

Table4-3: Haplotypes of DRD2

		DRD2									
Haplotype	Total		Control		Schizophrenia		vs others		all		
	n	frequency	n	frequency	n	frequency	X <sup>2</sup>	p	X <sup>2</sup>	p	
SQ1	GATTTATC	96	<i>0.429</i>	41	<i>0.394</i>	55	<i>0.458</i>	0.935	0.334		
SQ2	AGCGGOGA	69	<i>0.308</i>	31	<i>0.298</i>	38	<i>0.317</i>	0.090	0.764		
SQ3	GACTTCGC	15	<i>0.067</i>	6	<i>0.058</i>	9	<i>0.075</i>	0.267	0.605		
SQ4	GATTTAGC	10	<i>0.045</i>	3	<i>0.029</i>	7	<i>0.058</i>	1.136	0.287		
SQ5	GATGTATC	7	<i>0.031</i>	6	<i>0.058</i>	1	<i>0.008</i>	4.484	0.034		
SQ6	GATGGATC	6	<i>0.027</i>	4	<i>0.038</i>	2	<i>0.017</i>	1.015	0.314		
SQ7	AATTTATC	3	<i>0.013</i>	2	<i>0.019</i>	1	<i>0.008</i>	0.501	0.479		
SQ8	GACGGGCG	3	<i>0.013</i>	3	<i>0.029</i>	0	<i>0.000</i>	3.509	0.061		
SQ9	AGCGGAGA	2	<i>0.009</i>	0	<i>0.000</i>	2	<i>0.017</i>	1.749	0.186		
SQ10	GACGGCGA	2	<i>0.009</i>	0	<i>0.000</i>	2	<i>0.017</i>	1.749	0.186	23.280	0.962
SQ11	GATTGATC	2	<i>0.009</i>	1	<i>0.010</i>	1	<i>0.008</i>	0.010	0.919		
SQ12	GATTTCGA	2	<i>0.009</i>	1	<i>0.010</i>	1	<i>0.008</i>	0.010	0.919		
SQ13	AGCTTATC	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ14	AACGGCGA	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ15	AACGGAGA	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ16	GGCGGCGA	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ17	GACGTGCG	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ18	GATGGCGA	1	<i>0.004</i>	1	<i>0.010</i>	0	<i>0.000</i>	1.159	0.282		
SQ19	GATGTAGC	1	<i>0.004</i>	0	<i>0.000</i>	1	<i>0.008</i>	0.871	0.351		
		224		104		120					

Table5: Summary of Logistic regression analysis of ADORA1 haplotype

	p-value	odds ratio	95% confidence interval
A1-SQ6	0.006	3.873	( 1.466 - 10.230 )

Figure 2—1. Linkage disequilibrium coefficient ( $D'$ ) and haplotype blocks of the Adenosine A1 gene

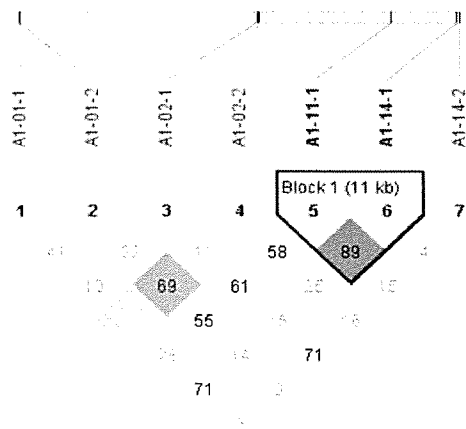


Figure 2—2. Linkage disequilibrium coefficient ( $D'$ ) and haplotype blocks of the Adenosine A2A gene

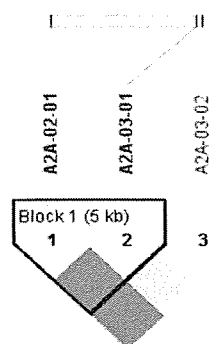
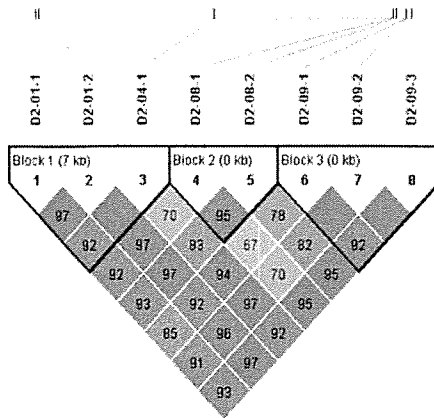


Figure 2-3. Linkage disequilibrium coefficient ( $D'$ ) and haplotype blocks of the Dopamine D2 gene



厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

（総括・分担） CalDAG-GEFI 遺伝子の多型解析

（主任又は分担）研究者 川寄弘詔  
九州大学病院 講師

（研究協力者）織部直弥、光安博志  
九州大学大学院医学研究院精神病態医学

#### 研究要旨

我々は CalDAG-GEFI 遺伝子の第9イントロンに1つのあたらしい SNP (IVS9(-92)) を発見した。本研究において、既知である6つの SNP はその半数が多型性を示したのみであった。4つの多型性を示すマーカーのアレル頻度およびゲノタイプ頻度について、統合失調症罹患群およびコントロール群における比較を行ったが、統計学的な有意差は見出せなかった。ハプロタイプ頻度においても、統合失調症罹患群およびコントロール群の比較において統計学的な有意差を見出せなかった。

#### A. 研究目的

我々は、線条体に多く発現し、カルシウム (calcium (EF-hand)) と ジアシルグリセロール (diacylglycerol (DAG)) の両方に結合ドメインを持つ新しいグアニンヌクレオチドエクスチェンジファクター (guanine nucleotide exchange factor (GEF)) である CalDAG-GEFI とそのオルソログの CalDAG-GEFII について報告した。これらの遺伝子は GEF 遺伝子ファミリーによって調整される新しいセカンドメッセンジャーシステムの一部であり、この GEF 活性は cAMP やカルシウム、DAG に代表

