

- paroxetine-induced nausea. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008 Apr;11(2):261-7. Epub 2007 Aug 13.
45. Maeno N, Takahashi N, Saito S, Ji X, Ishihara R, Aoyama N, Branko A, Miura H, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Iwata N, Inada T, Ozaki N. Association of SOX10 with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatr Genet.* 2007 Aug;17(4):227-31.
46. Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M. Identification of functional polymorphisms in the promoter region of the human PICK1 gene and their association with methamphetamine psychosis. *Am J Psychiatry.* 2007 Jul;164(7):1105-14.
47. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Kishimoto M, Okahisa Y, Kotaka T, Harano M, Inada T, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. The glycine transporter 1 gene (GLYT1) is associated with methamphetamine-use disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007 Jun 20; [Epub ahead of print]
48. Kishimoto M, Ujike H, Motohashi Y, Tanaka Y, Okahisa Y, Kotaka T, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. The Dysbindin Gene (DTNBP1) Is Associated with Methamphetamine Psychosis. *Biol Psychiatry.* 2007 Jun 5; [Epub ahead of print]
49. Tomita Y, Ikeda M, Mutoh H, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Honda H. Association study between Apolipoprotein L and schizophrenia by exhaustive and rule-based combination analysis for identification of multilocus interactions. *J Biosci Bioeng.* 2007 Apr;103(4):303-10.
50. Kuratomi G, Iwamoto K, Bundo M, Kusumi I, Kato N, Iwata N, Ozaki N, Kato T. Aberrant DNA methylation associated with bipolar disorder identified from discordant monozygotic twins. *Mol Psychiatry.* 2007 May 1; [Epub ahead of print]
51. Tabuse H, Kalali A, Azuma H, Ozaki N, Iwata N, Naitoh H, Higuchi T, Kanba S, Shioe K, Akechi T, Furukawa TA. The new GRID Hamilton Rating Scale for Depression demonstrates excellent inter-rater reliability for inexperienced and experienced raters before and after training. *Psychiatry Res.* 2007 Sep 30;153(1):61-7.
52. Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, Nakajima M, Tanaka K, Kawagishi N, Nemoto K, Mori T, Ohnishi T, Noguchi H, Hori H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Nakabayashi T, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Kunugi H, Baba A. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2007 Mar 27; [Epub ahead of print]
53. Norton N, Williams HJ, Dwyer S, Carroll L,

- Peirce T, Moskvina V, Segurado R, Nikolov I, Williams NM, Ikeda M, Iwata N, Owen MJ, O'donovan MC. Association analysis of AKT1 and schizophrenia in a UK case control sample. *Schizophr Res.* 2007 Jul;93(1-3):58-65.
54. Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Albalushi T, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Muratake T, Someya T, Arinami T. Failure to confirm the association between the FEZ1 gene and schizophrenia in a Japanese population. *Neurosci Lett.* 2007 May 7;417(3):326-9.
55. Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Muratake T, Someya T, Arinami T. PICK1 is not a susceptibility gene for schizophrenia in a Japanese population: Association study in a large case-control population. *Neurosci Res.* 2007 Jun;58(2):145-8.
56. Saito S, Takahashi N, Ishihara R, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Iwata N, Yamada M, Yoshida K, Inada T, Ozaki N. Association Study between Vesicle-Associated Membrane Protein 2 Gene Polymorphisms and Fluvoxamine Response in Japanese Major Depressive Patients. *Neuropsychobiology.* 2006;54(4):226-30.
57. Ikeda M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Suzuki T, Kitajima T, Kinoshita Y, Inada T, Iwata N. No association between the glutamate decarboxylase 67 gene (GAD1) and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res.* 2007 Mar;91(1-3):22-6.
58. Ohnishi T, Yamada K, Ohba H, Iwayama Y, Toyota T, Hattori E, Inada T, Kunugi H, Tatsumi M, Ozaki N, Iwata N, Sakamoto K, Iijima Y, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nanko S, Osumi N, Detera-Wadleigh SD, Kato T, Yoshikawa T. A Promoter Haplotype of the Inositol Monophosphatase 2 Gene (IMPA2) at 18p11.2 Confers a Possible Risk for Bipolar Disorder by Enhancing Transcription. *Neuropsychopharmacology.* 2007 Aug;32(8):1727-37.
59. Ikeda M, Ozaki N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kishi T, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Inada T, Iwata N. Possible association of beta-arrestin 2 gene with methamphetamine use disorder, but not schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 2007 Feb;6(1):107-12.
60. Deng X, Shibata H, Takeuchi N, Rachi S, Sakai M, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association study of polymorphisms in the glutamate transporter genes SLC1A1, SLC1A3, and SLC1A6 with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2007 Apr 5;144(3):271-8.
- 2006**
61. Iidaka T, Matsumoto A, Ozaki N, Suzuki T, Iwata N, Yamamoto Y, Okada T, Sadato N. Volume of left amygdala subregion predicted temperamental trait of harm avoidance in female young subjects. A voxel-based morphometry study. *Brain Res.* 2006 Dec 13;1125(1):85-93.

