行性の白質変化～拡散テンソル画像による検討、第 35 回日本神経精神薬理学会・第 27 回日本生物学的精神医学会合同年会，大阪，7.6-8(7)，2005.
- 37) 橋本亮太、統合失調症研究の最前線-分子から治療へ、大阪大学大学院薬学研究科大学院講義，大阪，6.13，2005.
- 38) 橋本亮太、野口広子、志津野朋子、中林哲夫、堀弘明、馬場敦、工藤耕太郎、大森まゆ、高橋晶、津久江亮太郎、穴見公隆、平林直次、原田誠一、有馬邦正、斉藤治、功刀浩、統合失調症における COMT (カテコールアミンメチルトランスフェラーゼ) Val/Met 多型と前頭葉遂行機能 (WCST) の検討、第 101 回日本精神神経学会総会，大宮，5.16-18(17)，2005.
- 39) 橋本亮太、増井拓哉、久住一郎、鈴木克治、田中輝明、中川伸、鈴木竜世、岩田仲生、尾崎紀夫、加藤忠史、小山司、功刀浩、BDNF の Val66Met 多型とリチウムの治療反応性、第 101 回日本精神神経学会総会，大宮，5.16-18(17)，2005.
- 40) 根本清貴、橋本亮太、朝田隆、功刀浩、BDNF 遺伝子の一塩基多型が脳構造に及ぼす影響、第 101 回日本精神神経学会総会，大宮，5.16-18(17)，2005.
- 41) 増井拓哉、橋本亮太、久住一郎、鈴木克治、田中輝明、中川伸、功刀浩、小山司、双極性障害患者におけるリチウム治療反応性と XBP1 遺伝子多型との関連、第 101 回日本精神神経学会総会，大宮，5.16-18(17)，2005.
- 42) 橋本亮太、増井拓哉、久住一郎、鈴木克治、田中輝明、中川伸、鈴木竜世、岩田仲生、尾崎紀夫、加藤忠史、小山司、功刀浩、BDNF の Val66Met 多型とリチウムの治療反応性、リチウム研究会，東京，4.23，2005.
- G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得
該当なし。
 2. 実用新案登録
該当なし。
 3. その他
該当なし。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okada T, Hashimoto R, Numakawa T, Iijima Y, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kato T, Kunugi H.	A complex polymorphic region in the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene confers susceptibility to bipolar disorder and affects transcriptional activity.	Mol Psychiatry			In press
Chiba S, Hashimoto R, Hattori S, Yohda M, Lipska B, Weinberger DR, Kunugi H.	Effect of antipsychotic drugs on DISC1 and dysbindin expression in mouse frontal cortex and hippocampus.	J Neural Transm			In press
Kunugi H, Hashimoto R, Okada T, Hori H, Nakabayashi T, Baba A, Kudo K, Ohmori M, Takahashi S, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Asada T, Harada S, Arima K, Saitoh O.	Possible association between nonsynonymous polymorphisms of the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene and schizophrenia in a Japanese population.	J Neural Transm			In press
Nakahachi T, Iwase M, Takahashi H, Honaga E, Sekiyama R, Ukai S, Ishii R, Ishigami W, Kajimoto O, Yamashita K,	Discrepancy of performance among working memory related tasks in autism spectrum disorders was caused by task characteristics except working memory which could interfere with task execution.	Psychiatry Clin Neurosci			In press

Hashimoto R, Shimizu A, Takeda M.					
Hashimoto R, Hattori S, Chiba S, Yagasaki Y, Okada T, Kumamaru E, Mori T, Nemoto K, Tanii H, Hori H, Noguchi H, Numakawa T, Ohnishi T, Kunugi H.	Susceptibility genes for schizophrenia.	Psychiatry Clin Neurosci	60	S4-S 10	2006
Ohnishi T, Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Iida H, Yamada M, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Ohmori M, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Harada S, Arima K, Saitoh O, Kunugi H.	The association between the Val158Met polymorphism of the Catechol- <i>O</i> -methyl transferase gene and morphological abnormalities of the brain in chronic schizophrenia.	Brain	129	399-4 10	2006.
Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Kunugi H, Koyama T.	A possible association between -116C/G single nucleotide polymorphism of XBP1 gene and lithium prophylaxis in bipolar disorder.	Int J Neuropsychophar macol	9(1)	83-88	2006
Masui T, Hashimoto R,	Lithium response and Val66Met polymorphism of the BDNF gene	Psychiatr Genet	16	49-50	2006.

Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Kunugi H, Koyama T.	in Japanese patients with bipolar disorder.				
Kato T, Hashimoto R.	Microarrays Detect Altered Expression of Mitochondria-Related Genes in Brains of Patients with Bipolar Disorder.	AFFYMETRIX MICROARRAY BULLETIN	1(4)	31-34	2005
Nemoto K, Ohnishi T, Mori T, Moriguchi Y, Hashimoto R, Asada T, Kunugi H.	The Val66Met polymorphism of the BDNF gene affects age-related brain morphology.	Neurosci Lett	397	25-29	2006
Hirao K, Ohnishi T, Hirata Y, Yamashita F, Mori T, Moriguchi Y, Matsuda H, Nemoto K, Imabayashi E, Yamada M, Iwata N, T, Arima K,	The prediction of rapid conversion to Alzheimer's disease in mild cognitive impairment using regional cerebral blood flow SPECT	Neuroimage	28(4)	1014-21	2005
Hirata Y, Matsuda H, Nemoto K, Ohnishi T, Hirao K, Yamashita F, Asada T, Iwabuchi S, Samejima H.	Voxel-based morphometry to discriminate early Alzheimer's disease from controls.	Neurosci Lett.	382(3):	269-74	2005
Sakai Y, Kumano H, Nishikawa M, Sakano Y, Kaiya H, Imabayashi E,	Cerebral glucose metabolism associated with a fear network in panic disorder.	Neuroreport.	16(9)	927-31	2005

Ohnishi T, Matsuda H, Yasuda A, Sato A, Diksic M, Kuboki T					
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.	Biol Psychiatry	57(10)	1097-1102,	2005.
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
Tadokoro K, Hashimoto R, Tatsumi M, Kosuga A, Kamijima K, Kunugi H.	The Gem interacting protein (GMIP) gene is associated with major depressive disorder.	Neurogenetics	6(3)	127-133	2005
Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T,	Relationship between XBP1 genotype and personality traits assessed by TCI and NEO-FFI.	Neurosci Lett	391(1-2)	7-10	2005

Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T.					
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	349	1-14	2005
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,	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	77(6)	937-9 44	2005

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.					
橋本亮太、沼川忠広、矢ヶ崎有希、岡田武也、服部聡子、千葉幸恵、功刀浩	統合失調症：分子から治療まで、統合失調症の病態とディスバインジン	脳 21	8(1)	29-33	2005
橋本亮太、沼川忠広、矢ヶ崎有希、服部聡子、千葉幸恵、岡田武也、功刀浩	dysbindin(DTNBP1)	分子精神医学	5(4)	64-65	2005
橋本亮太	統合失調症脆弱性遺伝子 dysbindin の機能に関する新たな知見.	Congress Reports: Psychiatry Today, Supplements II		14	2005
橋本亮太	気分安定薬の作用機序の新しい知見	精神科治療学	20(11)	1091-1098	2005

Possible association between nonsynonymous polymorphisms of the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene and schizophrenia in a Japanese population

Short title: ALK and schizophrenia

Hiroshi Kunugi¹, Ryota Hashimoto¹, Takeya Okada¹, Hiroaki Hori¹, Tetsuo Nakabayashi², Atsushi Baba², Koutaro Kudo², Mayu Omori², Shou Takahashi², Ryotaro Tsukue², Kimitaka Anami², Naotsugu Hirabayashi², Asako Kosuga³, Masahiko Tatsumi^{3,4}, Kunitoshi Kamijima³, Takashi Asada^{2,5}, Seiichi Harada², Kunimasa Arima², and Osamu Saito²

¹ Department of Mental Disorder Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan,

² Department of Psychiatry, National Center of Neurology and Psychiatry Musashi Hospital, Tokyo, Japan,

³ Department of Psychiatry, Showa University School of Medicine, Tokyo, Japan.

⁴ Yokohama Shinryo Clinic, Yokohama, Kanagawa, Japan, and

⁵ Department of Psychiatry, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

Correspondence to: Hiroshi Kunugi, M.D., Ph.D.,

Department of Mental Disorder Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry,

4-1-1, Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo, 187-8502, Japan.

Tel: +81-423-46-1714; Fax: +81-423-46-1744

E-mail: hkunugi@ncnp.go.jp

Summary. We examined, for the first time, the possible association between schizophrenia and the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene which plays an important role in neurodevelopment. When two nonsynonymous polymorphisms (Arg1491Lys and Glu1529Asp) were examined, there were significant differences in genotype and allele distributions between patients and controls. Individuals homozygous for the minor allele (1491Lys-1529Asp) were more common in patients than in controls ($p=0.0064$, odds ratio 2.4, 95% CI 1.3-4.6). These results suggest that genetic variations of the ALK gene might confer susceptibility to schizophrenia.

