

200500810A

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

双生児法による精神疾患の病態解明

(課題番号 H17-こころ-009)

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 加藤忠史

(独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ)

平成¹⁸17年3月

目次

I. 総括研究報告書

「双生児法による精神疾患の病態解明に関する研究」

独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ 加藤忠史

II. 分担研究報告書

1. 「不一致双生児間のエピジェネティック差異の検出」

独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ 加藤忠史

2. 「地域で一定期間に出生した双生児に関するコホート研究」

石川県立看護大学 健康科学講座 大木秀一

3. 「地域双生児登録を用いた気分障害の発症要因の検討」

慶應義塾大学 保健管理センター 大野 裕

4. 「精神疾患不一致一卵性双生児登録の創設とゲノム解析」

三重大学 医学部精神医学教室 岡崎祐士

5. 「不一致双生児・同胞対における SNP 及び細胞機能差異の探索」

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 小澤寛樹

6. 「双生児の脳画像解析による病態解明に関する研究」

東京大学医学部附属病院 精神神経科 笠井清登

7. 「脳構造画像を用いたヒト脳の個体発達評価に関する研究」

国立精神・神経センター 武蔵病院 斎藤 治

8. 「精神疾患における内因性レトロウイルスの関与についての検討」

琉球大学大学院医学研究科・生命統御 医科学分野 陣野吉広

III. 研究成果の刊行一覧表

IV. 資料

双生児法による精神疾患の病態解明に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 加藤忠史
独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ グループディレクター

平成18(2005)年3月

研究要旨：

双生児に関する医学研究には、双生児による研究、双生児の研究、双生児のための研究などがある。このうち、双生児による研究は、一卵性双生児と二卵性双生児を比較し、一卵性双生児で二卵性より疾患の一致率が高い場合に遺伝因子の関与が証明される、という方法による人類遺伝学研究が主なものであった。一方、こうした古典的な双生児研究に対し、我々は、疾患に関して不一致な一卵性双生児に着目することにより、直接疾患の原因を同定する研究を提案している。

精神疾患では、一卵性双生児における一致率が二卵性双生児よりも高いことが知られているが、一卵性双生児と言えども、一致率は100%ではない。その理由として、環境の影響、ないしゲノムに差異がある可能性が考えられる。

そこで本研究は、1)一卵性双生児のデータベースを構築し、こうした研究の対象となる被験者が発見できるようなシステムを構築すること、2)不一致一卵性双生児を対象として、DNA塩基配列、DNAメチル化、遺伝子発現、内因性レトロウイルスなど、一卵性双生児間で不一致の可能性のある要因について検討すること、3)精神疾患に関して不一致な一卵性双生児を対象として、脳画像により、疾患に関連して構造や機能が不一致となっている脳部位を明らかにすること、を目的とした。

その結果、1)石川県において、対象者にとってもメリットがあるような形での新しい双生児登録のシステムを構築した。また、精神疾患不一致双生児データベース作成に着手した。さらに、双生児データベースを用いて、うつ症状の遺伝的要因は、性格形成を介して影響することを明らかにした。2)一卵性双生児間で、DNA塩基配列、DNAメチル化、遺伝子発現の差異を検討し、双生児間でこれらに関して不一致な遺伝子群を見出した。また、今後双生児間での差異を検討する対象となる内因性レトロウイルスを、データベースサーチおよび実験により確認した。3)精神疾患に関して不一致な同胞、双生児を対象として、自閉症、うつ病の不一致に関与する脳部位を見出した。また、一卵性双生児間では、側脳室後角の形態に差異があることを見出した。

これらの結果は、精神疾患に関して不一致な一卵性双生児間で、種々のゲノム差異や脳形態の差異が見られる可能性を示している。これらの情報を元に、更に研究を進めることで、精神疾患の病態解明を進めていくことができると考えられる。また、精神疾患不一致双生児のデータベースが構築できれば、種々の精神疾患への応用が可能となる。更に、健常双生児のデータベースを活用することにより、医療の対象とならないために不一致双生児データベースの対象とならなような心の問題についても、同様の方法論でアプローチすることが可能になると考えられる。

分担研究者

加藤忠史	独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ
大木秀一	石川県立看護大学 看護学部
大野 裕	慶應義塾大学 保健管理センター
岡崎祐士	三重大学 医学部
小澤寛樹	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析制御学講座精神病態制御学
笠井清登	東京大学医学部附属病院精神神経科
斎藤 治	国立精神神経センター武蔵病院
陣野吉廣	琉球大学大学院 医学研究科

A 研究目的

双生児に関する医学研究には、双生児による研究、双生児の研究、双生児のための研究などがある。このうち、双生児による研究としては、一卵性双生児と二卵性双生児を比較し、一卵性双生児で二卵性より疾患の一致率が高い場合に、遺伝因子の関与が証明される、という方法による人類遺伝学研究が主なものである。

一方、こうした古典的な双生児研究に対し、我々は、疾患に関して不一致な一卵性双生児に着目することにより、直接疾患の原因を同定する研究を提案している。精神疾患では、一卵性双生児における一致率が二卵性双生児よりも高いことが知られているが、一卵性双生児と言えども、一致率は100%ではない。その理由として、環境の影響、ないしゲノムに差異がある可能性が考えられる。

そこで本研究は、精神疾患不一致一卵性双生児のデータベースおよび健常一卵性双生児のデータベースを構築し、こうした研究の対象となる被験者が発見できるようなシステムを構築すると共に、不一致一卵性双生児を対象として、種々のゲノム要因の差異について検討し、また精神疾患に関して不一致な一卵性双生児ないし同胞、あるいは健常双生児を対象として、脳形態および脳機能画像により、疾患に関連して構造や機能が不一致となっている脳部位を明らかにすることを目的とした。

B.研究方法

本研究では、1)一卵性双生児のデータベースを構築し、こうした研究の対象となる被験者が発見できるようなシステムを構築すること、2)不一致一卵性双生児を対象として、DNA 塩基配列、DNA メチル化、遺伝子発現、内因性レトロウイルスなど、一卵性双生児間で不一致の可能性のある要因について検討すること、3)精神疾患に関して不一致な一卵性双生児ないし同胞を対象として、脳画像により、疾患に関連して構造や機能が不

致となっている脳部位を明らかにすること、を目的として、研究を進めた。

(倫理面への配慮)

これらの研究は、それぞれ所属施設の倫理委員会の承認を得た上、参加者のインフォームドコンセントを得て行った。

C.研究結果

1) 石川県において、対象者にとってもメリットがあるような形での新しい双生児登録システムの構築を開始した。

また、精神疾患に関して不一致な双生児のデータベース作成に着手した。

さらに、双生児データベースを用いて、うつ症状に関与する遺伝因子は、性格因を介して作用することを示した。

2) 一卵性双生児間で、DNA 塩基配列、DNA メチル化、遺伝子発現の差異を検討し、双生児間でこれらに関して不一致な遺伝子群を見出した。

また、今後双生児間での差異を検討する対象となる内因性レトロウイルスを、データベースサーチおよび実験により確認した。

3) 精神疾患に関して不一致な同胞、双生児を対象として、自閉症、うつ病の不一致に関与する脳部位を見出した。

また、一卵性双生児間では、側脳室後角の形態に差異があることを見出した。

D.考察

本研究では、精神疾患に関して不一致な一卵性双生児間で、種々のゲノム差異や脳形態の差異が見られることが示された。また、精神疾患不一致双生児のデータベース、および地域における健常双生児のデータベースの構築を開始した。また、既にデータベース構築が終了している慶應双生

