

的遺伝とは表現型に対して数多くの遺伝子がそれぞれ独立にわずかつ量的寄与を加算的にもたらすというポリジーンモデルに従う遺伝要因、非相加的遺伝とは遺伝子間に相加的ではなく交互作用の効果があるとする遺伝要因であり、ここでは特に1遺伝子座内の優性(dominance)の効果を目指す。また共有環境とは環境を共有する家族の成員を類似させるように働く環境の効果、そして非共有環境とは家族の成員も類似させなくさせる個人に独自の環境要因(測定誤差を含む)を意味する。

この4要因はそれぞれ独立にある一定の重みづけを伴って個人の表現型(P)に寄与するというモデルが、以下の基本的な構造方程式モデルによって表現される。すなわち

$$P_i = aA_i + dD_i + cC_i + eE_i \quad (1)$$

となる。ここでP, A, D, C, Eはいずれも標準化された値で、平均が0, 標準偏差が1に固定されている。またiは個人に付与される添え字である。ここから表現型の分散は、

$$V_p = V_a + V_d + V_c + V_e = a^2 + d^2 + c^2 + e^2 \quad (2)$$

となる。また一卵性と二卵性の双生児きょうだい間の分散共分散行列の最も完全な一般的表現は

$$\Sigma_{MZ} = \begin{pmatrix} a^2 + d^2 + c^2 + e^2 & a^2 + d^2 + c^2 \\ a^2 + d^2 + c^2 & a^2 + d^2 + c^2 + e^2 \end{pmatrix} \quad (3)$$

$$\Sigma_{DZ} = \begin{pmatrix} a^2 + d^2 + c^2 + e^2 & 0.5a^2 + 0.25d^2 + c^2 \\ 0.5a^2 + 0.25d^2 + c^2 & a^2 + d^2 + c^2 + e^2 \end{pmatrix} \quad (4)$$

となる。特に共分散の部分(行列の左下の要素)では、遺伝子を100%共有する一卵性の場合、相加的遺伝分散、非相加的遺伝分

散は、いずれもその全てが共有されるのでその寄与の割合は1($1a^2, 1d^2$)であるのに対して、遺伝子を50%しか共有しない二卵性双生児の場合、相加的遺伝分散は0.5、1遺伝子座の対立遺伝子の組み合わせから説明される非相加的遺伝(優性)の分散は0.25しかその共分散に寄与しないこと($0.5a^2, 0.25d^2$)が表現されている。一方、共有環境はいずれの卵性の場合でも、その定義上、同じように全てが共有されるので、その係数はいずれも1となる。

構造の検討にあたっては、上述の遺伝と環境の諸要因を系統的に組み合わせた4種類のモデルを比較する。すなわち相加的遺伝(A)と共有環境(C)と非共有環境(E)から説明されるACEモデル、同様にAと非相加的遺伝(D)とEから説明されるADEモデル、共有環境も非相加的遺伝もないとするAEモデル、遺伝の影響がないとするCEモデルの4モデルである。双生児モデルでは、方程式の数より解の数は3つまでとなるため、ADCEを同時に分析することはできない。したがってACDEモデルは考えない。また量的遺伝のモデルからいって、Aのない単独のD効果は生物学的に意味をなさないのでDCEモデルやDEモデルも扱わない。さらに全てが非共有環境であるとするEモデルは、何の系統的な説明もされないことを意味するカオス状態を意味し、ナンセンスであるのでこれも扱わない。Eはあらゆる誤差を含むので、全てのモデルの中に必ず入らなければならない。こうして検討される4種類のそれぞれについて解を求め、モデル適合度が最もよいものを選ぶ。

構造方程式モデリングの計算に用いたプログラムはMxである。また適合度の指標に

はAIC (Akaike's information criterion) とBIC(the Bayesian information criterion)を用いた。

うつ病エピソードの診断基準に含まれる9つの症状の基底にある遺伝と環境の構造を検討するために行うのが、多変量遺伝分析である。この分析の目的は、異なる表現型の背後に遺伝的な媒介や環境のオーバーラップがあるかどうかを検討することである。ここでの分析では、1) 各変量の背後すべてにACE, AE, CEの3モデルのパラメータがCholesky decompositionの形式で構造化されているCholeskyモデル、2) 各変数に共通したACE, AE, CEの寄与と、独自のACE, AE, CEの寄与を分割して表現したIndependent Pathway Model、3) 各変数に共通したACE, AE, CEの寄与を、各変数の上位概念となる潜在変数を仮定することにより表現し、残差を独自のACE, AE, CEの寄与で説明するCommon Pathway Modelとの間で比較検討した。こうして、より適合性の高いモデルを探索する。

c. 結果 記述統計量

QIDS-Jの点数に基づいて判断すると、本研究の協力者のうち、正常範囲内851名(63, 98%)、軽度のうつ377名(28.35%)、中等度のうつ87名(6.54%)、重度のうつ14名(1.05%)、極めて重度のうつ1名(0.08%)であった(表4、図1)。

表5に示すように、QIDS-Jの結果の因子分析からはQIDS-Jによって評価されるうつ病症状の表現型一因子性が確認された。各項目の寄与は0.36~0.59であった。信頼性係数(Cronbach's α)は0.72であった。

表6は、卵性、性別ごとの双生児間相関を示したものである。本研究では、再回収をしても男性ペア数が十分でなかったこと、また、一貫した性差が観察されなかったことより、性別の分析は行わず、二卵性には同性ペアの他、異性ペアも含めることにした。

これによれば、一般的な興味を除くQIDS-Jのすべての項目において一卵性双生児の相関が二卵性双生児のそれを上回り、遺伝的影響のあることを示唆している。次に、遺伝と環境のどのような効果が背後にあり得るかを検討するために、単変量および多変量遺伝分析を行うことにする。

表4 Quick Inventory of Depressive Symptomatology 日本語版(QIDS-J)

QIDS_total score

		度数	有効パーセント	累積パーセント
有効	0	74	5.56	5.56
	1	109	8.20	13.76
	2	129	9.70	23.46
	3	135	10.15	33.61
	4	141	10.60	44.21
	5	135	10.15	54.36
	6	128	9.62	63.98

	7	104	7.82	71.80
	8	79	5.94	77.74
	9	84	6.32	84.06
	10	58	4.36	88.42
	11	52	3.91	92.33
	12	26	1.95	94.29
	13	22	1.65	95.94
	14	19	1.43	97.37
	15	10	0.75	98.12
	16	10	0.75	98.87
	17	6	0.45	99.32
	19	2	0.15	99.77
	21	2	0.15	99.92
	24	1	0.08	100
	合計	1330	100	
欠損値	システム欠損値	14		
合計		1344		