Key words: schizophrenia, anaplastic lymphoma kinase (ALK), single nucleotide polymorphism (SNP), association, susceptibility

Introduction

Growing evidence has suggested that alterations of neurotrophic factors may be involved in the morphological, cytoarchitectural and neurobiochemical abnormalities in the brain of schizophrenic patients (Thome et al, 1998; Durany and Thome, 2004). Anaplastic lymphoma kinase (ALK) was originally identified as an oncogene activated in anaplastic large cell lymphomas with chromosomal translocation t(2;5) (Morris et al, 1994; Shiota et al, 1994). Subsequent cloning of the ALK gene revealed that it encodes a receptor-type protein tyrosine kinase (RTK) of the insulin receptor family (Iwahara et al, 1997; Morris et al, 1997). Neurotrophic factors exert their effects through binding to RTKs and play an important role in neurodevelopment such as differentiation, proliferation, survival, and synaptic formation. Indeed, ALK was found to be a receptor for heparin-binding growth factors, midkine (Stoica et al, 2002) and pleiotrophin (Stoica et al, 2001). Midkine and pleiotrophin show approximately 50% identity in amino acid sequence and share the same genomic organization. These proteins play an important role in early neurogenesis, neurite outgrowth, nerve cell migration, and neuroprotection (reviewed by Kadomatsu and Muramatsu, 2004). Of note, a recent study reported alterations in serum midkine levels in patients with schizophrenia (Shimizu et al, 2003).

ALK is expressed almost exclusively in perinatal neural cells. In the central nervous system, it is highly expressed in diencephalons, midbrain, and the ventral half of the spinal cord. After birth, its expression decreases; however, it persists to be expressed in some regions such as the thalamus, olfactory bulb, and midbrain (Iwahara et al, 1997). These brain regions have been implicated in the pathophysiology of schizophrenia (e.g., Moberg and Turetsky, 2003; Clinton and

Meador-Woodruff, 2004). The ALK gene is, therefore, a good candidate gene for association analysis with schizophrenia. To our knowledge, however, there is no study examining the possible association between the ALK gene and schizophrenia. The ALK gene maps to chromosome 2p23 (Morris et al, 1994). We searched for nonsynonymous single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the ALK gene in silico and found only 2 common SNPs which have been well validated: a nucleotide substitution (G>A: NCBI SNP ID rs1881420) resulting in an amino acid change of Arg1491Lys (amino acid numbering is according to NCBI protein data base accession NP_004295) and G>C (rs1881421) resulting in Glu1529Asp. Since these polymorphisms may alter functions of ALK protein, we performed an association study between these polymorphisms and schizophrenia.

Materials and methods

Subjects

Subjects were 300 patients with schizophrenia (154 males, mean age of 45.3 years [SD 14.3]) and 308 healthy controls (140 males, 39.8 years [SD 11.5]). All subjects were biologically unrelated Japanese and recruited from the same geographical area (Western part of Tokyo Metropolitan). Consensus diagnosis by at least two psychiatrists was made for each patient according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition (DSM-IV) criteria (American Psychiatric Association, 1994) on the basis of unstructured interviews and information from medical records. The controls were healthy volunteers recruited from hospital staffs and their associates. They were interviewed and those individuals who had current or past history of psychiatric treatment were not enrolled in the study.

The study was performed in compliance with the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki). After description of the study, written informed consent was obtained from every subject. The study protocol was approved by the ethics committees at the Showa University School of Medicine and the National Center of Neurology and Psychiatry, Japan.

Genotyping

Venous blood was drawn from the subjects and genomic DNA was extracted from whole blood according to the standard procedures. The index SNPs (rs1881420 and rs1881421) were genotyped using the TaqMan 5'-exonuclease allelic discrimination assay, as described previously (Hashimoto et al 2004; Hashimoto et