児研究プロジェクトにおいて、うつ症状の脆弱性に関わる遺伝要因を明らかにした。

これらの結果は、精神疾患に関して不一致な一卵性双生児間で、種々のゲノム差異や脳形態の差異が見られることを示している。これらの情報を元に、更に研究を進めることで、精神疾患の病態解明を進めていくことができると考えられる。また、精神疾患不一致双生児のデータベースが構築できたら、新たな疾患への応用が可能となる。更に、健常双生児のデータベースを活用することにより、医療の対象とならないために不一致双生児データベースの対象とならなような心の問題についても、同様の方法論でアプローチすることが可能になると考えられる。

E. 結論

本研究により、疾患に関して不一致な一卵性双生児を出発点とした精神疾患の病態研究の可能性が示された。

今後更に研究を進めることで、精神疾患の病態理解が進むと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

大木秀一：臨床遺伝子学 '05 - 多因子遺伝病研究の手法 - 双生児研究法, 最新医学, 60 巻 9 月増刊号 (通巻 750 号), 1986-1992, 2005

Yamagata S, Takahashi Y, Kijima N, Maekawa H, Ono Y, Ando J. Genetic and environmental etiology of effortful control. *Twin Res. Hum. Genet.* 2005 Aug;8(4):300-6.

Oyama H, Ono Y, Watanabe N, Tanaka E, Kudoh S, Sakashita T, Sakamoto S, Neichi K, Satoh K, Nakamura K, Yoshimura K. Local community intervention through depression screening and group activity for elderly suicide prevention. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2006 Feb;60(1):110-4.

Fujisawa D, Tanaka E, Sakamoto S, Neichi K, Nakagawa A, Ono Y. The development of a brief screening instrument for depression and suicidal ideation for elderly: the Depression and Suicide Screen. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 Dec;59(6):634-8.

Kawakami N, Takeshima T, Ono Y, Uda H, Hata Y, Nakane Y, Nakane H, Iwata N, Furukawa TA, Kikkawa T. Twelve-month prevalence, severity, and treatment of common mental disorders in communities in Japan: preliminary finding from the World Mental Health Japan Survey 2002-2003. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 Aug;59(4):441-52.

Oyama H, Watanabe N, Ono Y, Sakashita T, Takenoshita Y, Taguchi M, Takizawa T, Miura R, Kumagai K. Community-based suicide prevention through group activity for the elderly successfully reduced the high suicide rate for females. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 Jun;59(3):337-44.

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 Dec;77(6):937-44. Epub 2005 Oct 12.

Zhang X, Tochigi M, Ohashi J, Maeda K, Kato T, Okazaki Y, Kato N, Tokunaga K, Sawa A, Sasaki T. Association study of the DISC1/TRAX locus with schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res.* 2005 Nov 15;79(2-3):175-80.

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
Jul;10(7):622-30.

Yamasue H, et al: Neuroanatomy in monozygotic twins with Asperger's disorder discordant for comorbid depression. Neurology 65: 491-492, 2005.

Hong-mei Shen, Akifumi Nakamura, Jun Sugimoto, Noboru Sakumoto, Takaya Oda, Yoshihiro Jinno, Yuji Okazaki (2006) Tissue specificity in methylation and expression of human genes coding for neuropeptides and their receptors, and of a human endogenous retrovirus K family. J. Hum Genet (in print)

2. 学会発表

志村恵、大木秀一、橘 薫、石原雅子、玄田朋恵、河原広子、山岸和美：「いしかわ多胎ネット」の設立とその課題、第20回日本双生児研究学会学術講演会、2006

大木秀一：石川県における多胎家庭育児支援の現状、第19回日本双生児研究学会学術講演会、2005

笠井清登：PTSDとストレス脆弱性の神経画像解析。千里ライフサイエンスセミナー、大阪、2005年10月14日。

小田高也、杉本 潤、陣野吉廣、岡崎祐士：脳での発現能を有するヒト内在性レトロウイルス関連遺伝子の探索。第13回日本精神・行動遺伝医学学会（2005年、福岡）

申紅梅、中村明文、佐久本昇、杉本潤、小田高也、陣野吉廣、岡崎祐士：精神疾患/機能関連遺伝子のメチル化および発現解析。第13回日本精神・行動遺伝医学学会（2005年、福岡）

H 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

不一致双生児間のエピジェネティック差異の検出

分担研究者 加藤忠史

独立行政法人理化学研究所 老化・精神疾患研究グループ グループディレクター

研究要旨：

1 人のみが躁うつ病に罹患した一卵性双生児不一致ペアにおいて、培養リンパ芽球における DNA メチル化差異を、メチル化感受性 Representational Differential Analysis (MS-RDA) 法により探索した。得られたクローンの多くがリピート配列等であったが、CpG アイランド付近、ないしエクソン近傍に存在し、意味のある違いと考えられた 17 クローンが得られたため、これらの解析を行った。Bisulfite Sequencing の結果、4 つの遺伝子に関して、メチル化差異が確認された。これら 4 つの遺伝子について遺伝子発現量を定量したところ、1 つの遺伝子について、発現量差異が確認された。この遺伝子はほとんど特徴づけられていないが、バイオインフォーマティクス解析から、小胞体上の蛋白質をコードしていると考えられた。

A. 研究目的

双極性障害および統合失調症では、一卵性双生児における一致率が高いことから遺伝要因の関与が示唆されている。しかし、こうした事実に基づいた分子遺伝学研究的の進歩にもかかわらず、病因遺伝子は同定されていない。

双極性障害における一卵性双生児の一致率は、高率とはいえ、100%ではない。視点を変えると、同じゲノムを持ちながら、1 人のみが双極性障害を発症している場合、何らかの非遺伝的要因が不一致を引き起こしているとも考えられる。

これまで、不一致の原因は双生児間の環境因によるものと漠然と考えられてきた。しかし、昨今のエピジェネティクス研究の進歩に伴い、環境因がゲノム DNA のメチル化修飾に影響を与え、遺伝子発現を長期的に変化させる現象が明らかになった。

従って、一卵性双生児不一致例において、1 人のみが発症した原因も、それが例え何らかの環境因によるものであったとしても、DNA メチル化という形で、エピジェネティックな変化を伴っている可能性が考えられる。

本研究では、一卵性双生児精神疾患不

一致例において遺伝子発現差異が見られるという事実に基づき、不一致間でメチル化修飾の差異を探索した。

B. 研究方法

対象は、研究内容につき書面にて説明の上同意が得られた一卵性双生児双極性障害不一致例である。被験者の末梢血よりリンパ球を分取し、EB ウイルスによりトランスフォームした。これらのサンプルより、DNA を抽出した。