62. Morio A, Ujike H, Nomura A, Tanaka Y, Morita Y, Otani K, Kishimoto M, Harano M, Inada T, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. No association between CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) gene and methamphetamine dependence. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Aug;1074:411-7.
63. Nomura A, Ujike H, Tanaka Y, Kishimoto M, Otani K, Morita Y, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association study of the tumor necrosis factor- α gene and its 1A receptor gene with methamphetamine dependence. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Aug;1074:116-24.
64. Ujike H, Sakai A, Nakata K, Tanaka Y, Kodaka T, Okahisa Y, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association study of the dihydropyrimidinase-related protein 2 gene and methamphetamine psychosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Aug;1074:90-6.
65. Ishiguro H, Horiuchi Y, Koga M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Muratake T, Someya T, Arinami T. RGS4 is not a susceptibility gene for schizophrenia in Japanese: Association study in a large case-control population. *Schizophr Res.* 2007 Jan;89(1-3):161-4.
66. Usui H, Takahashi N, Saito S, Ishihara R, Aoyama N, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Yoshida K, Iwata N, Inada T, Ozaki N. The 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase and oligodendrocyte lineage transcription factor 2 genes do not appear to be associated with schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res.* 2006 Dec;88(1-3):245-50.
67. Aoyama N, Takahashi N, Kitaichi K, Ishihara R, Saito S, Maeno N, Ji X, Takagi K, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Iwata N, Inada T, Ozaki N. Association between gene polymorphisms of SLC22A3 and methamphetamine use disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006 Oct;30(10):1644-9.
68. Hashimoto R, Numakawa T, Ohnishi T, Kumamaru E, Yagasaki Y, Ishimoto T, Mori T, Nemoto K, Adachi N, Izumi A, Chiba S, Noguchi H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Kamiya A, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Sawa A, Kunugi H. Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression, brain morphology and ERK signaling. *Hum Mol Genet.* 2006 Oct 15;15(20):3024-33.
69. Suzuki A, Nakamura K, Sekine Y, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Matsuzaki H, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N. An association study between catechol-O-methyl transferase gene polymorphism and methamphetamine psychotic disorder. *Psychiatr Genet.* 2006 Aug;16(4):133-8.
70. Nakamura K, Chen CK, Sekine Y, Iwata Y, Anitha A, Loh el-W, Takei N, Suzuki A, Kawai M, Takebayashi K, Suzuki K, Minabe Y, Tsuchiya K,