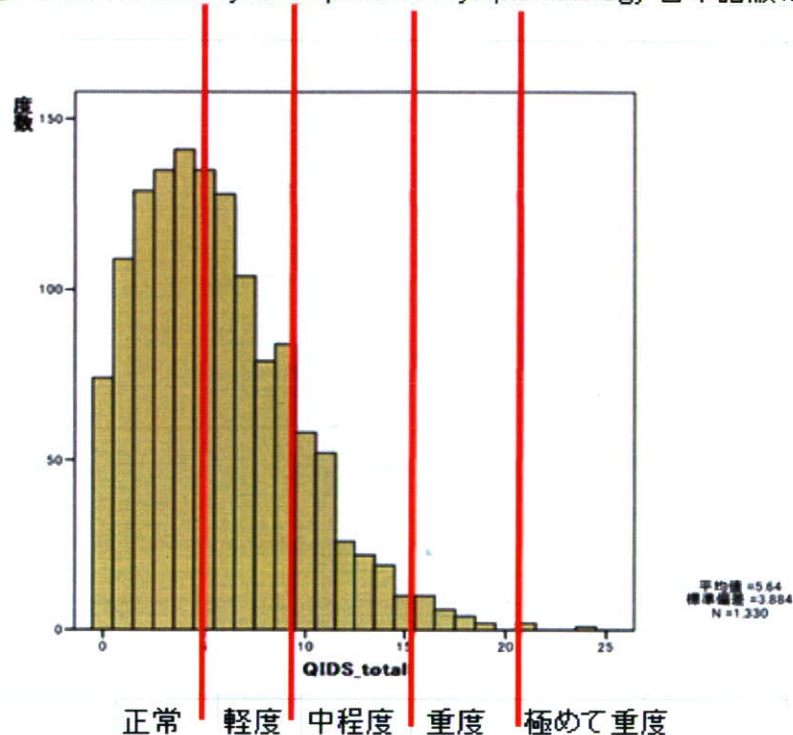
表5 尺度の信頼性分析

Quick Inventory of Depressive Symptomatology 日本語版(QIDS-J)

		Cronbach α	因子負荷量(最尤法)
睡眠	Sleep		.38
悲しい気持ち	Sadness		.52
食欲	Appetite		.36
集中力・決断	Concentration		.59
自分についての見方	Self	.72	.52
死や自殺についての考え	Death		.47
一般的な興味	Interest		.44
エネルギーのレベル	Energy		.55
精神運動状態	Movement		.57

説明率 24%

図1 Quick Inventory of Depressive Symptomatology 日本語版(QIDS-J)



単変量遺伝分析

表7は、ACE, ADE, AE, CE の各モデルについて解を求めたときの適合度指標(AIC および

BIC)である。この結果からは、個人差を遺伝と非共有環境で説明するAEモデルが最適であることが示された。

表7 単変量遺伝分析

Quick Inventory of Depressive Symptomatology 日本語版(QIDS-J)

	model	-2LL	df	AIC	BIC	a2	c2	e2	d2
QIDS_Total	ADE	7288.69	1323	4642.69	3548.08				
	ACE	7287.23	1323	4641.23	3546.62				
	AE	7288.69	1324	4640.69	3545.25	.41	-	.59	-
	CE	7290.33	1324	4642.33	3546.89				

多変量遺伝分析

表8は、今回調査した各項目の相関を見たものであるが、それによれば、QIDS-Jの総合得点で示されるうつ症状は、神経質さ

(NEO尺度)、達成動機の不機能(DAS尺度)、孤独感(loneliness尺度)、不安とうつ(HADS尺度)と高い表現型相関を示した。しかも、背後にある遺伝と環境

の両者とも相関が高いことが示された。なお、年齢や性別の効果はほとんど見られなかった。

表9は、考えられるモデルを比較検討したものである。つまり、QIDS-Jの9変数について、全変数に遺伝(A)、共有環境(C)、非共有環境(E)それぞれの要因(各9個)を置き、それぞれが相関していることを示すACE Cholesky Model(Model 1a)と各サブモデル(Model 1b, Model 1c)、9変数に共通したACEが寄与するが、上位概念は仮定しないACE Independent Pathway Model(Model 2a)と各サブモデル(Model 2a_1~Model 2C_1)、9変数の上位概念(うつ)を潜在変数として想定するACE Common Pathway Model (Model 3a)と各サブモデル(Model 3b, Model 3c)をモデル比較した。

モデル適合度AIC(Akaike's information criterion)は、いくつかのモデルにおいて同等の適合のよさを示したが、BIC(the Bayesian information criterion)は、Model 2a_3を最適としたため、これを最適モデルと判断した。AICは標本数が多いと、母数の多い(自由度の小さい)モデルをよいモデルと判定する欠点が指摘されている。

このACE Independent Pathway Modelから変数独自のAとCの寄与を除外した最適モデル(図2)は、9症状が遺伝、共有環境、非共有環境それぞれにおいて、重なり合うことを示しており、それらを支配する上位概念(うつ)が実体として存在するモデル(図3)よりも適合度が高い。遺伝の影響に関しては、それらに共通の要因ですべて説明され、症状独自の遺伝の寄与は想定されない。なお、本モデル適合では、簡略化のため共通するACEそれぞれの要因を1つ

ずつ仮定したが、さらに細かく見れば、これらの共通するACEが複数潜在する可能性も考えられる。

6. 考察：遺伝と環境がパーソナリティ形成に及ぼす影響

大うつ病性エピソードに関して、それ自体が遺伝するのか、それとも個々の症状が遺伝するのかに関する議論は、大うつ病性障害の診断分類を考える上で重要である。とくに、近年は、従来のカテゴリーモデルに対して、ディメンションモデルの有用性が主張されていることもあって、うつ症状について行動遺伝学的立場から検討し、その表現型と素因(遺伝)との関連を考えることはきわめて重要である。

そこで我々は、東京都内およびその近郊の双生児の協力を得て、うつ病の症状形成に遺伝要因と環境要因が及ぼす影響に関する研究を行い、症状として現れる表現型とその基底に存在して影響を及ぼしていると考えられる遺伝子群との関連について検討を加えた。