双生児間におけるメチル化差異の検索には、牛島らの開発したメチル化感受性 Representational Differential Analysis (MS-RDA) 法を用いた。

ゲノム DNA をメチル化感受性制限酵素 (Hpa II) で切断したサンプルと切断しないサンプルを用いて、競合的 DNA Hybridization によるサブトラクションを 2 回行った後、PCR 法により 2 ゲノム間のメチル化差異を検索した。

mRNA レベルの定量は、TaqMan 法により、ABI HT9700 を用いて行った。

(倫理面への配慮)

本研究の実施に際しては、理化学研究所倫理委員会の承認を得た。被験者には書面

で説明の上、インフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

双生児間で DNA メチル化に差異があるゲノム領域 MS-RDA 法により探索したところ、92 のクローンが得られた。そのうち、65 クローンは、ミトコンドリア DNA、EB ウイルスなど、コピー数の多い DNA であり、除外した。

残りの 27 クローンのうち、10 クローンは SINE などのリピート配列由来であり、これらも除外した。

残りの 17 クローンは、CpG アイランド付近、ないしエクソン近傍に存在し、意味のある違いと考えられたため、これらの解析を行った。

Bisulfite Sequencing の結果、4 つの遺伝子に関して、メチル化差異が確認された。

これら 4 つの遺伝子について、TaqMan プローブを作成し、遺伝子発現量を定量したところ、うち一つの遺伝子について、発現量差異が確認された。この遺伝子はほとんど特徴づけられていないが、バイオインフォーマティクス解析から、小胞体上の蛋白質をコードしていると考えられた。

D. 考察

本研究の結果により、一卵性双生児間における DNA メチル化差異が疾患の不一致を起こす可能性が指摘された。

これまで、既知の原因遺伝子の DNA メチル化差異を調べ、同定されたとの報告はあるが、DNA メチル化差異を元に疾患の原因を同定した例はないことから、これが本当に原因に関与しているのかについては、慎重な検討が必要と考えている。

今後、この遺伝子の DNA メチル化差異が双極性障害の病態において果たす役割について、症例対照研究により検討を進める予定である。

E. 結論

本研究の結果から、双生児間の不一致の原因として DNA メチル化差異が関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kusumi I, Masui T, Kakiuchi C, Suzuki K, Akimoto T, Hashimoto R, Kunugi H, Kato T, Koyama T (2005) Relationship between XBP1 genotype and personality traits assessed by TCI and NEO-FFI. *Neuroscience Letters* 391:7-10

Kato C, Kakiuchi C, Umekage T, Tochigi M, Kato N, Kato T, Sasaki T (2005) Brief research communication XBP1 gene polymorphism (-116C/G) and personality. *American Journal of Medical Genetics, Part B* 136B:103-105

Kakiuchi C, Kato T (2005) Lithium response and -116C/G polymorphism of *XBP1* in Japanese patients with bipolar disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 8:631-632

Kato T, Iwamoto K, Kakiuchi C, Kuratomi G, Okazaki Y (2005) Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Molecular Psychiatry* 10(7):622-630.

Kato T, Kuratomi G, Kato N (2005) Genetics of bipolar disorder. *Drugs of Today* 41:5:335-344

加藤忠史、岩本和也 (2006) エピジェネティクス. *分子精神医学*. 6:1:72-74

加藤忠史、垣内千尋、林朗子、笠原和起 (2005) 躁うつ病 (双極性障害) における小胞体ストレスの意義. *実験医学*. 23:18:2795-2798

岩本和也、加藤忠史 (2005) 精神疾患とエピジェネティクス *医学のあゆみ* 215:2:137-140

岩本和也、加藤忠史 (2005) 精神疾患とエピジェネティクス—統合失調症と双極性障害における DNA メチル化研究に関する最近の話題 *脳と精神の医学* 16:2:81-86

2. 学会発表

倉富剛、岩本和也、垣内千尋、文東美紀、石渡みずほ、久住一郎、加藤進昌、加藤進昌 (2005) 一卵性双生児双極性障害不一致例における DNA メチル化差異の検索 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 日

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
3. その他

地域で一定期間に出生した双生児に関するコホート研究

分担研究者 大木秀一

石川県立看護大学健康科学講座

研究要旨：

身体的、精神的、経済的に負担が大きい小児期双生児を養育する家庭を調査対象にした場合、「遺伝学的研究に対する一方的な協力依頼」だけでは協力に対するインセンティブが高まりにくいことは想像に難くない。この点を考慮し、これまでにない新たな方法で疫学的に代表性の高い双生児レジストリーの構築を開始した。まず、県全体を対象に多胎児出産と多胎児家庭の現状の把握を行ったうえで、多胎児家庭支援ネットワークの構築を目指した。さらに、調査・研究の推進にあたっては参加者のニーズにこたえる成果の還元をも念頭に入れるべく、レジストリーの構築を企画した。この場合に、多胎育児サークル、行政機関、医療機関などと相互に連携を取ることで、より包括的な双生児レジストリーが構築しうると考えられる。

具体的な方法としては、1. 県内多胎関連情報データベースの構築、2. 人的ネットワークの構築、3. 多胎児家庭支援講演会の定期的な開催、4. これまでの研究成果の積極的な還元、5. 双生児レジストリーの母体となるネットワークの構築を試みた。

以上の多面的なアプローチとステップを経て、「いしかわ多胎ネット」が構築された。その活動内容には、「研修会や講演会の開催」、「施策などの検討」、「情報および意見の交換」に加えて「調査や研究」を盛り込んでいる。今後、母子保健福祉の向上を念頭に入れた上で、遺伝疫学的な双生児研究のためのデータベースを順次整備することになる。

A. 研究目的

双生児研究はマクロな統計遺伝学・遺伝疫学研究だけでなく、ミクロなゲノム疫学・分子遺伝学研究に高い妥当性を持って応用可能であり、多因子性疾患の病因解明に重要な役割を果たす。精神疾患だけでなく正常範囲での精神発達や行動上の特徴ひいては問題行動などの多くが多因子性形質に分類される。

さらに、近年の生殖補助医療の普及による多胎児出産の急増は先進国に共通した出来事であり、わが国でも既に全出産の 1%以上が多胎出産となっており、現在も増加傾向にある。その結果、種々の医学的・社会的・倫理的・法的問題を招き、多胎児家庭への支援を初めとする母子保健福祉の向上は、公衆衛生学的にもニーズが高く、地域における厚生労働行政上の課題となっている。以下では、便宜的に多胎児全体を含めて双生児と呼ぶ場合がある。

双生児の研究には便宜的に 3 つの側面がある（図 1）。双生児「による」研究、双生児「の」研究、双生児「のための」研究である。双生児「による」研究は古くから人類遺伝学で利用されてきた、いわゆる双生児研究法（一卵性と二