される主要な細胞内セカンドメッセンジャーの結合によって制御されていることが判明した。

最近では、細胞内における本経路が種々の機能を持つことから、一般的に、“non-kinase second messenger pathway” と呼ばれている。

CalDAG-GEFI と CalDAG-GEFII のメッセンジャーRNA はともに、ほとんど、脳と造血細胞系に限局的に発現している。

CalDAG-GEFI タンパクは線条体の GABA 神経の出力系神経 (GABAergic output neuron) の神経終末に局在化していること

が示されている。

統合失調症の病態生理学的機構のひとつとして大量の線条体 GABA 神経系の出力神経系における調節異常が関与していると推定されており、CalDAG-GEI 遺伝子は統合失調症の分子生物学的研究の良い候補遺伝子となり得ると考えられる。また、この遺伝子ファミリーは近年着目されつつある。“non-kinase second messenger pathway”のひとつである cAMP-GEFII 遺伝子が自閉症の発病機序と関連があることが報告されている。

このように、本遺伝子ファミリーは哺乳類の中樞神経系の神経精神医学的機能において重要な役割を持つことが示唆されている。

統合失調症への CalDAG-GEFI 遺伝子の関与を評価するために、我々は日本人の統合失調症罹患群と健常群における CalDAG-GEFI 遺伝子上の一塩基多型 (SNPs) について調べた。

## B. 研究方法

対象群：

我々は、全体で 437 名 (平均年齢 47.1、男性:247 名 (45.7 歳)、女性:188 名 (48.8 歳)) の日本人を本研究において対象とした。

対象は DSM-IV により診断された統合失調症群 193 名 (平均年齢 51.1 歳、男性 103 名 (49.6 歳)、女性 90 名 (52.64 歳)) および健常対照群 242 名 (平均年齢 43.6 歳、男性 144 名 (42.6 歳)、女性 98 名 (45.1 歳)) である。

ゲノム DNA 抽出：

ゲノム DNA は Lahiri and Nurnberger の方

法およびキアゲンカラム (Qiagen columns (Qiagen, GmBH)) を用い、末梢静脈血の白血球から抽出した。

PCR：

上記の方法により得られたゲノム DNA をテンプレートにし、PCR 法により、ゲノタイプングを行うそれぞれの領域を増幅した。増幅に用いたプライマーのペアは Table 1 に記載した。

PCR の反応溶液の総量は  $10\mu\text{l}$  とし、その溶液中にゲノム DNA 50ng、各プライマー 10pmol、dimethylsulfoxide 10%、AmpliTaq polymerase (Roche) 0.25unit、dNTP 各 2mmol、10xPCR Buffer II (Roche)  $1\mu\text{l}$  を混入し、反応させた。

温度条件は、初めに  $94^{\circ}\text{C}$  1 分間、次に  $94^{\circ}\text{C}$  30 秒 (denaturation)、 $56^{\circ}\text{C}$  または  $62^{\circ}\text{C}$  30 秒 (primer annealing)、 $72^{\circ}\text{C}$  1 分 (extension) を 40 サイクル繰り返した後、最後に  $72^{\circ}\text{C}$  5 分間 (final extension) とした。

DHPLC 法：多型のスクリーニングを行うために、12 名の DNA サンプルから PCR により増幅された DNA 断片を用いて automated Wave DNA fragment analysis system を利用した DHPLC 法による解析を行った (Transgenomic, U. S. A.)。

直接塩基配列決定法：

PCR で増幅した DNA 断片のうち、DHPLC において、ヘテロデュプレックス溶出パターンを示した DNA 断片は、直接塩基配列法で、多型の存在の確認を行った。

PCR 法により増幅された DNA フラグメントを含んだ反応液  $10\mu\text{l}$  に Shrimp alkaline

phosphatase (Roche) 1U、10x Dephosphorylation buffer (Roche) 1.3  $\mu$ l、Exonuclease I、2U (NEW ENGLAND BioLabs) を混合し総量を 3  $\mu$ l にしたものを加え、37°C1 時間、80°C15 分の熱処理を加えた。そして、BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems) に付属のプロトコールに従いダイレクトシーケンスに用いるテンプレートを準備し、表 1 に示したプライマーを用いてシーケンシング反応を実行した。反応液の一部はプロトコールに従い、シーケンサ 3100 Genetic Analyzer (ABI) を使用してキャピラリー電気泳動を行い、各サンプルの塩基配列を決定した。

塩基配列解析および統計学的解析：

すべての報告されている CalDAG-GEFI 遺伝子 DNA 多型については、データベースに基づいて本研究において使用した。データベースは、NCBI dbSNP build120 (dbSNP) and JSNP database (JSNP) を用いた。CalDAG-GEFI 遺伝子領域の報告されている DNA 多型は、Table 2 および Fig 1 に示した。加えて、我々は新しい SNP の探索も行った。得られた塩基配列の解析は、コンピュータ・ソフトウェアである DNASTAR (Seqman II, MegAlign) (DNASTAR, U. S. A.) を用いた。

それらの結果に基づいて、4 つの多型マーカーからなるハプロタイプをコンピュータ・ソフトウェアであるフェイズ (PHASE) を用いて推測した。

統計学的解析は、stattview・ソフトウェア (StatView-J ver. 4.11 (SAS Institute Inc., U. S. A.)) を用いてカイ二乗検定を行った ( $\alpha=0.05$ )。

クレイドグラム解析は、コンピュータ・ソフトウェアのネットワーク・プログラム (NETWORK ver. 4.1.0.6 (Fluxus Technology Ltd., Germany)) を用いて、すべての対象サンプルについてプロットした (Fig 2)。

連鎖不均衡解析 (LD) に関しては、フェイズで計算したハプロタイプの情報に基づきペアワイズ LD コエフィシエント  $D'$  を 3 つの SNP で計算した。