もし、大うつ病エピソードが遺伝するのであれば、9つの症状の組織図は共通経路モデルとしてそのまま認識でき、図4のようになると考えられる。このモデルでは、すべての症状が共通の病因的基盤をもつということが仮定されている。つまり、大うつ病エピソードの診断には遺伝的な実体性があり、この障害のすべての症状が主要な高次の構成概念の単なる現れにすぎないということになる。

このモデルは、カテゴリーに基づく現在の診断体系で採用されている考え方で、個々の症状の組み合わせがどのようなであっ

ても、診断基準を構成する症状の数が揃えば、おなじ「大うつ病エピソード」と診断できることを示すものである。つまり「抑うつ感」「興味や喜びの低下」「著しい体重の減少」「無価値感と罪責感」「死についての反復思考」という5つの症状の組み合わせと、「不眠あるいは過眠」「抑うつ感」「集中困難」「死についての反復思考」「著しい体重の減少」という5つの症状の組み合わせとが、病因論的には同じで、共通の遺伝子群によって引き起こされていると考えることができる。

しかし、本研究のデータからは、上記のモデルではなく、図2で示したような独立経路モデルを指示する結果が得られた。つまり、すべての症状と関連しているような高次の変数は存在せず、すべての症状に共通する遺伝要因と共有および非共有環境要因が個々の症状に直接的に影響を与え、さらに特異的な非共有環境が個々の症状の発現に影響していると考えられる。言葉を変えれば、「大うつ病エピソード」というカテゴリーの障害は実体としては存在せず、症状間の多面発現性の関係を名づけるのに使うラベルでしかないと考えられる。この結果は、うつをディメンジョンで考える方が、実態に即していることを示すものである。

現在の分子遺伝学的研究は、図3で示す共通経路モデルに基づいているが、今回の結果は、むしろ独立経路モデルに基づいて個々の症状に焦点を当てた分子遺伝学的研究を行う必要があることを示している。

7. 研究のまとめ

近年発展している人間行動遺伝学 human behavioral genetics は、血縁の近さの程度を遺伝の変数とみなすことによって精神症状や性格、知能といった人間の複雑な心理形質の形成に影響する遺伝要因と環境要因関係を統計的に推定するという手法である。

今回我々は、双生児の協力を得て人間行動遺伝学の技法を用いることによって、うつ症状の形成における遺伝と環境の関係について検討した。対象は、東京都内および近郊に在住の19歳から26歳までの双生児1344名(672組)である。これは慶應義塾双生児研究(Keio Twin Study: KTS)に参加した研究協力者であり、そのうちわけは一卵性女性(MZf)は278組、二卵性女性(DZf)82組、一卵性男子(MZm)168組、二卵性男子(DZm)41組、異性(DZo)103組である。この研究のなかで、我々は、population-baseの双生児サンプルを得るために、東京都、神奈川県、埼玉県、千葉県のごくすべての区・市・郡・町・村の住民基本台帳から悉皆的に抽出した18歳から26歳までの青少年双生児8945組から40%を無作為抽出した3578組(7156名)に調査票を郵送した。

今回解析したのは、Quick Inventory of Depressive Symptomatology 日本語版

(QIDS-J)であるが、その結果、現在の診断分類で用いられている共通経路モデルではなく、独立経路モデルが適合度が高いことが示された。これは、今後の診断分類を考える際に、カテゴリーモデルではなく、ディメンジョンモデルを視野に入れることが重要であることを意味するものである。また、分子遺伝学的研究も、診断カテゴリーとしての大うつ病性障害ではなく、個々

のうつ症状を対象に行うべきであることを示していると考えられる。

8. 研究発表

論文発表 なし

学会発表 なし

9. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 なし

実用新案登録 なし

その他 なし

图 2 Model 2a_3 The best-fitting Independent Pathway Model

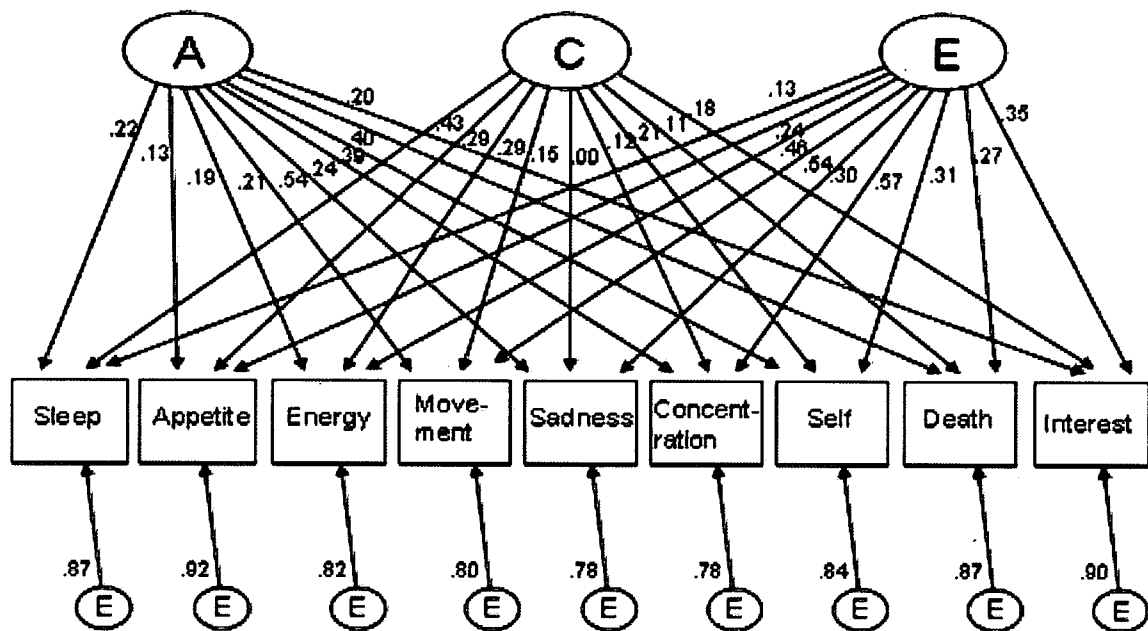
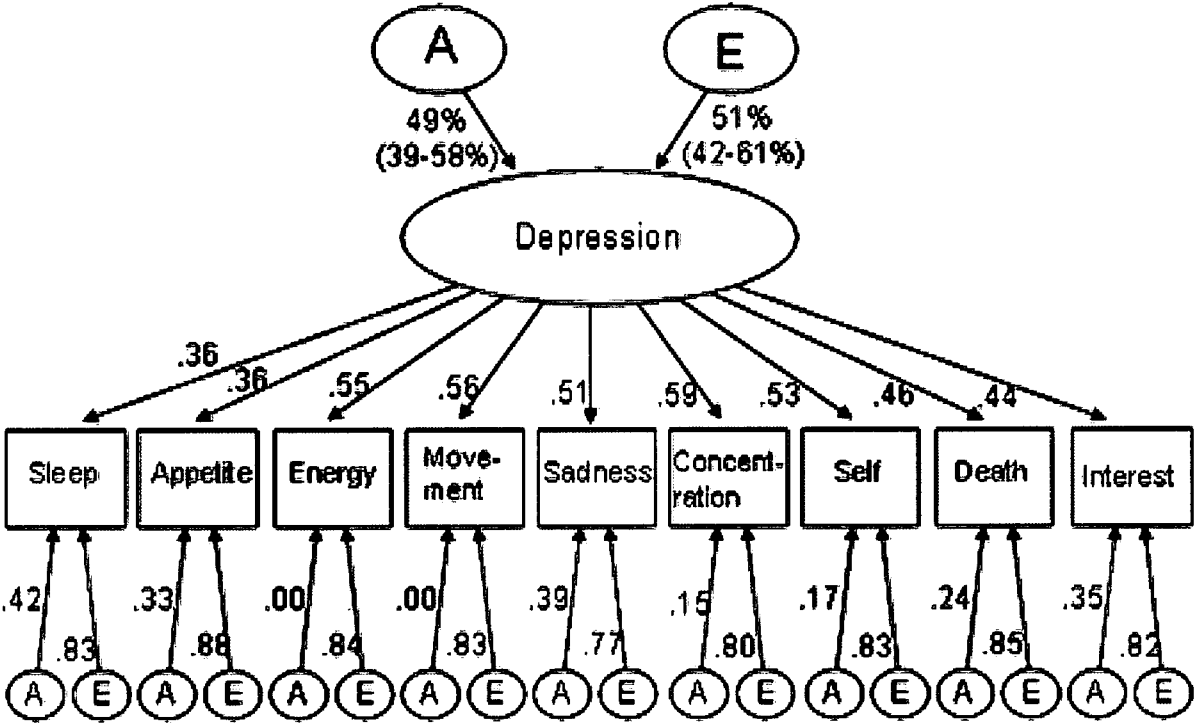