卵性の類似度の比較による遺伝率の推定など）である。最大の特徴は、双生児ペアの遺伝的類似度を主として問題にしている点であり、研究対象は双生児に限定しなくても遺伝的類似度が判明しているペア（親子、同胞、配偶者間など）であればかまわない。双生児を対象とすると種々の利点があるためにこれまで汎用されている。双生児「の」研究は双生児そのものの生物学的な研究（発生機序、リスク管理、出産率など）であり、人類遺伝学あるいは産科学の領域で行われてきた。当然、双生児（あるいは多胎児）以外は対象になり得ない。双生児「のための」研究は、協力者である双生児（多胎児）ないし双生児家庭に直接役立つ成果を還元できる研究である。

本来これら 3 種類の研究は同一平面上で互いに有機的に連動してしかるべきものであるはずだが、歴史的には双生児「による」研究、双生児「の」研究が圧倒的に古く、双生児「のための」研究の重要性が強く認識されてきたのは最近のことである。また、双生児「による」研究が人類遺伝学の領域であり、双生児「のための」研究が公衆衛生学的課題（母子保健）であるため、これまでに両者の接近はあまり見られなかった。しかし、双生

児当事者、特に身体的、精神的、経済的に負担が大きな小児期双生児を養育する家庭にとっては、「遺伝学的研究に対する一方的な協力依頼」だけではインセンティブが高まりにくいことは想像に難くない。

世界には50-60のpopulation-basedな双生児コホートが存在し、主として人類遺伝学・母子保健学の調査研究目的で活用されている。遺伝学分野における近年の双生児研究は、population-basedな代表性の高い双生児コホートを確立して統計的に検出力の高い結果を見出すこと、同時に可能な限りDNAデータを獲得することが主流となっている。わが国は、先進国の中でもpopulation-basedな双生児レジストリーを有さない例外的な国である。

わが国において、代表性の高い双生児レジストリーを構築する場合に、国情の異なる海外と同様な方法が必ずしも有効とは言えない。特に、一方的な「登録」と言う方法では参加率は非常に低いことが予想される。したがって、参加者に利益を還元できるという視点が重要である。

一般的に双生児レジストリーの構築には年齢層により異なる方法を用いる。わが国では出生登録を直接利用することが困難であるため、養育者と同居している小児の場合は、住民基本台帳、多胎育児サークルなどから情報を入手することになる。前者により代表性の高いサンプリングが可能であるが現状では、1. 倫理的問題、2. 双生児の同定可能性、3. 閲覧費用などの問題があるために悉皆的な把握は制限されてくる。

そこで今回の研究では、県全体を対象にまず多胎児家庭の支援ネットワークを構築し、多胎児家庭の悉皆的な把握を試みた上で調査・研究への参加依頼を推進する戦略を試みることにした。この場合に、多胎サークル、行政機関、医療機関などと相互に連携を取ることで、より包括的な双生児レジストリーが構築しうると考えられる。

今回の研究目的は、石川県において代表性が高く継続性のある小児期双生児レジストリーを構築する基盤を整備することである。特に、多胎児家庭支援・母子保健福祉の向上を目的の一つとして、遺伝疫学的な双生児レジストリーを作る試みはこれまでに存在しない。また、全県レベルでのツインレジストリーの構築も未だ存在しない。したがって、今回模索する方法論は今後新たな双生児レジストリーを構築する際にも参考になる。

次年度以降の目的は、データベースの整備・拡大と同時に、構築したデータベースをもとに小児の精神発達における遺伝要因と環境要因および両

者の交互作用のメカニズムの理解を深める調査研究の実施である。特に近年注目されているADHD、LDなど正常例と疾患例の境界が不鮮明であり、有病率が比較的高いと推定される多因子性形質をターゲットにした縦断的、横断的発育調査を実施する。

B. 研究方法

以上の背景を踏まえ、まず県内全域を射程圏内に入れた多方面からの調査研究事業・支援活動を展開してきた。具体的な戦略として以下の4点を実施してきた。

1. 県内多胎関連情報データベースの構築

県内全域を範囲として、多胎に関わるあらゆるマクロな情報を網羅的に収集・蓄積していく。

(1) 人口動態統計出生票に基づく石川県における多胎出産動向の把握

これにより育児支援・レジストリーの対象となる母数の概要を把握する。県別の集計に関しては、同一スタイルで厚生労働省から公表されてきた1995年以降のデータを採用した。多胎に関する出産率の定義は存在しないため、今泉・野中(多胎妊娠の疫学—本邦における卵性別ふたごと多胎出産率の年次推移と地域格差—、厚生省心身障害研究「不妊治療の在り方に関する研究」平成8年度研究報告書、70-92, 1997)と比較可能性を保つため「多胎分娩率=多胎の種類別分娩件数(出生と死産を含む)/単胎と多胎の全出産数(出生数と死産数の合計)」で算出した。

(2) 多胎児家庭支援に関する行政機関・医療機関の動向把握

既に前年度に実施済みである調査結果の再集計と情報更新を実施した。調査対象数は、行政機関が金沢市を除く石川県内全市町村(38ヶ所)、保健福祉センター(4ヶ所)・地域センター(4ヶ所)および金沢市福祉保健センター(3ヶ所)の合計49ヶ所である。現在、町村合併により町村の数が大幅に減少しているが、保健所管轄区域の変更はない。医療機関としては、県の医療機関台帳等を参考に確定した産科病院(29ヶ所)、産科診療所(57ヶ所)、NICU(19ヶ所)、小児科病院(45ヶ所)、小児科診療所(227ヶ所)の合計377ヶ所である。以上合計426ヶ所に対して初回発送は平成16年6月に実施し、小児科診療所以外の未回収分に対しては同年7月に再依頼を実施した。医療機関で廃院等の理由が明らかになった9ヶ所を対象から除外し、有効対象数は417ヶ所となった。その地理的分布を図2に示した。

(3) 県内全ての多胎児家庭育児支援サークルと

その活動状況の把握

(2) とも連動させ、県の母子保健情報や多胎児家庭当事者からの情報などを元に網羅的に収集した。

(4) その他の関連情報の収集

他県における多胎児家庭支援情報などを収集した。

2. 人的ネットワークの構築

関係者（多胎児家庭、保健師、医療職等）との情報提供、情報交換、問題意識の共有をはかるために定期的に勉強会を開催し保健師、看護系学校教員、臨床系看護師、助産師、多胎児家庭などの間に新しいネットワークを形成する。また、県内全域に郵送、広報、マスメディアなどを通じて積極的に情報発信を行う。

3. 多胎児家庭支援講演会の定期的な開催

年に2～3回実施する。その際、大都市部での開催に偏り過ぎないように配慮する。情報不足や移動手段の困難の地域に対しては、対象家庭が少なく参加者を多く見込めない場合でも、積極的な開催を実施する。また、講演会においては講師の専門的な立場からの話だけではなく、必ず意見交換・情報交換・交流の場さらには託児を設けるなど当事者の立場を重視し今後の協力依頼へとつなげていく。

4. これまでの研究成果の積極的な還元

研究成果は、専門的な学術発表をするだけでなく、多胎児家庭、関係機関に配布できるようにわかりやすくまとめなおし、リーフレットとして配布する。学術的に裏づけされたエビデンスを提供することで多胎児家庭や医療・行政関係者の調査・研究に対する参加・協力に対するインセンティブを高める。