- Yamada K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Ball DM, Yoshikawa T, Lin SK, Mori N. Association analysis of SOD2 variants with methamphetamine psychosis in Japanese and Taiwanese populations. *Hum Genet.* 2006 Sep;120(2):243-52.
71. Kobayashi H, Hata H, Ujike H, Harano M, Inada T, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Ozaki N, Itokawa M, Naka M, Ide S, Ikeda K, Numachi Y, Sora I. Association analysis of delta-opioid receptor gene polymorphisms in methamphetamine dependence/psychosis. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2006 Jul 5;141(5):482-6.
72. Aoyama N, Takahashi N, Saito S, Maeno N, Ishihara R, Ji X, Miura H, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Yoshida K, Iwata N, Inada T, Ozaki N. Association study between kynurenine 3-monooxygenase gene and schizophrenia in the Japanese population. *Genes Brain Behav.* 2006 Jun;5(4):364-8.
73. 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 brain-derived neurotrophic factor gene in Japanese patients with bipolar disorder. *Psychiatr Genet.* 2006 Apr;16(2):49-50.
74. Nomura A, Ujike H, Tanaka Y, Otani K, Morita Y, Kishimoto M, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Genetic variant of prodynorphin gene is risk factor for methamphetamine dependence. *Neurosci Lett.* 2006 May 29;400(1-2):158-62.
75. Takahashi N, Ishihara R, Saito S, Maemo N, Aoyama N, Ji X, Miura H, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N, Inada T. Association between chromogranin A gene polymorphism and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res.* 2006 Apr;83(2-3):179-83.
76. Kishi T, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N, Iwata N. No association of complexin1 and complexin2 genes with schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res.* 2006 Feb 28;82(2-3):185-9.
77. Ide S, Kobayashi H, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Iwata N, Tanaka K, Shen H, Iwahashi K, Itokawa M, Minami M, Satoh M, Ikeda K, Sora I. Linkage disequilibrium and association with methamphetamine dependence/psychosis of mu-opioid receptor gene polymorphisms. *Pharmacogenomics J.* 2006 May-Jun;6(3):179-88.
- 2 0 0 5
78. 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.
79. Shibata H, Aramaki T, Sakai M, Ninomiya H, Tashiro N, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association study of polymorphisms in the GluR7, KA1 and KA2 kainate receptor genes (GRIK3, GRIK4, GRIK5) with schizophrenia. *Psychiatry Res.* 2006 Jan 30;141(1):39-51.
80. Ikeda M, Iwata N, Kitajima T, Suzuki T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N. Positive Association of the Serotonin 5-HT(7) Receptor Gene with Schizophrenia in a Japanese Population. *Neuropsychopharmacology.* 2006 Apr;31(4):866-71.
81. Ohgake S, Hashimoto K, Shimizu E, Koizumi H, Okamura N, Koike K, Matsuzawa D, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Shirayama Y, Iyo M. Functional polymorphism of the NQO2 gene is associated with methamphetamine psychosis. *Addict Biol.* 2005 Jun;10(2):145-8.
82. Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N. No association of serotonin transporter gene (SLC6A4) with schizophrenia and bipolar disorder in Japanese patients: association analysis based on linkage disequilibrium. *J Neural Transm.* 2006 Jul;113(7):899-905.
0. 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。

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告書（H18-20）

統合失調症における周産期障害の分子病態の解析と治療薬の開発

分担研究者；那波 宏之 新潟大学脳研究所 教授

研究要旨

周産期障害による統合失調症の発症仮説にもとづいて、脳内炎症モデル動物を作製し、その分子病態と薬物反応を解析することで創薬シーズを探索することを本研究の目標とした。上皮成長因子などのサイトカインの投与で作製した動物は、プレパルスインヒビションと社会行動が傷害されており、主にドーパミン系もしくはプロスタグランジン合成系に異常を呈した。これらの動物を統合失調症モデルとして、COX 2 阻害剤、フタルイミド系化合物ならびにアントラキノン系化合物、キアノゾリン化合物の抗精神病薬活性を評価した。アントラキノン系化合物とキアノゾリン化合物は主にプレパルスインヒビションを主とする陽性行動異常を改善したのに対し、フタルイミド系化合物は、社会行動に代表される陰性行動指標を改善した。これらの結果は、これらの抗炎症薬、キナーゼ阻害薬が今後、抗精神病薬として応用できる可能性を示唆している。

A. 研究目的

統合失調症のリスク因子として、出産障害や妊娠母体ウイルス感染が取りざたされている。これらの現象は、未熟な時期での全身性炎症が、サイトカインを介して脳神経発達を傷害するものと理解されている。本研究では、サイトカインを新生仔期に末梢投与した動物を周産期障害の統合失調症モデルとして利用し、その統合失調症モデルとしての妥当性を薬理的、行動学的に評価し、治療薬開発の手がかりを探索する計画を立てた。その上で、神経発達障害仮説に基づくその他の統合失調症動物モデルと共に、各種抗炎症剤の認知行動異常に与える影響を薬理的、行動学的に評価し、治療薬開発の手がかりを探索した。初年度においては、脳血液関門が透過できないキアノゾリン系 EGF 阻害剤を頭蓋内投与して、その薬効

を評価した。次年度においては、経口投与が可能な抗炎症剤 2 剤、エモジンと COX 阻害剤に関しての評価を、最終年度においては炎症調節作用からリウマチや ALS 等への開発が検討されているフタルイミド系化合物を評価した。

B. 研究方法

①新生仔上皮成長因子モデルの作製

動物は、SD ラット（日本 SLC）生後 2 日齢より使用した。試薬は、組替え上皮成長因子（EGF）、コントロールとしてチトクローム・C（Sigma）を生理食塩水に溶解させた。生後 2 日目より毎日計 9 回（生後 10 日目まで）、頸部にラット体重 1g 当たり 0.5 マイクログラム皮下投与した。