图 3 Model 3b Common Pathway Model



精神疾患不一致一卵性双生児登録の創設とゲノム解析に関する研究

分担研究者 岡崎祐士 東京都立松沢病院長

研究要旨

精神疾患は多因子性 common disease と考えられ、民族差や家系差、遺伝的異質性の存在が確実視されるため、個別性に応える研究方法でなければならない。その要請に応える研究戦略として、遺伝的背景が同一の一卵性双生児を対象に、ゲノム・遺伝子解析技術や精密な脳画像解析技術を適用する方法がある。

本分担研究は、そのような解析に貢献しうる精神疾患不一致一卵性双生児登録を創設すること、及びそのような精神疾患不一致一卵性双生児のゲノムの比較解析を行い、疾患リスク及び防御因子の推定を行おうとするものである。

本年度は、統合失調症不一致例 2 組、パニック障害不一致例 2 組、社会不安障害不一致例 1 組を見いだした。また、精神疾患双生児全国共同研究組織を再開し、活動を開始した。現時点での発見組数は少ないが、発見が増えることが十分に期待できる。

A. 研究目的

本分担研究は、双生児法による精神疾患の成因解明のために必要な、精神疾患不一致一卵性双生児を精神疾患双生児全国共同研究組織の活動によって発見し登録し、発見した精神疾患不一致一卵性双生児の協力を得て、ゲノムの比較解析を行い、疾患リスク及び防御因子の推定を行おうとするものである。さらに他の分担研究者の健常双生児登録とあいまって、精神疾患及び保健研究、あるいは人類遺伝学的研究リソースとしようとするものである。

活動が停滞していた精神疾患双生児全国共同研究組織を再開し、再び精神疾患不一致一卵性双生児の発見を強化することと、ビーズアレイによる遺伝子発現差異と、マイクロアレイによるゲノム差異同定を行った。

B. 研究方法

課題1 精神疾患不一致一卵性双生児登録

統合失調症をはじめとする精神疾患双生児登録を、全国共同研究組織によって発見し、予め定めた共同研究テーマのみを全国的合算し、その結果を発表公表する手続きを行う。発見の方法は精神科医療・保健施設ベースである。

課題2 ビーズアレイによる遺伝子発現差異と、マイクロ

アレイによるゲノム差異同定

方法は前年度と同じであるが、前者はパニック障害不一致組に、後者は自閉症不一致組に行った。また、前者のパニック障害不一致組には、近赤外光スペクトロスコピー(NIRS)による神経心理賦活による脳血流動態の計測を行った。

(倫理面への配慮)

課題2は通常の診療で行われるのと同程度の量の末梢血採血という資料提供、遺伝子発現やゲノム差異解析から遺伝子多型の特定や関連研究にわたる場合がある。また、無侵襲ではあるが MRI と NIRS 検査に協力をいただく。課題1は健常者及び精神疾患に罹患している方の個人情報医学的診断情報あるいは上記検査情報と共に研究者によって把握される。従って、その情報の漏洩による心理的社会的不利益を引き起こす可能性があり、厳重なプライバシーの保護が必要である。本研究は上記のように遺伝子解析研究に及ぶ可能性がある研究であり、全経過を通じて、厚生労働省、文部科学省、経済産業省の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年3月29日)に従って、各研究者の所属する施設の倫理審査委員会において承認を受けて進めた。研究協力者・資料提供者の「参加は自発的なものに限り、協

力はいつでもどの段階でも撤回が出来、断つても何ら差別や不利益がない」原則にのっとり、文書による説明と同意により進める。個人情報とは資料及び検査結果は連結可能保存されるが、個人情報管理責任者のもとで厳重に管理される。また、課題1で、複数施設でのデータを合わせる場合には、各施設から外に出るデータは、匿名化を前提にした。