5. 双生児レジストリーの構築を円滑化するネットワークの構築

諸機関と連携をとりながら双生児レジストリーの構築を目指す。その際、一方的な情報提供を求めるのではなく、当事者参加型の研究・研究結果の効果的な還元を目指す。具体的には、育児支援に寄与する研究成果、ネットワークの提供を研究成果の一環に含めることである。

以上の戦略により、これまでにない高い疫学的代表性を有する population-based な双生児レジストリーを構築し、また高い調査研究参加率を有する双生児研究、当事者参加型の研究を目指すことを目的とする。

(倫理面への配慮)

今年度は具体的に個人を対象にした研究は実施していないのでその点での倫理的問題は生じない。

行政機関・医療機関・関係諸団体から入手する資料に関しては、事前に先方と情報公開の範囲を確認した上で、それ以上の情報公開は原則として行わない。講演会等の参加者名簿は個人情報となるため、その取り扱いには十分に注意し、内容が流出することが無いように配慮している。また、次年度以降に向けて調査協力依頼の同意書原案を作成した。

C. 研究結果

1. 県内多胎関連情報データベースの構築

(1) 人口動態統計出生票に基づく石川県における多胎出産動向の把握

石川県の多胎出産率と全国が多胎出産率の動向を図3に示した。石川県における多胎分娩率は全国平均よりも高い傾向にあった。都道府県別に見ると石川県は過去10年間(H7～H16)のうち5回に渡り、全複産分娩率およびふたご分娩率で全国5位以内となっていた。それ以外の年度においても常に全国平均を上回る分娩率であった。

多胎分娩実数で見ると、平成7年以降では年間116～159件で推移しており悉皆把握が不可能な数値ではない。

(2) 行政機関・医療機関に対する多胎児家庭支援状況質問紙調査

表1に回収状況を示した。行政機関では90%を超える回収率であった。医療機関に関しては小児科診療所を除けば6割～7割程度の回収率であった。最終的な回収率は全体で5割、小児科診療所を除くと7割であった。主要な質問項目に対する回答結果を表2に示した。多胎妊娠・出産、多胎児との関わりは主として産科病院、NICUで高く、ついで小児科病院となっていた。多胎妊娠・出産、多胎児への支援・アドバイス・配慮に関してはNICUと産科病院で高い値であった。こうした支援などの中で多胎児の親の会の紹介、活動、育成に関するアドバイスや支援は医療機関と比較して行政機関で低い値であった。また、医療機関と行政機関の連携はNICUと産科診療所で若干高い割合であった。ただし、行政機関と医療機関で回収率の大きな差が有る点を考慮する必要がある。

この5年間(平成11～15年)に県内医療機関で出生した双生児のおよそ75%(506/687)が把握可能であった。その地理的な分布の概要を図4に示した。

(3) 県内多胎児家庭支援サークル

石川県内には現在全部で11の多胎児家庭支援サークルがあり、6歳未満の乳幼児に限った場合に、全体のおよそ4割(300/780)が何らかの形で

加入していると推定された。

2. 人的ネットワークの構築

数回にわたり、関係者との情報提供、情報交換、問題意識の共有を小規模・集中的に行った。これにより保健師、看護系学校教員、臨床系看護師、助産師、多胎児家庭などの間に新しいネットワークが広がりを見せてきた。また、積極的に情報発信を行ってきたために、報道関係者からも健全な関心と問題意識・賛同を引き出すことができ、その後の活動に大きく貢献した。

3. 多胎児家庭支援講演会・交流会の開催

金沢市(7月)、能登地区(11月)、加賀地区(3月)、河北地区(3月)でそれぞれ1回ずつ講演会・交流会を開催した。

4. これまでの研究成果の積極的な還元

「多胎児を産み育てる家庭の育児支援に役立つ図と表」というA4で32枚に及ぶリーフレットを作成し随時配布した。内容としては、多胎出産の動向、多胎発生の生物学、卵性診断、成長と発達(出生体重、乳幼児期体重・身長・カウプ指数パーセントイル曲線、運動発達・言語発達通過率曲線など)を含んでいる。

5. 双生児レジストリーの構築を円滑化するネットワークの構築

多胎育児家庭、多胎児サークル、医療機関、行政、研究機関などを構成組織とする「いしかわ多胎ネット」が設立された。その活動内容には、「研修会や講演会の開催」、「施策などの検討」、「情報および意見の交換」に加えて「調査や研究」を盛り込んでいる。

D. 考察

石川県は、多胎出産率が高率であることもさることながら、1998年に県の厚生部(現、県健康福祉部)が、全国に先駆けて多胎児家庭および行政・医療機関の両面から支援の現状を調査している。その成果として『ふたごの妊娠出産日記』を作成・更新、配布するなど、多胎児家庭に対する取り組みは他県より進んでいると言える。また、全国的にも大規模な多胎児家庭サークルが存在していたことも情報の把握をきめ細かくしていた。今回の研究の推進に当たってはそのような背景に負う部分も大であったと言える。こうした資源を有機的に連結していくことが重要である。

今年度は県レベルでの双生児レジストリーの基盤となる情報収集、ネットワークの構築を目指した。分娩取扱い医療機関、多胎家庭サークル、多胎家庭支援状況などの全体的な概要が数値的にも人的にも浮かび上がってきた。分娩施

設、多胎児サークルなどの多くは極端に地域差があり、大都市部に偏在していた。この種の地域差の考慮は今後の検討事項である。

この基盤をより確実なものとするために次年度も引き続き同様な試み(情報データベースの整備、講演会・交流会、人的ネットワークの維持・拡大、成果の還元)を継続する必要がある。これまでの、支援の多くは継続性という面で課題が残ることが指摘されている。

また、具体的な形でのレジストリーの構築に移行するためには研究協力家庭リストの作成も検討課題となる。

E. 結論

一県レベルを対象として双生児育児家庭の母子保健福祉と遺伝疫学的研究を同時に念頭に入れた、ツインレジストリーの構築を目指した活動を実施した。この種の試みはこれまでに見られないが、その成果は今後着実に現れてくるものと思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