②イボテン酸海馬障害モデルの作製

動物は、SD ラット（日本 SLC）生後 8-9 日

齢 (15-20 グラム) より使用した。氷を用いた低温麻酔を実施、テイルピンチテストで無反応を確認後、脳固定装置を用いてブレグマ後方 3mm 両側方 3.5mm 深さ 5mm に 28 ゲージ針を挿入し、イボテン酸溶液 (10mg/mL) を 0.3 マイクロ L 注入し、腹側海馬を破壊した。

③ポリ I C 投与モデルの作製

動物は、妊娠 SD ラット (日本 SLC ; プラグ後 16 日) を使用した。2 本鎖ポリ I C を 5 mg/kg 体重で一回、尾静脈に注射した。その仔マウスを 2 ヶ月齢まで育てて、モデル動物として利用した。また、コントロールとしては、生理食塩水を尾静脈注射された母ラットから生まれた仔マウスを使用した。

③メタアンフェタミン投与モデルの作製

動物は、SD ラット (日本 SLC ; オス) 2 ヶ月齢を使用した。メタアンフェタミンを腹腔内に 1mg/kg 体重で一回、もしくは毎日 (計 5 回) 投与した。エモジン (50mg/kg) は、ラット経口ゾンデを使用して、メタアンフェタミンの投与前に、もしくはその投与後に毎日 (計 5 回) 強制投与した。

④上皮成長因子の脳内投与急性モデルの作製

動物は、SD ラット (オス、日本 SLC) 生後 2 か月齢で使用した。試薬は、組替え上皮成長因子 (EGF) を生理食塩水に溶解させ、浸透圧ミニポンプ (AZLET モデル 2002) に充填した。線条体に固定したカニューレより 1 日当たり 1.8 マイクログラムを 2 週間に渡り脳内投与した。

⑤音驚愕反応の測定

小動物驚愕反応測定装置 (San Diego Instruments) にて驚愕反応強度およびプレパルスインヒビションを測定した。驚愕反応を誘発する感覚刺激としては、音刺激 (120 dB) を用い、プレパルス刺激として環境騒音レベルより 5, 10, 15 デシベル高い音圧の刺激を与えた。120 dB 単独の時の驚愕反応とプレパルスを組み合わせた時の反応比の減少分をプレパルスインヒビション (PPI) とした。

⑥運動量の測定と社会行動の測定

赤外線によるラット用の自動運動量測定装置 (Med Associates) にてラットの水平・垂直運動量を測定した。1 時間後の新規環境になれた時

点で、異なるケージ育った同性の標的ラットを測定装置中に入れ、モデルラットの標的ラットに対する社会行動 (匂いカギ、追尾、マウンティング) を計測した。

⑦上皮成長因子受容体阻害剤の脳室投与

キアノゾリン系 ErbB1 阻害剤は DMSO に溶解させ生理食塩水で 10 倍に希釈した (PD153035; 1mg/mL, ZD1835; 1mg/mL, OSI-774; 0.1mg/mL)。また、コントロールには同濃度の DMSO 溶液を使用した。ラットは麻酔下で 28 ゲージのカニューレをブレグマの 0.3mm 前方、1.2mm 側方に歯科用ドリルで頭蓋骨に開けた穴に、深さ 4.5mm で埋め込み、歯科用セメント等を用いて固定した。脳室に埋め込んだカニューレの端には、プラスチックチューブを接続し、浸透圧ポンプ (AZLET モデル 2002) に連結させ、そのポンプ自身は、ラットの背中下の皮下に挿入した。

(倫理面への配慮)

これらの動物実験は、新潟大学動物実験倫理委員会からその実験法についての承認を得て実施した。

C. 実験結果

①ドーパミン受容体 D2 の感受性亢進

EGF の新生仔皮下投与で作製された統合失調症モデルラットは、PPI において高いドーパミン受容体感受性を示した。D1 系と D2 系のドーパミン受容体のサブタイプの関与を、更にドーパミン受容体特異的アゴニストを用いて検討した結果、D2 アゴニストに対し高い感受性を示していることが判明した。