C. 研究結果

課題1 精神疾患双生児全国共同研究組織の再開

わが国では統合失調症に関して井上英二が1950年代から60年代にかけて発見した一卵性58組、二卵性20組が最大の精神疾患双生児である。岡崎は1990年代に長崎県(人口157万人)で統合失調症双生児一卵性25組、二卵性14組を発見した。本研究はその成果を全国的に拡大しようとするものである。平成14年に形成し、17年度までに活動していたが、その後停滞していた「精神疾患双生児全国共同研究」組織を再開したところである。参加施設は、北海道大学、札幌医科大学、弘前医科大学、東北大学、福島県立医科大学、獨協医科大学、群馬大学、自治医科大学、理化学研究所脳科学総合研究センター、都立松沢病院、東京都医学研究機構・東京都精神医学総合研究所、国立精神神経センター武蔵病院、東京医科歯科大学、東邦大学、慶應義塾大学、帝京大学、東京大学、和楽会パニック障害臨床研究センター、浜松医科大学、名古屋大学、三重大学、奈良県立医科大学、京都府立医科大学、大阪大学、岡山大学、山口大学、香川医科大学、島根医科大学、大分医科大学、長崎大学、琉球大学の31施設の研究者である。

今年度は、活動再開した成果の報告は少ないが、統合失調症不一致例2組、パニック障害不一致例2組、社会不安障害不一致例1組が見出された。

課題2 精神疾患不一致一卵性双生児の遺伝子発現差異解析とゲノム差異解析、及びMRIとNIRS計測

(1) ビーズアレイ法

マイクロビーズアレイ及びマイクロアレイ解析によって、2組のパニック障害不一致一卵性双生児培養リンパ芽球の遺伝子発現解析を行った。1組は、差異を示したクローンは125個見られ、他方は15クラスターであった。パニック障害罹患双生児は、非罹患対偶双生児よりも全般に発現が増加した遺伝子が多かった。

(2) マイクロアレイ解析

一方、主任研究者(加藤)らは、パニック障害不一致一

卵性双生児2組について Hu133A チップ(Affymetrix)DNA マイクロアレイにより発現差異を解析(GeneSpring software)、それぞれの組で半分以上 presence の遺伝子を対象とした。統計検定で $p < 0.05$ のものを選択し選ばれた遺伝子リストのうち2組で共通のもの、さらに方向性が同じもの(両ペアともに患者で上昇、あるいはその逆など)を最終的なリストとした。その結果、パニック障害患者で上昇していたのは15遺伝子、低下していたのは28遺伝子であった。マイクロビーズアレイによる遺伝子発現解析結果との比較照合中である。

長崎で発見した一卵性双生児自閉症不一致例ゲノムのチップによるSNPs解析を行い、copy number variation(CNV)解析ツールキット第3版(CNAT3.0)を用いて分析したところ、4p16と9q34の2箇所に、自閉症罹患双生児にCNVを見出した。これは100KSNPsチップ解析で発見されたが、と500KSNPsチップ解析でも再現された。同部位の解析、表現型への影響の有無の検討を予定しているが、DNAの不足のために、とん挫しており、再度サンプリングの努力をしている。

(3) NIRS計測

一卵性双生児パニック障害不一致男性ペアにNIRS検査を行った。その結果、言語流暢課題による前頭葉内側部の脳血流賦活は2人とも低下していたが、外側部はパニック障害罹患双生児は賦活低下であったが、非罹患双生児では賦活が認められた。したがって前頭葉内側部はパニック障害のtraitに関与し、外側部はstateに関与する部位であることが示唆された。患者-対照研究で先に100例以上のパニック障害患者の語流暢課題による前頭葉賦活のNIRS所見を得ているが、パニック障害家族歴陽性の患者群は、家族歴陰性の患者群に比較して、前頭葉内側部の賦活が有意に悪かった。これらの知見から、前頭葉内側部の賦活障害が、パニック障害負因の表現型である可能性が高い。

D. 考察

精神疾患双生児登録は、全国共同研究組織が再開され、今後の集積がスピードアップする可能性がある。不一致一卵性双生児法によるゲノム研究は実る可能性があることが示唆された。また、前頭葉内側部がパニック障害の病理に深く関わっている可能性を見いだした。

E. 結論

以上のように、本年度の研究は進行した。本研究課題は引き続き継続する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表(下線は主任・分担研究者及び研究協力者)

岡崎祐士: 臨床遺伝学における双生児法の問題点. 精神医学の方位(坂口正道、岡崎祐士、池田和彦ほか編)中山書店, pp.96-100, 2007

谷井久志、西村幸香、音羽健司、佐々木司、貝谷久宣、岡崎祐士: 精神疾患の分子病態:パニック障害研究の現状と展望. 実験医学増刊「脳神経疾患の分子病態と治療への展開」(貫名信行、西川徹編)25(13) 2061-2066, 2007

谷井久志、井上顕、西村幸香、梶木直美、貝谷久宣、佐々木司、岡崎祐士:パニック障害の遺伝子探索. 脳と精神の医学 18(1):1-7, 2007

2. 学会発表

谷井久志、井上顕、西村幸香、横山知加、加藤忠史、岡田元宏、貝谷久宣、岡崎祐士:パニック障害に関する一卵性双生児不一致ペアに関する検討. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌, 2007年7月11-13日

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

研究協力者

佐々木司 (東京大学保健センター・精神科)

今村 明 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・精神神経学分野)

谷井久志 (三重大学大学院医学系研究科 精神病態学分野)

西村幸香 (三重大学大学院医学系研究科 精神病態学分野)

井上 顕 (名古屋市立大学大学院医学研究科健康科学・環境生態学分野)

貝谷久宣 (和楽会パニック障害臨床研究センター)

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

分担研究者 氏名 小澤寛樹 所属 長崎大学

研究要旨 一卵性双生児統合失調症不一致例 4 組(すべて男性、平均年齢 48.2 歳)で対し、Affymetrix 社製 GeneChip HumanMapping100K Set (50K Xba Array , 50K HindArray)にて CNAT3.0 (Chromosome Copy Number Analysis Tool version 3.0)を用いてコピー数解析を行った。その結果、4 組中 1 組の統合失調症不一致一卵性双生児で 1p22.1 の領域で CNV を示唆する信号強度の差がみられた。

A. 研究目的

一卵性双生児不一致のゲノム・細胞機能の差異を検討することにより、通常の症例対照研究では個人差に埋もれて検出が困難だった病態要因を明らかにする事にある。我々は統合失調症の原因遺伝子を調べるための試みの一つとして、一卵性双生児統合失調症不一致例でコピー数解析を行い、双生児間の比較を行った。