大木秀一:臨床遺伝子学'05-多因子遺伝病研究の手法-双生児研究法,最新医学,60巻9増刊号(通巻750号),1986-1992,2005

2. 学会発表

志村恵、大木秀一、橘薫、石原雅子、玄田朋恵、河原広子、山岸和美:「いしかわ多胎ネット」の設立とその課題、第20回日本双生児研究学会学術講演会、2006

大木秀一:石川県における多胎家庭育児支援の現状、第19回日本双生児研究学会学術講演会、2005

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

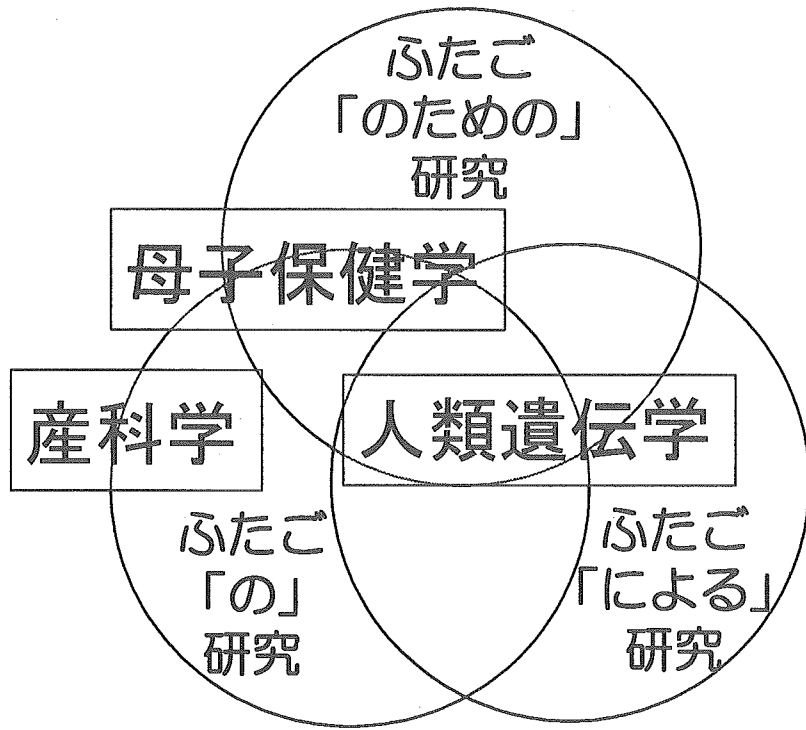


図1 双生児研究の領域

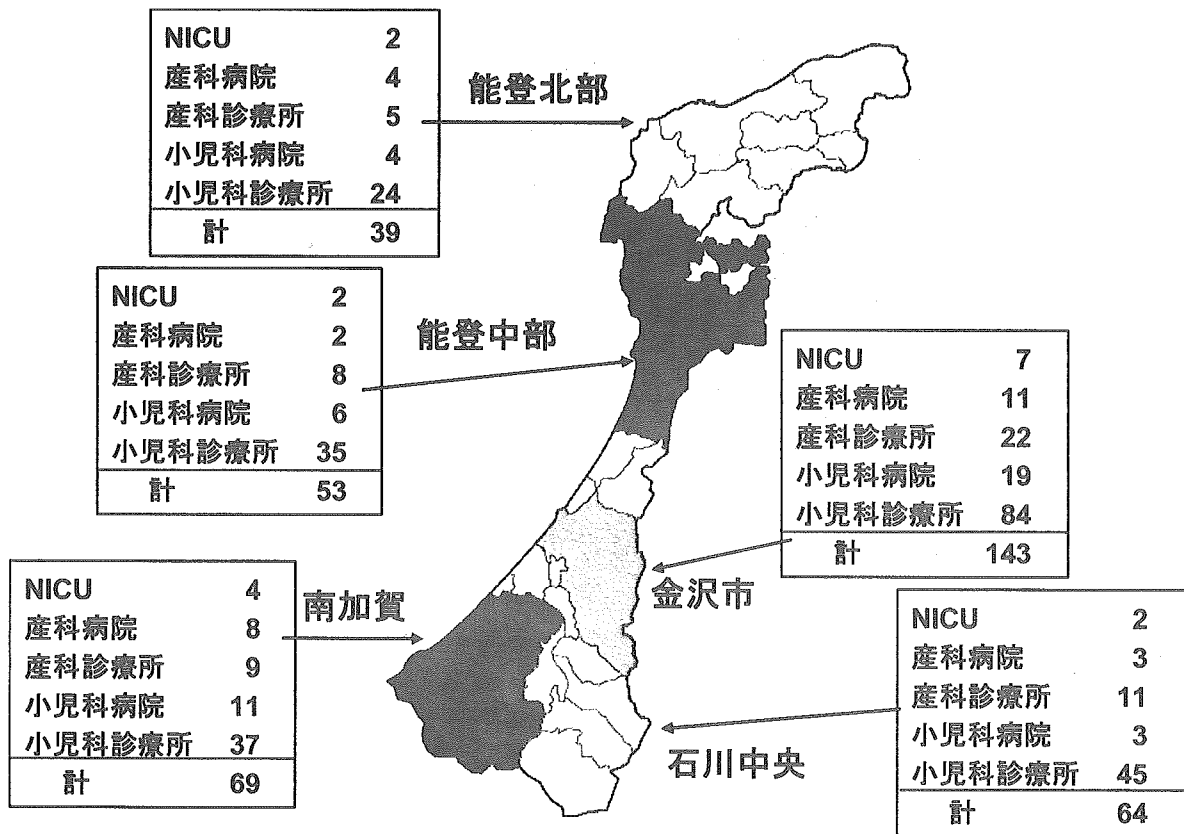


図2 地域別医療機関有効対象数

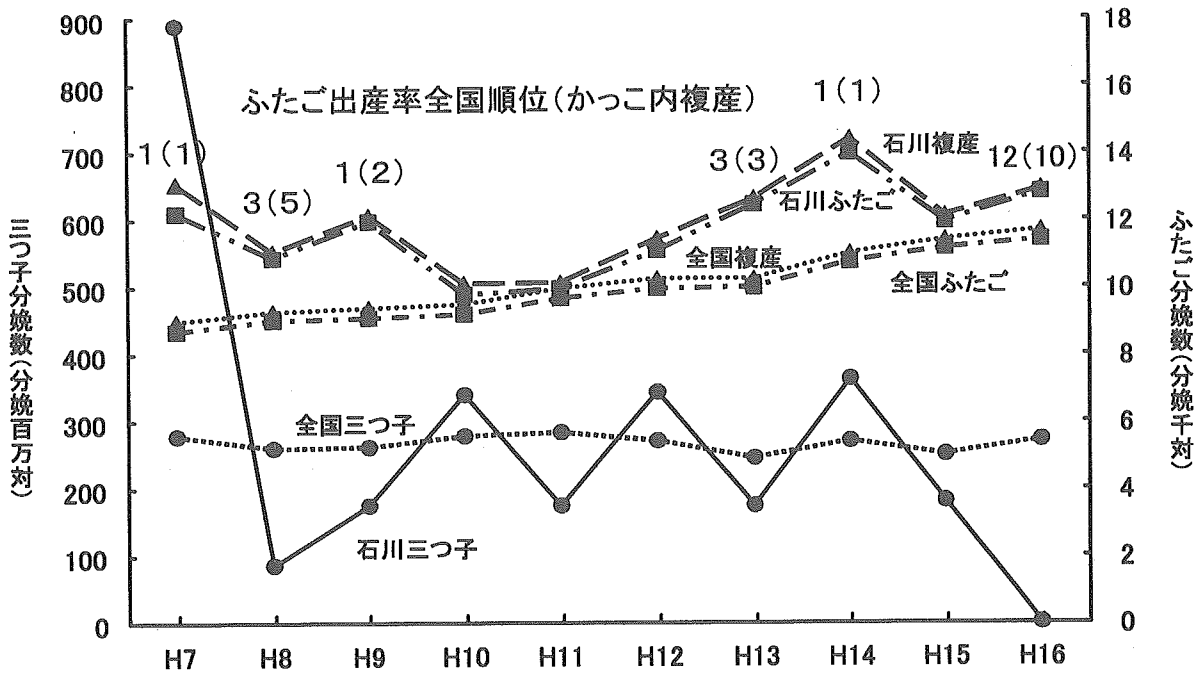


図3 最近10年間の多胎分娩率の石川県と全国の比較
(分娩1000件に対しての多胎分娩の数に換算)