②新生仔 EGF 投与モデルにおける恒常的な上皮成長因子シグナル異常

新生仔 EGF 投与モデル動物を成長させた後、前頭様、線条体、海馬、視床下部を調べたところ、海馬で、恒常的な ErbB1 活性化が観察された。その生理機能を調べるために、抗癌剤として開発された ErbB1 阻害剤 (PD153035、ZD1835、OSI-774) を本モデルラットの脳室内に投与し、EGF シグナルの抑制を試みた。結果、ErbB1 阻害剤をポンプ投与されたモデルラットでは、PPI をはじめとする認知障害が著しく改善されてい

た。

③新生仔海馬障害モデルにおける上皮成長因子シグナル異常

統合失調症モデル動物として Lipska らが開発した新生仔海馬障害モデルと上皮成長因子の関係を探索したところ、海馬障害にともなって磷酸化 ErbB1 のレベル上昇、つまり EGF シグナルの活性化が起きていることを発見した。ErbB1 の活性化は、成長後にまで持続していたので、抗癌剤として開発された ErbB1 阻害剤 (PD153035) を本モデルの脳室内に投与したところ、PPI をはじめとする認知障害が著しく改善された。

④プロスタグランジン合成阻害剤の効果

EGF を成熟したラットの脳内 (線条体) に慢性投与してやると、ドーパミンの合成と代謝が亢進するとともに、ドーパミンに関連するプレパルスインヒビションなどの行動異常が誘発されることを見出した。この動物ではプロスタグランジン合成酵素 COX-2 が脳内で誘導されていた。そこで、阻害剤であるセレコキシブを経口で、この EGF 慢性投与ラットに与えたところ、プレパルスインヒビション、ラテント学習能ともに、正常方向に大きく改善が見られた。

⑤エモジンの抗精神病薬作用

キアノゾリン系 EGF 阻害活性と同様の活性を有する漢方薬成分のエモジンについて、EGF 新生仔投与モデル、新生仔海馬障害モデルを用いて、エモジンの慢性経口投与の影響を調べた。いずれのモデルにおいても、経口投与で PPI 指標を著しく改善した。

このエモジンの抗精神病薬活性が、このモデルだけではなく一般性を有する薬効であるかどうかを確認する目的で、覚せい剤 (メタアンフェタミン) の運動誘発作用に対する拮抗作用を検討した。まず、エモジンを5日間、事前投与したラットと、そうでないラットに対し、メタアンフェタミンを急性投与した場合、エモジンの事前投与を受けていたラットは、メタアンフェタミンによる運動量亢進レベルが、半分にまで抑制された。

⑥フタルイミド系化合物の抗精神病薬作用

フタルイミド系化合物からサリドマイド (100mg/kg)、レナリドマイド (50mg/kg) を選択し、経口で7回 (7日) 投与して、その効果を、

PPI と運動量、社会行動を指標に評価した。サリドマイドの PPI に対する効果については、EGF 投与モデル、ポリ IC モデル、いずれのモデルでも、無視できるか、もしくは極めて微弱であった。一方、これらモデルの低下した社会行動については、ともに改善させることが判明した。レナリドマイドについては、EGF 投与モデルと新生仔海馬障害モデルでの解析が済んでいる。レナリドマイドでは、EGF モデルの社会行動指標を有意に改善させた。しかし、PPI に対しては、モデルにより効果が異なった。また逆に、新生仔海馬障害モデルでは、PPI 障害を顕著に改善したにもかかわらず、その低い社会行動には影響を与えなかった。このように、使用した統合失調症の動物モデル間で、その薬効に差異があった。

D. 考察

EGF は胎児中脳ドーパミン神経に栄養活性を発揮してすることが知られている。今回わかった EGF 投与モデルの D2 感受性の亢進は、EGF 投与による生後のドーパミン神経の過剰発達と関係していると推察される。実際に認知行動学測定において、異常値を呈した試験は、PPI やラテント学習能などドーパミンシグナルとの関係が知られているものばかりであった。

新生仔動物への EGF 投与後、内在性の当該シグナルはどんな影響を受けているのか? EGF モデルの成熟後の脳内で起こっているシグナル変化を解析してみたところ、ErbB1 の恒常的なリン酸化亢進が海馬で観察された。この事実は、以前の実験データ「EGF の成熟ラットへの脳内 EGF 投与でも認知行動異常が再現される」こと、今回のデータ「ErbB1 阻害剤の脳室内投与は、モデルで見られた認知行動異常を改善する」ことと一致する。これらの実験結果は、新生仔での EGF 暴露が、その後、脳内で当該サイトカインシグナルを感化、活性化させ、認知行動異常を引き起こしている可能性を示唆する。