(倫理面への配慮)

血液採取に際しては、文書および口頭にてインフォームド・コンセントを本人および家族 (代諾者) から取得した。本研究は、九州大学医学部ヒトゲノム・遺伝子研究倫理委員会からの承認を得て行われた。

### C. 研究結果

我々は、CalDAG-GEFI 遺伝子の 18 箇所のエクソンとその周辺領域の増幅を行い、そのうちの 16 箇所の増幅に成功した。

エクソン 13 と 17 については、PCR で増幅できなかった。その他の 16 箇所のエクソンに対し DHPLC によるスクリーニングを行った結果、3 つのフラグメントがヘテロデュプレックス溶出パターンを示した。

全部で 4 つの SNP が 3 つのフラグメントから同定され、直接塩基配列決定法により解析が行われた。

我々は、全部で 437 名のサンプルについて直接塩基配列決定法により、ゲノタイピング解析を行った。その結果、1 つの新規 SNP と 6 つの既知の SNP が同定された。その 7 つの SNP のうち 3 つはモノモルフィックであったが、4 つは多型性 (ポリモルフ

ック)を示した(Table 2)。6つの既知の SNP のうちのひとつに関しては新しいゲノタイプの種類(genotypic variation)が認められた。

多型性を示すこれら 4 つのゲノタイプの分布は、ハーディーワインバーグの平衡(Hardy-Weinberg's equilibrium)を満たしていた。

上記の 4 つの SNP に対するカイ二乗検定を行ったところ、193名の統合失調症罹患群と 244名のコントロール群の間に有意な差は見られなかった。

だが男女間での比較においてわずかな差が見られた(Table 3-1, 3-2)。

4つの SNP から 12個のハプロタイプがフェイズ・プログラムにより(PHASE)により予測された(Table4)。

ハプロタイプの分布は統合失調症罹患群およびコントロール群の 2群の比較において、統計学的な有意差を示さなかった。D'値は3つの SNP のローカスにおいて、高いLDの存在を示した(Table 5)。ネットワーク・プログラム(NETWORK)によるクレイドグラム解析の結果を Figure 3 と Figure4 に示した。

#### D. 考察

本研究において我々は統合失調症群およびコントロール群の 2群の比較において、Ca1DAG-GEFI 遺伝子多型について統計学的な有意差を見出すことは出来なかった。しかし、さらに詳細なかつ多くの Ca1DAG-GEFI 遺伝子多型を用いての解析は今後も必須であろう。更に、我々は今回導入したクレイドグラムのような新しい解析手法が、複雑な Ca1DAG-GEFI 遺伝子機能

と統合失調症の病態生理学的機構の解明に必須であることを強調したい。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

投稿予定。

##### 2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし。

#### F. 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

なし。

##### 3. その他

なし。

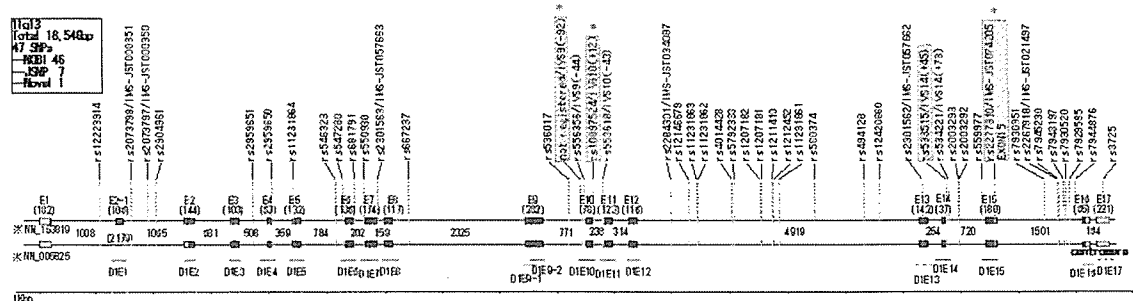


Fig 1: Location of SNPs on human CalDAG-GEFI gene

Table1: List of primers for amplifications

Primer name	Sequence (5'→3')	Length (nt)	Product size(bp)	PCR	DHPLC	Domains and Codons
D1E1	F attGTGTGGGAGTGTACATGGCT R gttCCGTCTCTCACACACAATGG	23 23	238			
D1E2	F attAGACTCCCGCTCTGGCTCT R gttCTAGGCTCAGGCTCCGTGT	22 22	211			ATG
D1E3	F attAGCTCAGCCACCTGTCTTTG R gtTAGGAGCGAGGCTCATTCTG	23 22	230			
D1E4	F attCGTGTCTCCTAGAACCAGGC R gtCAAACCCACTCCAGAAAC	23 22	261			
D1E5	F attGGGCTATCTGGGTGACTCC R gttCGAGAGAGCAACATGACCCCT	23 23	272			
D1E6	F attGTGTGTCTGTGTGAGTGGGG R gttGAACTCTCTTCCAGCCCACA	23 23	279			SCR 1
D1E7	F attGTGGCTATCAGTGAGGGGAG R gttGGAAGGTTGGCCTGACT	23 21	296			SCR 2
D1E8	F attCTCAGTGACTCCCTGCCTCT R gttCTTAACCCCTCTGAGCCCTCC	23 23	287			SCR 2
D1E9-1	F attCCTCACCCCTCCTACATTT R gttCCAGGATGCTAAAGAGCTGC	23 23	291			SCR 3
D1E9-2	F attCAACTATGGCAACTACCGGC R gttGAAACTGTCAAACCCCTGGTG	22 23	299			SCR 3
D1E10	F attGTCTAGCTTCTGACCCGAGC R gttGGTGAGGTGGCTGCTAAGAG	23 23	285		○	
D1E11	F attCAGGATCCCTCTCTGT R gttCTTGAACAGGCACTCGTGC	23 23	293			
D1E12	F attACTCTCCCTCTCTGGCTC R gttACAAGAACTGAAGCCAGG	23 23	233			EF-hand
D1E13	F attCAGCGGTGGATGTTCTG R gttGCTTJAGAAGGCTCTGG	21 21	300	×		DAG binding domain
D1E14	F attCTCTCCTCTGTGGTTCTGC R gttGGCCCTCTGATTTAAGGT	23 22	290		○	DAG binding domain
D1E15	F attGGATGGATGGAGGTAATC R gttCCACAGGCCAGTACAGAATG	23 22	274		○	DAG binding domain
D1E16	F attCAGGACCTGGAAGTGTGT R gttGGAGCCATTTGGATAAAGCA	23 23	205			TAA (stop codon)
D1E17	F attGGGTGTCTTCTCAGAACCT R gttGTATACCATCCCTACCC	23 23	299	×		