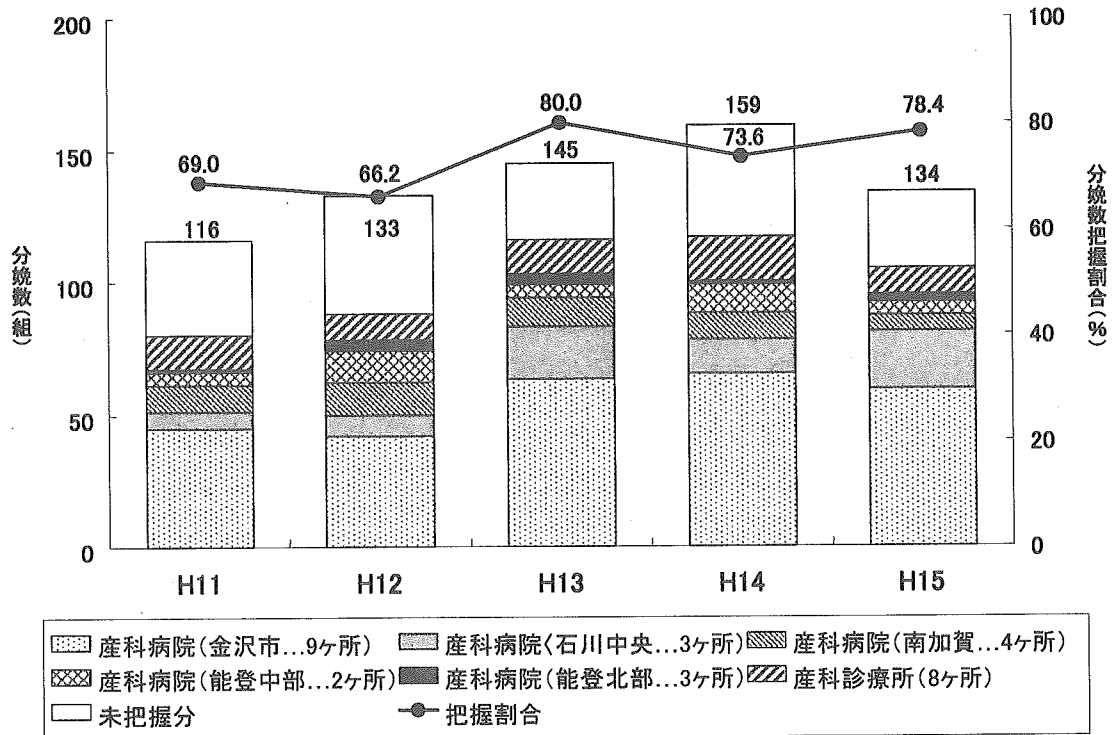


図4 年度別、地区別の多胎出産状況

表1 多胎児家庭への支援状況調査回収状況

	有効対象数	1回目	2回目	合計	回収率
市町村	38	30	5	35	92.1
センター	11	8	2	10	90.9
NICU	17	8	3	11	64.7
産科病院	28	12	8	20	71.4
産科診療所	55	22	10	32	58.2
小児科病院	43	12	13	25	58.1
計	192	92	41	133	69.3
小児科診療所	225	77	—	77	34.2
合計	417	169	41	210	50.4

表2 行政・医療機関別の現状の比較

	保健所	市町村	NICU	産科		小児科	
				病院	診療所	病院	診療所
回収率	92.1% (35/38)	90.9% (10/11)	64.7% (11/17)	71.4% (20/28)	58.2% (32/55)	58.1% (25/43)	34.2% (77/225)
多胎妊娠・出産、多胎児との関わり	-	-	100% (11/11)	90% (18/20)	25% (8/32)	42% (10/24)	34% (26/77)
多胎妊娠・出産、多胎児への支援・アドバイス・配慮	-	-	73% (8/11)	85% (17/20)	27% (7/26)	25% (6/24)	11% (8/76)
多胎児の親の会の紹介、活動・育成に関するアドバイス・支援	9% (3/35)	11% (1/9)	75% (6/8)	59% (10/17)	57% (4/7)	50% (3/6)	0% (0/8)
市町村や保健所に保健師に対する多胎児家庭への育児支援の連絡	-	-	63% (5/8)	29% (5/17)	57% (4/7)	50% (3/6)	25% (2/8)

地域双生児登録を用いた気分障害の発症要因の検討

分担研究者 大野裕（慶應義塾大学）
研究協力者 安藤寿康（慶應義塾大学文学部）
吉村公雄（国立がんセンター研究所）
木島伸彦（慶應義塾大学商学部）
長谷川寿一（東京大学大学院総合文化研究科）
神庭重信（九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野）
広瀬信義（慶應義塾大学医学部）

研究要旨：

今回我々は、双生児を対象とした人間行動遺伝学 human behavioral genetics の技法を用いることによって、うつと不安の症状形成に関する遺伝要因と環境要因の関係に関して検討した。対象は、慶應義塾双生児研究プロジェクト(Keio Twin Project: KTP)に参加した東京都内および近郊に在住の 15 歳から 27 歳までの双生児 432 組であり、そのうちわけは一卵性女性(MZf)は 197 組、二卵性女性(DZf)61 組、一卵性男子(MZm)90 組、二卵性男子(DZm)34 組、異性(DZo)50 組である。その結果、軽症から中等症のうつ症状および不安症状に直接影響を及ぼす遺伝的要因は見いだせず、遺伝的要因はパーソナリティ形成に影響してうつ症状および不安症状への脆弱性を形成することが明らかになった。とくに、遺伝的には、高い損害回避傾向（不安が強く危険を避けようとする傾向）と低い報酬依存傾向（他の人との情緒的関係をさげようとする傾向）がうつ状態に関連していると考えられた。

A. 研究目的

本研究は、不安症状およびうつ症状に遺伝要因と環境要因が及ぼす影響について KTP(Keio Twin Project)の調査研究における双生児のデータをもとに検討したものである。不安症状およびうつ症状の尺度としては Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)を用いた。

著者が本研究を行うことにしたのは、近年のめざましい遺伝子解析の発展を目にして、不安症状およびうつ症状といった精神症状の発現にこうした遺伝要因と環境要因がどのように関与しているかに関心を持ったためである。