B. 研究方法

対象は一卵性双生児統合失調症不一致例 4 組(すべて男性、平均年齢 48.2 歳)である。卵性診断はTogerson ら(1979)による質問紙法(浅香訳、1983)、赤血球抗原・酵素型、血清型、計 7 種及び DNA フィンガープリント法による。診断は DSM-IV を用いて行われた。一卵性双生児の統合失調症不一致の期間は、すべての組で 10 年以上であった。末梢血より採血しフェノール法にてゲノム DNA を抽出した。Affymetrix 社製 GeneChip HumanMapping100K Set (50K Xba Array , 50K HindArray)にて CNAT3.0 (Chromosome Copy Number Analysis Tool version 3.0)を用いてコピー数解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は長崎大学医学部倫理委員会審査・承認を経て、対象者に研究の趣旨を説明し文書による同意を得て実施した。

C. 研究結果

4 組中 1 組の統合失調症不一致一卵性双生児で 1p22.1 の領域で CNV (Copy Number Variation) を示唆する信号強度の差がみられた (図 1)。その他の双生児では、コピー数の差を示唆する所見はみられなかった。

D. 考察

コピー数の多型は CNV と呼ばれ、最近特に注目されている。2006 年に 7 つの研究機関や企業が国際的な共同

研究を行い、ヒトゲノム CNV 概要マップを発表した 1)。結果として 1447 箇所の CNV がある領域がみつかり、この領域の大きさは約 360Mbp でヒトゲノムの 12%以上であることが明らかになった。これまで個人の多様性の代表的なマーカーと考えられてきた SNP はゲノム全体の 0.3%程度に過ぎないことから、ゲノムの多様性はこれまでの我々の理解よりもはるかに大きく複雑であることが示唆された。

近年、精神疾患に対しても様々な形で CNV の解析が行われている。Wilson ら 2) は CGH アレイを用いて、双極性障害や統合失調症の患者の死後脳から抽出された DNA に脳で発現する遺伝子の領域を含む 4 つの新規の CNV を認めたことを報告している。また、Lachman ら 3) は双極性障害で GSK3 β 遺伝子の領域にある CNV が健常対照群と比較して有意に頻度が高かったことを示している。このように CNV は精神疾患のゲノム解析の領域でも、積極的に検討されている。

我々は 4 組の一卵性双生児統合失調症不一致例に対してコピー数解析を行い、結果としてそのうちの 1 組にコピー数の差を示唆する所見を認めた。この結果は、統合失調症の発症に CNV が関与している可能性を示唆するものと思われる。現在、real-time PCR を行い、この結果を検証している。

また現在ヒト鼻粘膜細胞の培養を試みているが、成功に至っていない。条件の更なる検討が必要である。今後鼻粘膜以外の末梢組織からの脱分化による神経細胞の培養も視野にのぞく予定である。

E. 結論

4 組中 1 組の統合失調症不一致一卵性双生児で 1p22.1 の領域で CNV を示唆する信号強度の差がみられた。

(参考文献)

1) Redon R, et al., Nature 444: 444-454, 2006

- 2) Wilson GH, et al., Hum Mol Genet 15: 743-749, 2006
- 3) Lachman HM, et al., Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 144: 259-265, 2007

G.研究発表

1. 論文発表

未発表

2. 学会発表

・ J.Bartl , E.Grunblatt, M.Gerlach, P.Riederer, T.Mori,
H.Ozawa: Methylphenidate effects on cell growth and
maturation in neuronal stem cells (1st International
Congress on ADHD from childhood to adult disease ,
2007)

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

双生児の脳画像解析による病態解明に関する研究

分担研究者 笠井清登 東京大学医学部附属病院精神神経科

研究要旨 近赤外線スペクトロスコピー(NIRS)、脳磁図(MEG)、構造 MRI 等の非侵襲脳計測を用いて、精神疾患双生児対、健常同胞、健常双生児の認知機能を検討することにより、精神疾患の原因解明を目指した。健常一卵性・二卵性双生児を対象とした研究から、NIRS による前頭部酸素化ヘモグロビン変化量や MEG による聴覚皮質反応が、高い遺伝性を持つことが明らかとなり、精神疾患の中間表現型として有望であることを示唆した。

A 研究目的

精神疾患双生児対、健常同胞や健常双生児における脳形態・機能画像研究を行うことにより、精神疾患の脳病態における遺伝的要因・非遺伝的要因を同定することにより、精神疾患の原因解明を目指すことを目的とする。

B.研究方法

近赤外線スペクトロスコピー、脳磁図、構造 MRI 等の非侵襲脳計測を用いて、精神疾患双生児対、健常同胞、健常双生児の認知機能を検討する。

（倫理面への配慮）

本研究で用いる脳画像計測、遺伝子解析については、すべて東京大学医学部倫理委員会の承認を得ており、全ての被験者にインフォームドコンセントを得た後に実施している。

C.研究結果

H18 度から引き続き、新聞広告により健常双生児を公募し、これまでに成人 26 組 53 名（うち 1 組は三つ子）、小児 22 組 44 名、合計 48 組 97 名の近赤外線スペクトロスコピー及び脳磁図の計測を行った。また、成人例については全例採血を行い、DNA マーカーによる卵性診断を行なった。その結果、NIRS で計測した前頭部酸素化ヘモグロビン変化曲線が、高い遺伝率（級内相関係数：左前頭部：一卵性 0.87 > 二卵性 0.40；右前頭部：一卵性 0.90 > 二卵性 0.60）を示すことを見出した。また、MEG で計測した聴覚皮質反応についても、級内相関係数が一卵性 0.68 > 二卵性 0.35 であることを示した。

D.考察

健常一卵性・二卵性双生児の研究により、NIRS や MEG 信号が精神疾患の中間表現型として極めて有望であることを示唆した。

E.結論

精神疾患の脳機能・構造異常をマルチモダリティ神経画像によって多面的に捉え、その遺伝・非遺伝要因を双生児法により厳密に同定することによって、エピジェネティクス解析と組み合わせて、精神疾患の原因を分子機序から脳機能異常にいたるまで総合的に解明することが期待される。

G.研究発表

1. 論文発表

Kasai K*, Yamasue H*, Gilbertson MW, Shenton ME, Lasko NB, Rauch SL, Pitman RK (*equal contribution): Evidence for acquired pregenual anterior cingulate gray matter loss from a twin study of combat-related post-traumatic stress disorder. Biol Psychiatry 63: 550-558, 2008、他英文原著 14 報