× : Not amplified by PCR  
○ : Indicated heteroduplex pattern by DHPLC



Table2: List of SNPs on CalDAG-GEFI gene and Result of DHPLC

Database		This study			Information		
dbSNP	Allele	JSNP number	Name	Amplified region	DHPLC	Allele	
rs12223914	C/A						
rs2073796	C/A	IMS-JST000351					
rs2073797	G/C	IMS-JST000350					
rs2904961	G/A						
rs2959651	G/A						
rs2959650	T/G			D1E4	mono		splice-site [NM_153819] intron [NM_005816]
rs11231864	T/C			D1E5	mono		Ile(atT) → Ile(atC) [NM_153819] intron [NM_005816] G 0.940 C 0.060
rs546225	G/C			D1E6	mono		
rs547280	C/A						
rs681791	T/C			D1E7	mono		G 0.989 A 0.011
rs2301563	T/C	IMS-JST057665					
rs550930	T/C						
rs667237	T/C						
rs536017	C/A						
rs556356	NONE		IVS9(-92)	D1E10	hetero	A/Del C	Novel SNP
rs10997524	T/C		IVS9(-44)				
rs10997524	1/Dmax (D>0)		IVS10(+12)	D1E11	hetero	T/C C	
rs553613	1/Dmin (D<0)		IVS10(-43)				
rs2284301	G/A	IMS-JST034067					
rs12146679	T/G						
rs11231862	C/A						
rs11231863	G/C						
rs4014426	Del/GT						
rs5792333	Del/TG						
rs1207122	T/C						
rs1207131	C/T						
rs1211410	G/A						
rs1212452	T/C						
rs11231861	G/A						
rs580374	G/A						
rs494128	T/C						
rs12420660	G/A						
rs2301562	G/C	IMS-JST057662		D1E14	hetero	G/T/Del G	Gly(gGg) → Ala(gCg) Novel variation
rs539515	G/T		IVS14(+45)				
rs534221	G/A		IVS14(+73)				
rs4609610	G/A						
rs4557696	T/C						
rs559977	G/A						
rs2277310	A/C	IMS-JST074205	Exon15	D1E15	hetero	A/C	C 0.812 A 0.188 Gly(ggA) → Gly(ggC)
rs7930951	A/G						
rs2267918	G/A						
rs7945230	T/C	IMS-JST021497					
rs7948197	G/A						
rs7930520	G/A						
rs7929535	T/C						
rs9667585	T/A						
rs3725	G/A						

Table3-1: Analysis of genotype and allele frequency detected by direct sequencing

	Total		Sc		Control		P-value	Female		Male		P-value	Female-Sc		Female-Control		P-value	Male-Sc		Male-Control		P-value	
	count	freq	count	freq	count	freq		count	freq	count	freq		count	freq	count	freq		count	freq	count	freq		count
Total	435		193		242			159		246			91		98			144		102			
* IVS3(-92)	A/A	77	0.177	35	0.181	42	0.174		27	0.196	40	0.163		19	0.209	15	0.184		24	0.167	16	0.157	
A/Del		206	0.474	99	0.513	107	0.442	0.215	93	0.452	113	0.459	0.327	47	0.517	46	0.469	0.552	61	0.424	52	0.510	0.352
Del/Del		152	0.349	59	0.306	93	0.384		59	0.312	93	0.378		25	0.275	34	0.347		59	0.410	34	0.333	
A		360	0.814	169	0.428	191	0.335	0.199	167	0.442	193	0.382	0.142	85	0.467	82	0.418	0.341	102	0.379	54	0.412	0.456
Del		510	0.586	217	0.562	263	0.605		211	0.556	292	0.606		97	0.523	114	0.552		179	0.622	120	0.583	
IVS3(+44)	C/C	435	1.000	193	1.000	242	1.000		159	1.000	246	1.000		91	1.000	98	1.000		144	1.000	102	1.000	
T/C		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
C/T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
T/T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
C		270	1.000	396	1.000	454	1.000		278	1.000	492	1.000		152	1.000	196	1.000		288	1.000	204	1.000	
T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
* IVS10(+12)	C/C	154	0.354	60	0.311	94	0.388		61	0.323	33	0.373		20	0.228	35	0.357		59	0.410	34	0.333	
C/T		206	0.474	99	0.513	107	0.442	0.224	93	0.492	113	0.459	0.477	47	0.517	46	0.469	0.574	61	0.424	52	0.510	0.352
T/T		75	0.172	34	0.176	41	0.169		35	0.165	40	0.168		18	0.196	17	0.174		24	0.167	16	0.157	
C		514	0.591	219	0.567	295	0.610	0.209	215	0.569	299	0.605	0.247	99	0.544	116	0.592	0.346	179	0.622	120	0.585	0.456
T		356	0.402	167	0.435	159	0.391		163	0.451	182	0.392		65	0.456	80	0.405		109	0.379	54	0.412	
IVS10(+43)	C/C	435	1.000	193	1.000	242	1.000		159	1.000	246	1.000		91	1.000	98	1.000		144	1.000	102	1.000	
C/T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
D=D, Dmax II		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
D=D, Dmin II		570	1.000	356	1.000	454	1.000		278	1.000	492	1.000		162	1.000	196	1.000		288	1.000	204	1.000	
T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
IVS14(+45)	G/G	175	0.402	71	0.368	134	0.430		69	0.365	106	0.431		30	0.330	39	0.396		62	0.451	41	0.422	
G/Del		209	0.480	100	0.513	109	0.452		92	0.467	117	0.476		49	0.529	43	0.459		60	0.452	51	0.500	
Del/Del		0	0.000	0	0.000	0	0.000	0.354	0	0.000	0	0.000	0.142	0	0.000	0	0.000	0.291	0	0.000	0	0.000	0.743
T/Del		51	0.117	22	0.114	25	0.120		25	0.142	20	0.094		12	0.132	16	0.165		15	0.095	10	0.093	
T/T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
G/T		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
G		559	0.643	242	0.627	317	0.655	0.612	230	0.669	329	0.669	0.095	102	0.599	121	0.617	0.700	196	0.641	133	0.652	0.502
T		51	0.059	22	0.057	29	0.060		26	0.074	23	0.047		12	0.068	16	0.082		15	0.045	10	0.049	
Del		260	0.299	122	0.316	138	0.285		120	0.316	140	0.285		61	0.335	59	0.301		79	0.274	61	0.299	
IVS14(+78)	G/G	435	1.000	193	1.000	242	1.000		159	1.000	246	1.000		91	1.000	98	1.000		144	1.000	102	1.000	
G/A		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
A/A		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
G		670	1.000	396	1.000	484	1.000		376	1.000	432	1.000		182	1.000	196	1.000		288	1.000	204	1.000	
A		0	0.000	0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000		0	0.000	0	0.000	
* EXON15	A/A	178	0.409	72	0.373	106	0.438		69	0.362	109	0.443		30	0.330	32	0.398		67	0.485	42	0.412	
A/C		205	0.471	58	0.305	107	0.442	0.552	93	0.492	112	0.455	0.181	49	0.529	44	0.449	0.465	60	0.453	49	0.480	0.707
C/C		52	0.120	23	0.119	29	0.120		27	0.143	25	0.102		12	0.132	15	0.153		14	0.087	11	0.138	
A		561	0.645	242	0.627	319	0.659	0.525	231	0.611	330	0.671	0.089	109	0.589	122	0.622	0.649	197	0.664	133	0.652	0.456
C		399	0.355	144	0.373	165	0.341		147	0.363	162	0.322		73	0.401	74	0.378		61	0.315	71	0.346	