気分障害における遺伝要因の影響に関しては、例えばうつ病性障害におけるセロトニン神経系^{S-1)}やドーパミン受容体^{S-2)}が注目されているし、不安については、セロトニントランスポーターの多型と不安傾向の関連^{S-3)}など、様々な遺伝子マーカーを候補遺伝子とした研究が進められている。しかし、こうした精神医学的障害は、多数の遺伝子が関与した多因子ポリジーン遺伝(multifactorial-polygenic inheritance)形式を取ることもあって、まだ一定した見解が得られるにはいたっていない。

しかも、不安やうつなどの精神症状の発現には、こうした生物学的要因だけでなく、対人関係^{S-4)}などの心理社会的な要因^{S-5)}すなわち

環境要因が強く関与していることもよく知られているところである。

こうした遺伝要因と環境要因の影響を明らかにするための有力な手法のひとつとして、双生児研究を中心とした行動遺伝学的研究がある。こうした研究手法は、1980年代後半から精神医学的障害を対象に積極的に応用されるようになり、不安障害の遺伝寄与率が20~40%、うつ病性障害の遺伝寄与率が40~70%という結果が報告されている。また、症状がより軽度の場合には遺伝率が低くなり、環境要因の影響を受けやすくなることもわかっている⁵⁻⁶⁾。

これまでわが国では、軽症の抑うつ症状および不安症状の発現に影響する遺伝要因と環境要因の関連について、このような双生児を対象とした検討は行われてきていなかった。そこで、本研究では、432組(864名)の双生児の協力を得て抑うつ症状と不安症状の発現に遺伝要因と環境要因が及ぼす影響について検討し、その臨床的意義について検討を

加えることにした。

B. 研究方法

1) 対象の抽出方法

本研究の対象は、首都圏近郊すなわち東京都(港区など13区5市)、神奈川県(川崎市)、埼玉県(川口市など4市)、千葉県(船橋市)の住民基本台帳を元に、KTPによって作成された双生児リスト(Keio Twin Registry: KTR)に登録されている双生児のうち、15歳から32歳の双生児である。上記地域内の人口の総数は674万人で、そのうち女性は335万人、男性は339万人である。上記地域内の双生児数は5205組(10410人)、そのうち15歳から27歳の双生児数は2283組(4566人、女性2284人、男性2268人)である。その中で本研究で施行した質問紙に回答した双生児数は432組(864人、女性566人、男性298人)です。以上をまとめたものを追加A表に示す。

追加A表 対象地域内の双生児数とその男女の内訳

組数(人数)			
対象地域内双生児総数	5205組(10410人)		
対象地域内双生児数(15歳から27歳)	2283組(4566人)	女性	2284人(50.0%)
		男性	2268人(49.9%)
質問紙に回答した双生児数	432組(864人)	女性	566人(65.5%)
		男性	298人(34.5%)

2) 対象の特性について

今回の研究協力者の卵性・性別・組数・年齢について以下に表示した。

対象の卵性・性別・組数・年齢の表

卵性	性別	組数(人数)	平均年齢(標準偏差)
一卵性	女性(MZF)	197組(394人)	22.4歳(3.7)

二卵性	男性(MZM)	90組 (180人)	18.8歳(3.5)
	女性(DZF)	61組 (122人)	20.3歳(3.5)
	男性(DZM)	34組 (68人)	19.9歳(3.6)
	異性(DZO)	50組 (100人)	19.6歳(4.1)
全体		432組(864人)	19.9歳(3.7)

児と判断できる

3) 一卵性と二卵性の判別方法について

卵性を判別するに際して、まず異性の双生児(つまり、女性・男性ペア)は二卵性双生

続いて同性の双生児について、卵性判別のため以下に挙げる外見的類似性に関するアンケートを実施した。

卵性判別についての質問表(外見的類似性に関するアンケート)

[同性の双子の方のみお答えください]

あなたが小さいころのことを思い出してお答えください。

各質問について、最も適当と思われるものの番号を○で囲んでください。

①双子のきょうだいとは、「うりふたつ」のように似ていましたか

1. 「うりふたつ」のように似ていた
2. 普通のきょうだい程度に似ていた
3. まったく似ていなかった

②双子のきょうだいは当時、間違えられることがありましたか

1. はい、非常にしばしば
2. はい、ときどき
3. いいえ、けっして

③その場合、双子はだれに間違えられましたか

1. 両親
2. 親戚や近所の人たち
3. その他の見知らぬ人たち
4. だれにも間違えられなかった

質問紙の得点は、選択した項目の番号をそのまま得点とし、3点(すべての質問で「1.」を選択した場合)から10点(①、②、③の質問にそれぞれ3. 3. 4. と答えた場合)までのいずれかの値となる。もう一方の双生児にも同様の質問を行っていることから、両者の得点を合計して一組の双生児について6点~20点までの点数が得られる。その点数のうち、14点以上を二卵性双生児、13点以下を一卵性双生児と判断することになる。この質問紙の卵性識別の精度は約

93%とされている。⁵⁻⁷⁾

さらにKTPにおいて並行して行われている遺伝子の多型(ドーパミンDRD4およびセロトニン5HTT)の調査の結果を用いて、本研究の対象の双生児のうち質問紙で一卵性とされたもののなかで遺伝子型が互いに異なるものを二卵性として分類しなおした。

2) 方法

- 1) 質問紙(HADS:Hospital Anxiety and Depression Scale)

不安症状およびうつ症状の評価は以下
に示す HADS を用いた。

Hospital Anxiety and Depression Scale

あなた自身について下記のそれぞれの質問の「1, 2, 3, 4」の中のひとつに○をつけてください。あまりじっくりと考えすぎずに、例えばこの一週間のことを思い起こして選んでください。

- (1) 緊張感を感じるがありますか？
 1. ほとんどいつも緊張している
 2. 緊張していることが多い
 3. 時々緊張する
 4. まったく緊張しない
- (2) 以前楽しんでいたことを現在も楽しめますか？
 1. 以前と同じように楽しめる
 2. 以前ほど楽しめない
 3. ほとんど楽しめない
 4. まったく楽しめない
- (3) 何かひどいことが今にも起こりそうな感じがしますか？
 1. はっきりと強く感じる
 2. ある程度は感じる
 3. 少々感じるが気にならない程度
 4. 全く感じない
- (4) 物事をおもしろく感じたり、笑ったりできますか？
 1. 以前と同じように笑える
 2. 以前ほどには笑えない
 3. たまにしか笑えない
 4. 全く笑えない
- (5) くよくよと考え込みますか？
 1. ほとんどいつも考え込んでいる
 2. 考え込んでいることが多い
 3. 時々考え込む
 4. ごくたまに考え込むことがある
- (6) 機嫌良く過ごせていますか？
 1. いつも機嫌が悪い
 2. 機嫌が悪いことのほうが多い
 3. 機嫌が良いことのほうが多い
 4. ほとんどいつも機嫌が良い
- (7) のんびりと腰を下ろしてくつろぐことができますか？
 1. いつもできる
 2. できることが多い
 3. あまりできない
 4. 全くできない
- (8) 身体の動きが遅くなったように感じていますか？
 1. ほとんどいつも
 2. そう感じるが多い
 3. ときどき感じる
 4. 全く感じない