2. 学会発表

笠井清登、川久保友紀、桑原斉、山末英典：自閉症スペクトラム障害の神経画像. 第 30 回日本神経科学大会、シンポジウム、横浜、2007 年 9 月 12 日、他多数

H 知的財産権の出願・登録状況 なし

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

分担研究者：斎藤 治（国立精神・神経センター武蔵病院・第一病棟部長）

研究協力者：岡本長久、山下典生（国立精神・神経センター武蔵病院精神科）

今村 明（長崎大学医歯学部附属病院精神科神経科）

功刀 浩（国立精神・神経センター神経研究所）

研究要旨

本研究の目的は、双生児法に発達の視点を加え、発達段階の異なる健常一卵性双生児を対象に脳構造画像（structural MRI, sMRI）データを集積し、ヒト脳のマクロ構造の個体発生（発達）に及ぼす遺伝的要因と非遺伝的（環境）要因の影響を評価することである。

子宮内環境が双生児ペアの発達差及び精神病発症危険因子に影響する双胎間輸血症候群（twin-twin transfusion syndrome, TTTS）の事例に着目し、健常一卵性双生児ペアの出生時体重差がその後の脳発達に及ぼす影響について検討した。昨年度は、出生時体重の軽重で分けた 2 群間で、大脳皮質のうち前頭葉皮質特に左前頭極に有意差を認めた。今年度は、脳室系について同様の比較を行った結果、側脳室の左右の前角ならびに第 3 脳室において 2 群間で有意差を認めた。本研究から、一卵性双生児において、子宮内環境のペア内差を反映した出生時体重差という初期の非遺伝的要因が、その後の脳の個体発生過程に影響する可能性が示唆された。特に前頭前野のうち前頭極（Area10）は、個体の発達上非遺伝的要因の影響を受ける脳部位である可能性が高く、前頭葉機能障害が指摘される精神疾患では、当該部位に注目した検索が望まれる。

また、脳発達と髄鞘構築との関連を検討するために脳梁を標的とした DTI 撮像に着手した。

○研究の概要

本研究の目的は、双生児法に発達の視点を加え、発達段階の異なる健常一卵性双生児を対象に脳構造画像（structural MRI, sMRI）データを集積し、ヒト脳のマクロ構造の個体発生（発達）に及ぼす遺伝的要因と非遺伝的（環境）要因の影響を評価することである。

本研究では、第一に、ヒトの発達、特に心理発達の基礎となる脳の各構造（形態）の個体発生に遺伝と環境のいずれの要因が

優位に関与するかをマッピングすること、第二に、このヒト脳の正常発達マップを対照することで、統合失調症をはじめとする精神疾患で異常が指摘される脳部位についてその発達の臨界期ならびに遺伝と環境のいずれの要因が優位に関与するかを知ることが可能となる。このことは、精神疾患の成因と予防に重要な資料を提供するものと期待される。

<研究 I>

A. 研究目的

子宮内環境が双生児ペアの発達差及び精神病発症危険因子に影響する双胎間輸血症候群 (twin-twin transfusion syndrome, TTTS) の事例に着目し、健常一卵性双生児ペアの出生時体重差がその後の脳発達に及ぼす影響について、平成 18 年度では大脳皮質の灰白質領域を対象に検討を行ったが、平成 19 年度は、脳室系を対象に検討した。

B. 研究方法

対象：健常一卵性双生児ペア 9 組 (4y1m, F; 5y1m, F; 5y5m, M; 12y1m, F; 16y3m, M; 18y5m, M; 20y5m, F; 22y5m, F; 35y7m, M) を対象とした。卵性診断には質問紙法および DNA 法 (AmpF/STR, Profiler Kit) を用いた。

脳画像撮像法：Siemens 社製 Magnetom Vision Plus を用いて 3 次元脳構造画像 (3D-MRI) を得た。撮像には mpr シーケンスを用いた (設定条件：TR = 11.4 ms ; TE = 4.4 ms ; TI = 61 ms ; flip angle = 15 deg ; No. of partition = 170 ; matrix = 224 x 256 x 256)。

解析方法：得られた 3 次元脳 MRI 画像から、SPM5 を用いて通常の voxel-based morphometry (VBM) 手法に従い灰白質、白質、脳脊髄液に分離した。脳室系に対する定量的比較のために、脳脊髄液画像を、正常脳脊髄液テンプレートをターゲットにして解剖学的に標準化し、さらに個人差吸収のためスムージングを行った。その後、双生児ペアを出生時体重のペア内の軽重により 2 群に分け、ボクセルごとに対応のある t 検定を行った。有意水準は、 $p < 0.001$ を統計学的に有意とした。

倫理面への配慮：本研究は、国立精神・神経センター倫理委員会武蔵地区部会での

承認を得たものである。検査に際しては、対象者ならびに対象者が若年者の場合には保護者から書面で同意を得た。

C. 研究結果

出生時体重の軽重で分けた 2 群について、脳室系に相当する CSF 密度を比較した結果、側脳室のうち左右の前角吻側、ならびに第 3 脳室尾側において、出生時体重の軽い群が重い群に比べて、脳室容積が有意に大きい傾向を認めた (図 1、図 2)。

D. 考察

昨年度、出生時体重の軽重によって重い群と軽い群の 2 群間比較の結果、出生時体重の重い群が軽い群に比べて左右の前頭極で灰白質密度が有意に高く、特に左前頭極においては、TTTS の診断基準 (Tan et al., 1979) のひとつである出生時体重差が 20% を超えた 2 組のペアで灰白質密度の差が最大であった。このことより、左前頭極皮質の個体発生には、出生時体重差に示される非遺伝的な子宮内環境が影響している可能性がより強く示唆された (Okamoto et al., 2006)。

今回、脳室系に対する検討の結果、出生時体重の軽い群が重い群に比べて側脳室における左右の前角吻側で CSF 容積が有意に大きい傾向を示したことは、昨年度の結果と矛盾しない。

以上より、TTTS など出生時体重差に着目した双生児ペア内比較の結果、大脳の個体発生過程達において、前頭葉、特に左前頭極皮質の個体発生には、非遺伝的要因が関連する可能性が示唆された。加えて出生時体重差に示される子宮内環境はそうした非遺伝的要因のひとつとなりうる可能性が示