\* Used for LD analysis

Table3-2: Analysis of Diplotypes and Haplotypes predicted by Phase

Diplotype	Total		Sc		Control		P-value	Female		Male		P-value	Female-Sc		Female-Control		P-value	Male-Sc		Male-Control		P-value
	Count	Freq	Count	Freq	Count	Freq		Count	Freq	Count	Freq		Count	Freq	Count	Freq		Count	Freq	Count	Freq	
Total	435		193		242			159		246			91		102			93		144		
-CGG/AT-A	177	0.407	85	0.440	92	0.390		60	0.423	97	0.394		41	0.451	34	0.431		39	0.398	55	0.382	
-CGC/-CGG	145	0.333	55	0.285	90	0.372		56	0.296	89	0.362		23	0.253	32	0.214		23	0.237	57	0.396	
AT-A/ATTA	44	0.101	18	0.093	26	0.107		23	0.122	21	0.085		10	0.110	5	0.078		13	0.133	13	0.090	
-CGG/ATGC	24	0.055	12	0.062	12	0.050		9	0.048	15	0.061		5	0.055	7	0.069		4	0.041	3	0.056	
ATGC/AT-A	18	0.041	6	0.031	12	0.050		6	0.032	12	0.049		4	0.044	2	0.020		2	0.020	10	0.069	
AT-A/ATGA	7	0.016	5	0.026	2	0.008		3	0.016	4	0.016		2	0.022	3	0.029		1	0.010	1	0.007	
-CGG/-C-C	4	0.009	2	0.010	2	0.008		1	0.005	3	0.012		1	0.011	1	0.010		0	0.000	2	0.014	
AT-A/ATTC	4	0.009	3	0.016	1	0.004		3	0.016	1	0.004		2	0.022	1	0.010		1	0.010	0	0.000	0.232
-CGG/ATGA	3	0.007	2	0.010	1	0.004	0.250	2	0.011	1	0.004	0.452	1	0.011	1	0.010	0.615	1	0.010	0	0.000	
-CGG/-C-A	2	0.005	2	0.010	0	0.000		1	0.005	1	0.004		1	0.011	1	0.010		0	0.000	0	0.000	
ACGG/ACGC	2	0.005	1	0.005	1	0.004		2	0.011	0	0.000		1	0.011	0	0.000		1	0.010	0	0.000	
ATGC/ATGC	1	0.002	1	0.005	0	0.000		0	0.000	1	0.004		0	0.000	1	0.010		0	0.000	0	0.000	
AT-A/-CGA	1	0.002	0	0.000	1	0.004		1	0.005	0	0.000											

Table4: Haplotypes of CalDAG-GEFI

Haplotype	Total		Control		Schizophrenia		vs others		all		
	n	frequency	n	frequency	n	frequency	$\chi^2$	p	$\chi^2$	p	
A	-CGC	500	0.575	287	0.593	213	0.552	1.489	0.222		
B	AT-A	251	0.289	134	0.277	117	0.303	0.721	0.396		
C	ATTA	45	0.052	27	0.056	18	0.047	0.267	0.545		
D	ATGC	44	0.051	24	0.050	20	0.052	0.022	0.882		
E	ATGA	10	0.011	3	0.006	7	0.018	2.693	0.101		
F	-C-C	6	0.007	4	0.008	2	0.005	0.298	0.585	13.593	0.938
G	ATTC	5	0.006	1	0.002	4	0.010	2.587	0.108		
H	ACGC	4	0.005	2	0.004	2	0.005	0.052	0.820		
I	-C-A	2	0.002	0	0.000	2	0.005	0.052	0.820		
J	AT-C	1	0.001	0	0.000	1	0.003	1.255	0.263		
K	-CTC	1	0.001	1	0.002	0	0.000	0.798	0.372		
L	-CGA	1	0.001	1	0.002	0	0.000	0.796	0.372		
		870		484		386					