al 2005). Primers and probes for detection of the SNPs were as follows: 5'-TTCTCTCAGTCCAACCCCTCCTT-3' (forward primer), 5'-CTGGTGGGCTTGTTTCTGGAT-3' (reverse primer), 5'-VIC-TTGACACAAGGTCCAC-MGB-3' (probe 1), and 5'-FAM-TGCACAGGGTCCAC-MGB-3' (probe 2) for rs1881420; 5'-AGAGAAACCCACCAAAAAGAATAATCCT-3' (forward primer), 5'-GTTAGGTGGGACAGTACAGCTT-3' (reverse primer), 5'-VIC-CAGGTTACCCCTGTCGTGT-MGB-3' (probe 1), and 5'-FAM-CAGGTTACCCCTCTCGTGT-MGB-3' (probe 2) for rs1881421. Thermal cycling for polymerase chain reaction (PCR) were 1 cycle at 95°C for 10 minutes followed by 50 cycles of 92°C for 15 seconds and 60°C for 1 minute. Genotype data were read blind to the case-control status.

Statistical analysis

The presence of Hardy-Weinberg equilibrium was examined by using the χ^2 test for goodness of fit. Genotype and allele distributions were compared between patients and controls by using the χ^2 test for independence. All p-values reported are two-tailed.

Results

Nearly all the subjects except for three (99.5%) had the same genotype for the two SNPs of rs1881420 and rs1881421, i.e., genotypes of G/G, G/A, and A/A in the former corresponded to those of G/G, G/C, and C/C in the latter. Thus, we show results of statistical analyses for the SNP rs1881421 (Glu1529Asp) only. Genotype distributions and allele frequencies in patients and controls are shown in Table 1. The genotype distribution was not significantly deviated from Hardy-Weinberg equilibrium for patients and controls (patients: $\chi^2=0.1$, $df=1$, $p=0.81$; controls: $\chi^2=1.9$, $df=1$, $p=0.16$). There was a significant difference in the overall genotype distribution between patients and controls ($\chi^2=9.3$, $df=2$, $p=0.0095$). Individuals homozygous for the minor allele (1529Asp) was significantly more common in patients than in controls ($\chi^2=7.4$, $df=1$, $p=0.0064$, odds ratio 2.4, 95% CI 1.3-4.6). When allele frequencies were compared, the 1529Asp allele was significantly more frequent in patients than in controls ($\chi^2=7.7$, $df=1$, $p=0.0055$, odds ratio 1.4, 95% CI 1.1-1.8).

Discussion

We examined, for the first time, the possible association between schizophrenia and the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene which plays an important role in neurodevelopment such as early neurogenesis, neurite outgrowth, nerve cell migration, and neuroprotection. We found that the minor allele (1529Asp) of the Glu1529Asp polymorphism (rs1881421) and homozygosity for this allele were significantly more common in patients with schizophrenia than in controls. Since nearly all the subjects had the same genotype for the other SNP, Arg1491Lys (rs1881420), the risk alleles constitute a haplotype 1491Lys-1529Asp. Thus, our results suggest that the 1491Lys-1529Asp haplotype or its homozygosity may confer susceptibility to schizophrenia. However, we do not know whether these nonsynonymous polymorphisms do alter functions of the ALK protein to give susceptibility to schizophrenia. Accordingly, there remains a possibility that other polymorphisms, which are in linkage disequilibrium to these polymorphisms, are truly responsible for giving susceptibility.

The ALK gene encodes a 1620 amino acid protein containing a putative 26 amino acid signal peptide, an extracellular domain of 1004 amino acid after signal peptide cleavage, a transmembrane domain of 28 hydrophobic amino acids, a juxtamembrane segment of 64 amino acids, a catalytic domain (protein tyrosine kinase domain) of 254 amino acids, followed by the carboxyl-terminal tail of 244 amino acids (Morris et al, 1997). The Arg1491Lys and Glu1529Asp residues lie close to a NPTY motif (residue 1504-1507) in the carboxyl-terminal tail (Morris et al, 1997). Such motifs mediate the interaction of RTKs with signaling substrates such as the insulin receptor substrate-1 and Src homology and collagen proteins through the substrates's phosphotyrosine binding (PTB) domain (van der Geer and Pawson, 1995). It is possible that amino acid changes of Arg1491Lys and Glu1529Asp may alter protein structure and affect functions (e.g., binding to these substrates).

ALK is a receptor-type protein kinase (RTK) that is expressed preferentially in neurons of the central and peripheral nervous systems at late embryonic stages (Iwahara et al; Morris et al, 1997). Neurotrophic factors exert their effects through binding to RTKs, and ALK is a receptor for heparin-binding growth factors, midkine and pleiotrophin (Stoica et al, 2001; Stoica et al, 2002). Thus it is likely that ALK play an important role in neurodevelopment such as differentiation, proliferation,