されたといえよう。

E. 結論

前頭前野のうちでも前頭極は系統発生的により高次の連合機能を担う部位と推測されている。したがって、今後、統合失調症をはじめ前頭葉機能障害が示唆される精神疾患の双生児不一致例に対して、前頭前野、特に前頭極に注目した形態学的かつ神経心理学的検討を進める必要があるだろう。そこでもし差異が見出されるならば、当該疾患の発症に対する前頭葉機能の関与と、さらにその背景因子としての非遺伝的要因が示唆されることになるであろう。

<研究Ⅱ>

研究Ⅰにおいては、VBM法を用いた双生児脳の検討を行ってきたが、その対象構造は灰白質と脳室系(CSF)に限られ、白質は、その形態学的特徴から他の構造に比べると結果の信頼性が劣ると考え、除外した。

しかしながら、脳の個体発達においては、機能と構造の連関を探る上で、髄鞘構築(myeloarchitecture)の検討は欠かせない。

分担研究者らは、双生児ペアを対象に近年発展しつつあるDTI(Diffusion Tensor Imaging)による脳梁(corpus callosum)を標的としたMRI撮像に着手した。現在までに5組のペアで撮像を行った。

G. 研究発表

1. 論文発表

・齋藤治, 臺弘: 統合失調症の瞬間意識仮説. Schizophrenia Frontier(メディカルレビュー社), Vol.8 No.4: 257-261, 2008

2. 学会発表・その他

・Okamoto N, Saitoh O, Yamashita F,

Tatemichi N, Imamura A, Ohnishi T, and Anami K: An MRI study of neurodevelopmental risk factors for psychosis: a relationship between discordant birth weight and morphological brain development in healthy monozygotic twins. Schizophrenia Res, 86 (2006) S77-8.

(presented at the 5th International Conference on Early Psychosis, Birmingham, UK, October 4-6, 2006)

・岡本長久:「成人期に会う広汎性発達障害」, 2007 年度政策医療ネットワーク精神疾患研修会, 2007 年 2 月, 東京

・長房裕子, 佐藤真由美, 山下典生, 森崎洋平, 伊藤暢厚, 坂本広太, 岡本長久:「うつ病における疾患特異的 SPECT 所見の検討」, 第 103 回日本精神神経学会総会, 2007 年 5 月, 高知

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

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**）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
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

（主任又は**分担**）研究者 陣野 吉廣 琉球大学（院・医）教授

研究要旨：発現活性能を有する LINE-1（L1）の網羅的探索によりヒト全ゲノム配列の中から、ORF1・ORF2とも保存されている L1 配列 146 個を抽出した。HERV 同定と同じ旧来の方法で一次検証を行ったが、飛躍的展開には方法論の開発が必須である。

A. 研究目的：転写活性能を保持しているレトロトランスポゾン の 1 つである LINE-1（L1）をヒト全ゲノム配列の中から探索・同定する。これらは DNA メチル化のターゲットであり、環境要因と病像形成遺伝子を結ぶ仲介者の役割を担うものとして注目している。

B. 研究方法：ゲノム DNA からのアプローチを試みた。ヒト全ゲノム配列（Build 36.1）から完全長の L1 を選び出した（照合元は L1.3）。次に、これら L1 の 1 つ 1 つに対して ORF1 のアミノ酸配列が保存されているか調べた。更に、保存されている L1 について ORF2 の保存状態を調べて候補となる L1 を絞り込んだ。

データベース解析で得られた候補 L1 の転写活性能について、実験での検証を試みた。方法には、HERV 同定に用いた RT-PCR 産物のクローン化配列解析を適用した。

（倫理面への配慮）

当該研究は倫理面の問題がないと判断した。データベース解析と特定不能な 1 例の RNA を材料とした基礎的実験故。

C. 研究結果：ヒト全ゲノム配列から 5,134 個の L1 配列を得た。このうち 745 個が ORF1 のアミノ酸配列を保持していた。更に ORF2 を調べ、最終的に 146 個の候補 L1 を抽出した。5' UTR と ORF2 に設定した二組のプライマーによる RT-PCR とクローン化した増幅産物の配列解析によって上記結果の検証を試みた。解析クローン数は 203 及び 200。146 個の L1 のうち 7 個が検出された。双方の PCR で共通して検出された L1 ローカスが 9 つあった。ゲノム DNA の PCR と比較したとき、

サブファミリーの分布が異なり、同じ配列が複数のクローンに検出される頻度が高く有意の差が認められた。

D. 考察：HERV に比べ L1 は数が多い。転移による疾患も多数ある。従って、転写活性能を保持している L1 が多数検出されると期待した。旧来の方法は結果が示すように有効ではあるが、母集団が大きくて無力に近いと認識した。もっと効率的な方法の開発が必須である。

E. 結論：転写活性能を持つ L1 の網羅的探索を行った。146 個の候補 L1 を抽出したが、確度の高いローカスを同定するに至らなかった。画期的方法の開発が必須である。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. **論文発表：**神山 聡子，小田 高也，陣野 吉廣：生物活性または発現活性を保持している LINE1（L1）のゲノムワイド探索（Ryukyu Medical Journal 投稿中）

2. **学会発表：**神山聡子 他：ゲノム解析による活性 LINE1 の同定と機能性精神疾患とのかかわり。第 15 回日本精神・行動遺伝医学会，2007，東京。

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

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：**なし
3. **その他：**なし

研究成果の刊行一覧表（平成 19 年度）

加藤 忠史

氏名	タイトル	雑誌／書籍名	巻	頁	年
Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Ozaki N, Iwata N, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Imamura A, Okazaki Y, Kato T.	Up-regulation of ADM and SEPX1 in the lymphoblastoid cells of patients in monozygotic twins discordant for schizophrenia.	Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.			2007
Kato T, Kakiuchi C, Iwamoto K	Comprehensive gene expression analysis in bipolar disorder	Can J Psychiatry	J 52 (12)	763-71	2007
McGowan PO, Kato T	Epigenetics in mood disorders	Environmental Health and Preventive Medicine			in press
加藤忠史	気分障害のエピジェネティクス	分子精神医学 8		38-44	2008

岡崎 祐士

氏名	タイトル	雑誌／書籍名	巻	頁	年
谷井久志、西村幸香、音羽健司、佐々木司、貝谷久宣、岡崎祐士	精神疾患の分子病態：パニック障害研究の現状と展望	実験医学増刊「脳神経疾患の分子病態と治療への展開」(貫名信行、西川徹編)	25(13)	2061-2066	2007
谷井久志、井上頤、西村幸香、梶木直美、貝谷久宣、佐々木司、岡崎祐士	パニック障害の遺伝子探索	脳と精神の医学	18(1)	1-7	2007