Table5: Calculated value of linkage disequilibrium

			count				frequency				D		
			IVS10(+12)		ExON15		IVS10(+12)		ExON15		IVS9(-92)	Exon15	
			C	T	C	A	C	T	C	A			
total	IVS9 (-92)	Del	510	0	507	3	Del	0.586	0.000	0.583	0.003	1.000	0.983
		A	4	356	54	306	A	0.005	0.409	0.062	0.352	0.994	
		C	511	3			C	0.587	0.003				
		EXON15	A	50	306			EXON15	A	0.057	0.352		
Schizophrenia	IVS9 (-92)	Del	217	0	215	2	Del	0.562	0.000	0.557	0.005	1.000	0.975
		A	2	167	27	142	A	0.005	0.433	0.070	0.366	0.976	
		C	217	2			C	0.562	0.005				
		EXON15	A	25	142			EXON15	A	0.055	0.366		
Control	IVS9 (-92)	Del	293	0	292	1	Del	0.605	0.000	0.603	0.002	1.000	0.990
		A	2	189	27	164	A	0.004	0.390	0.056	0.339	0.990	
		C	294	1			C	0.607	0.002				
		EXON15	A	25	164			EXON15	A	0.052	0.339		

$D' = D/D_{max}$  ( $D > 0$ )  
 $D' = D/D_{min}$  ( $D < 0$ )

$D_{min} = \max(-P_a P_c, -P_b P_d) = (-1) \times \min(P_a P_c, P_b P_d)$   
 $D_{max} = \min(P_a P_d, P_b P_c)$   
 $D = P_{ac} P_{bd} - P_{ad} P_{bc}$

$P_{ac} + P_{ad} + P_{bc} + P_{bd} = 1$   
 $P_a = P_{ac} + P_{ad}$   
 $P_b = P_{bc} + P_{bd}$   
 $P_c = P_{ac} + P_{bc}$   
 $P_d = P_{ad} + P_{bd}$

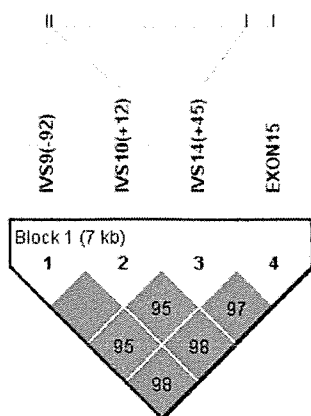


Figure 2. Linkage disequilibrium coefficient ( $D'$ ) and haplotype blocks of the

CalDAG-GEFI gene

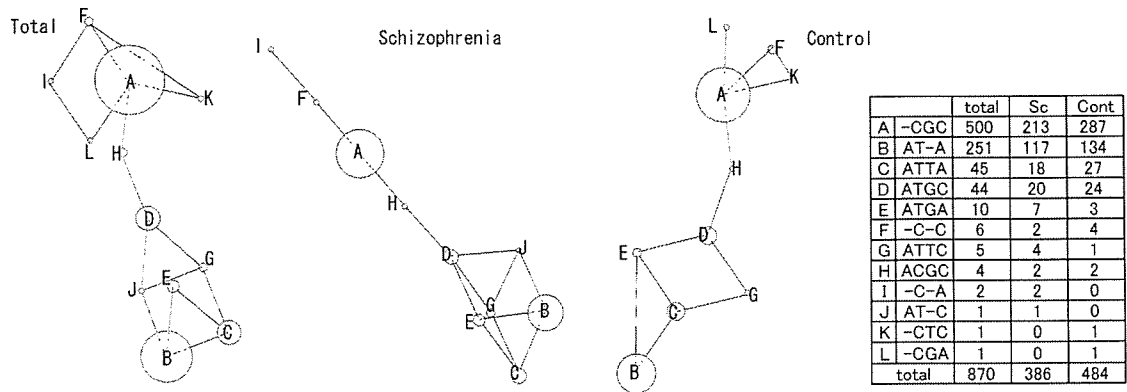


Figure 3. Cladogram of the CalDAG-GEFI gene using 4 haplotypes.

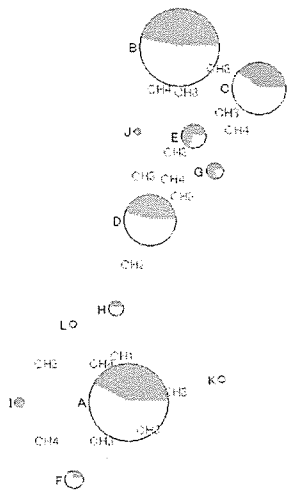


Figure 4. Cladogram of the CalDAG-GEFI gene using 4 haplotypes.

Yellow and blue region indicate the frequency of control and schizophrenia, respectively.

Red dotted circles indicate statistical significant haplotypes (none).

## 厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

（総括・分担） 聴覚刺激を用いた双極性障害における認知障害の病態解明に関する研究

（主任又は分担）研究者 黒木俊秀  
九州大学大学院医学研究院精神病態医学 助教授

### 研究要旨

近年、種々の精神疾患に伴う神経心理学的異常が注目されている。例えば、統合失調症では記憶機能、注意機能、および遂行機能の障害の程度が、その機能的転帰と深く関連することが示唆されており、認知機能を標的とした抗精神病薬の開発が進められている。双極性障害においても不良な転帰と認知障害、とくに遂行機能は、関連すると報告され、また認知障害は気分エピソードの寛解期にも存続するといわれている。一方、寛解期の軽度の残遺性気分症状やエピソードの頻度が認知障害に影響を与えることも指摘されている。今回の研究では、脳外傷後遺症等に伴う高次脳機能障害の神経心理学的評価に用いられるテストバッテリーを使用し、双極性障害、うつ病、および健常対照者における全般的知能、注意機能、情報処理速度、遂行機能、記憶機能の5ヶの認知機能領域を比較検討した。その結果、双極性障害者のみで注意記憶と関連したTrail Making Testに異常が認められたが、その程度は軽かった。しかしながら、今回、症例数はなお少ないことから、今後の検討が必要である。双極性障害における認知機能障害は器質的脳疾患に伴う認知機能障害と比較してより軽度であることが示唆され、従来の高次脳機能障害を対象にデザインされた神経心理学的検査による検出には限界があると考えられたが、研究方法の妥当性は確認された。

実施した神経心理学的検査法は器質的脳疾患に伴う認知機能障害の評価に広く用いられているもので、全般的知能、情報処理速度、注意機能、遂行機能、記憶機能などの各認知領域を評価する点では有用である。しかしながら、双極性障害では器質的脳疾患に比較して認知機能障害の程度が軽微であるので、個々の患者の治療効果の判定の指標とするには限界があると考えられる。ただ、注意機能において障害が示唆されたことから、この領域のさらに詳細な評価は有効ではないかと考えられる。とくに症例ごとの認知機能の経時的な変化の追跡は重要である。以上の所見は、今後の双極性障害の神経心理学的理解に寄与するものである。

近年、種々の精神疾患に伴う神経心理学的異常が注目されている。例えば、統合失調症では記憶機能、注意機能、および遂行機能の障害の程度が、その機能的転帰と深く関連することが示唆されており、認知機能を標的とした抗精神病薬の開発が進められている。双極性障害においても不良な転帰と認知障害、とくに遂行機能は、関連すると報告され、また認知障害は気分エピソードの寛解期にも存続するといわれている。一方、寛解期の軽度の残遺性気分症状やエピソードの頻度が認知障害に影響を与えることも指摘されている。一般に寛解期の統合失調症と比較して、寛解した双極性障害のほうがほとんどの認知領域で障害の程度は軽い。しかしながら、遂行機能や言語性記憶の障害では家族集積性も認められることから双極性障害の有力なtrait markerである可能性もある。

今回の研究では、双極性障害、うつ病、および健常対照者に対して脳外傷後遺症等に伴う高次脳機能障害の神経心理学的評価に用いられるテストバッテリーを使用し、以下の5ヶの認知領域を評価した。

- 1) 全般的知能：ウェクスラー成人知能検査(WAIS-R)
- 2) 情報処理速度・注意機能：かなひろいテスト、Trail Making Test
- 3) 遂行機能：ウィスコンシンカードソーティングテスト(WCST)
- 4) 記憶機能：リバーミード行動記憶検査(RBMT)

以上の検査項目は、熟練した検査者であれば、2.5〜3時間で施行することが可能で、被験者に与える負担も少ないので、精神科臨床全般にも応用できる汎用性がある。

その結果、双極性障害者のみで注意記憶と関連したTrail Making Testに異常が認められたが、その程度は軽かった。また、症例数が少なく、統計的な解析に至らなかった。双極性障害における認知機能障害は器質的脳疾患に伴う認知機能障害と比較してより軽度であることが示唆され、従来の高次脳機能障害向けの神経心理学的検査による検出には限界があると考えられる。しかしながら、今回のようにまず認知機能全般を評価し、特異的認知領域の異常を検出する評価法が精神疾患の神経心理学的研究には有用と示唆された。

---

1. Wati H, Kudo K, Qiao C, Kuroki T, Kanba S: A decreased survival of proliferated cells in the hippocampus is associated with a decline in spatial memory in aged rats. *Neurosci Lett* 399: 171-174, 2006
2. Yoshimura R, Okamoto T, Nakamura J, Tateno M, Otsuka K, Takahashi H, Fujisawa D, Takamatsu T, Fujii S, Sato S, Inoue M, Sasaki H, Kuroki T, Shinfuku N: Prescription pattern of antipsychotic drugs for schizophrenic inpatients in Japan: Research on East Asia Psychotropic Prescription Pattern—Antipsychotics (REAP-AP) study. *Psychiatry Clin Neurosci* 60: 778-779, 2006
3. Yamada H, Kuroki T, Nakahara T, Hashimoto K, Tsutsumi T, Hirano M, Maeda H: The dopamine D1 receptor agonist, but not the D2 receptor agonist, induces gene expression of Homer 1a in rat striatum and nucleus accumbens. *Brain Res* 1131: 88-96, 2007
4. 黒木俊秀：シンポジウムII-うつ病診療におけるリエゾン精神医療の連携。日本うつ病学会News, 2: 32-33, 2006
5. 黒木俊秀：不安を起こす脳内システム。こころの科学, 第128号, pp26-30, 日本評論社, 東京, 2006
6. 中尾智博, 鍋山麻衣子, 中谷江利子, 中川彰子, 吉浦 敬, 黒木俊秀, 神庭重信：機能的脳画像による強迫性障害の薬物治療反応性の検討。精神薬療研究年報 38: 56-64, 2006
7. 黒木俊秀：気分変調症—精神療法が無効な“軽症”うつ病？—。精神療法, 32(3): 318-325, 2006
8. 黒木俊秀：第2世代抗精神病薬の基礎薬理と日常臨床のはざま：認知機能改善作用をめぐって。精神神経学雑誌, 108 (12): 1323-1329, 2006
9. 永吉美砂子, 黒木俊秀：そんなつもりじゃなかったのに—社会的行動障害と生活。精神認知とOT, 3(5): 376-380, 2006
10. 黒木俊秀, 梶畑俊雄, 中原辰雄, 橋本喜次郎, 平野 誠, 神庭重信：非定型抗精神病薬クロザピンと前頭前野グルタミン酸ニューロン系。脳とこころの科学 (鶴 紀子編著), pp124-131, 新興医学出版社, 東京, 2006
11. 黒木俊秀：さまざまな立場からの臨床の知—2森田療法。強迫性障害治療ハンドブック (原田誠一編著), pp244-254, 金剛出版, 東京, 2006

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hirano S, Onitsuka T, Kuroki T, Yokota K, Higuchi T, Watanabe K, Nakamura J, Kanba S	Attitude of patients with mood disorder toward clinical trials in Japan. [ Letter to the Editors ]	J Clin Psychopharmacol	27(1)	93-94	2007
平野羊嗣, 鬼塚俊明, 神庭重信	音に対する感覚フィルタリング機構	臨床脳波	49(1)	56-64	2007
鬼塚俊明, 神庭重信	双極性障害の脳画像	臨床精神医学	35(10)	1433-1438	2006
平野昭吾, 鬼塚俊明, 神庭重信	統合失調症のMEG研究	精神科	9(3)	200-204	2006
大林長二, 鬼塚俊明	リチウムの病相予防作用	脳21	10(1)	68-73	2007
Taniwaki T, Okayama A, Yoshiura T, Togao O, Nakamura Y, Yamasaki T, Ogata K, Shigeto H, Ohyagi Y, Kira J, Tobimatsu S	Functional network of the basal ganglia and cerebellar motor loops in vivo: Different activation patterns between self-initiated and externally triggered movements.	Neuroimage	31(2)	745-753	2006
Tashiro K, Ogata K, Goto Y, Taniwaki T, Okayama A, Kira J, Tobimatsu S	EEG findings in early-stage corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy: A retrospective study and literature review.	Clin Neurophysiol	117(10)	2236-2242	2006
Tobimatsu S, Celestia GG	Studies of human visual pathophysiology with visual evoked potentials	Clin Neurophysiol	117(7)	1414-1433	2006
Tobimatsu S, Goto Y, Yamasaki T, Tsurusawa R, Taniwaki T	An integrated approach to face and motion perception in humans.	Clin Neurophysiol	S59	43-46	2006
飛松省三	脳波の導出法	臨床神経生理学	34(1)	44-53	2006
飛松省三	臨床神経生理学的検査の未来：認定制度の発足に向けて	神経内科 特別増刊号 臨床神経生理学的検査マニュアル1. 全体的スコープ	65(4)	10-14	2006
飛松省三	臨床検査報告書の書き方	神経内科 特別増刊号 臨床神経生理学的検査マニュアル2. 脳波検査	65(4)	106-114	2006

飛松省三	誘発電位検査報告書の書き方	神経内科 特別増刊号 臨床神経生理学的検査マニュアル7. 誘発電位検査	65(4)	342-350	2006
山崎貴男、後藤純信、飛松省三	運動視および顔認知関連誘発電位	臨床脳波	48 (7)	413-418	2006
飛松省三	臨床神経生理学への誘い1. 症例を究める	臨床脳波	48 (8)	493-504	2006
飛松省三	臨床神経生理学への誘い2. 視覚モダリティーを究める	臨床脳波	48 (9)	572-583	2006
谷脇考恭、飛松省三	臨床神経生理学への誘い3. システムを究める	臨床脳波	48 (10)	638-645	2006
山崎貴男、吉川宏起、飛松省三、杉下守弘	音楽表出の機能的脳画像	認知神経科学	8 (3)	180-183	2006
Mitsuyasu H, Kawasaki H, Ninomiya H, Kinukawa N, Yamana T, Tahira T, Stanton VP, Springett GM, Hayashi K, Tashiro N, Kanba S	Genetic Structure of the Dopamine Receptor D4 Gene (DRD4) and Lack of Association with Schizophrenia in Japanese Patients.	J Psych. Res.			In press
織部直弥、三浦智史、川寄弘詔	STEP-BD：米国NIMH 双極性障害の縦断的治療研究	臨床精神医学	35(10)	1417-1422	2006
川寄弘詔、織部直弥、神庭重信	単極性うつと双極性うつ病の鑑定	医学のあゆみ	219(13)	917-922	2006
Wati H, Kudo K, Qiao C, Kuroki T, Kanba S	A decreased survival of proliferated cells in the hippocampus is associated with a decline in spatial memory in aged rats.	Neurosci Lett	399	171-174	2006
Yoshimura R, Okamoto T, Nakamura J, Tateno M, Otsuka K, Takahashi H, Fujisawa D, Takamatsu T, Fujii S, Sato S, Inoue M, Sasaki H, Kuroki T, Shinfuku N	Prescription pattern of antipsychotic drugs for schizophrenic inpatients in Japan: Research on East Asia Psychotropic Prescription Pattern-Antipsychotics (REAP-AP) study.	Psychiatry Clin Neurosci	60	778-779	2006
Yamada H, Kuroki T, Nakahara T, Hashimoto K, Tsutsumi T, Hirano M, Maeda H	The dopamine D1 receptor agonist, but not the D2 receptor agonist, induces gene expression of Homer 1a in rat striatum and nucleus accumbens.	Brain Res	1131	88-96	2007

中尾智博，鍋山麻衣子，中谷江利子，中川彰子，吉浦敬，黒木俊秀，神庭重信	機能的脳画像による強迫性障害の薬物治療反応性の検討	精神薬療研究年報	38	56-64	2006
黒木俊秀	気分変調症—精神療法が無効な“軽症”うつ病？—	精神療法	32(3)	318-325	2006
黒木俊秀	第2世代抗精神病薬の基礎薬理と日常臨床のはざま：認知機能改善作用をめぐって	精神神経学雑誌	108(12)	1323-1329	2006
永吉美砂子，黒木俊秀	そんなつもりじゃなかったのに—社会的行動障害と生活	精神認知とOT	3(5)	376-380	2006

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