セレコキシブは COX2 の選択的阻害剤であり、ドイツのミュラー博士らが統合失調症患者へのリスペリドンとの共投与により、その症状をより改善できることを報告した薬物である。本研究では、EGF の急性脳内投与モデルにおける認知行

動異常を、その慢性経口投与により改善することが判明した。しかし、セレコキシブの抗精神病活性は、他の統合失調症の動物モデルにおいて確認できていない。たとえば EGF の新生仔投与モデルや海馬障害モデルでは、有効性はあきらかでないため、セレコキシブの効果は統合失調症に対し普遍的に表れるものではないと推定される。

一方、今回試験したエモジンは、EGF の新生仔投与モデルや海馬障害モデル、メタアンフェタミンモデル、このいずれにも有効であり、陽性症状に関連する中間表現型の行動指標を改善する。このエモジンと呼ばれる物質は、大黄の漢方成分でアントラキノン系の化合物であり、弱い下剤として用いられている。EGF の受容体 ErbB2 を含むチロシンキナーゼの阻害活性を有し、中国医学では抗癌剤としての応用もはかられている物質である。ラットへの慢性投与では、経口投与 1-2 日間は軟便で体重低下がみられたものの、その後は耐性化して軟便がなくなり体重上昇に転じている。今後、ヒトへの適用を考える際には、詳細な副作用評価が必要と考えられる。

試験したフタルイミド系化合物 (サリドマイドとレナリドマイド) は、EGF の新生仔投与モデルや海馬障害モデル、ポリ IC モデルの認知行動異常の改善に有効であるが、これらの 2 薬でその効果には差異が見られた。サリドマイドはレナリドマイドに比較して、陽性症状に関連するプレパルスインヒビションにおいて、効果が弱い傾向を呈した。両者ともに陰性症状に関連する中間表現型の行動指標を改善する能力があることも判明した。行動学的な指標を見る限りにおいて、今回実施したような 1 週間連続投与でも、大きな行動学的な副作用は観察されていない。もちろん催奇形性を大きな問題点ではあるが、本薬物の使用が厳重に管理される限りにおいて、本化合物は妊娠可能性の無い高齢の入院患者への適用などが検討できるかもしれない。

E. 結論

炎症性サイトカインのシグナルを阻害するキアノゾリン系化合物とエモジンには、主に陽性症状との関連が深いプレパルスインヒビションを改善する薬効があり、炎症性サイトカインの合成を

阻害するフタルイミド系化合物には、主に陰性症状との関連性がある社会行動低下を改善させる活性があった。これらの化合物とその誘導体は、抗精神病薬に対するリード化合物として有望であることが結論付けられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nawa H, Takei N. Recent progress in animal modeling of immune inflammatory processes in schizophrenia: implication of specific cytokines. *Neurosci Res* 56(1): 2-13 (2006).
- 2) 津田法子、任海 学、渡部雄一郎、染矢俊幸、那波宏之. サイトカインを用いた統合失調症のマウスモデル—環境・遺伝子の相互作用—*脳と精神の医学* 17 巻 1 号 53-58 (2006).
- 3) Tohmi M, Tsuda N, Zheng Y, Mizuno M, Sotoyama H, Shibuya M, Kawamura M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H. The cellular and behavioral consequences of interleukin-1 alpha penetration through the blood-brain barrier of neonatal rats: a critical period for efficacy. *Neuroscience*. 150(1):234-250 (2007).
- 4) Mizuno M, Sotoyama H, Narita E, Kawamura H, Namba H, Zheng Y, Eda T, Nawa H. A cyclooxygenase-2 inhibitor ameliorates behavioral impairments induced by striatal administration of epidermal growth factor. *J Neurosci*. 27(38):10116-10127 (2007).
- 5) Tsuda N, Mizuno M, Yamanaka T, Komurasaki T, Yoshimoto M, Nawa H. Common behavioral influences of the ErbB1 ligands transforming growth factor alpha and epiregulin administered to mouse neonates. *Brain Dev*. 30(8): 533-543 (2008).
- 6) Mizuno M, Kawamura H, Takei N, Nawa H. The anthraquinone derivative Emodin ameliorates neurobehavioral deficits of a

- rodent model for schizophrenia. *J Neural Transm.* 115(3):521-530 (2008).
- 7) Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Noguchi E, Morikawa M, Suzuki Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Kunugi H, Sasaki T, Takahashi M, Watanabe Y, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Supportive evidence for reduced expression of GNB1L in schizophrenia. *Schizophr Bull.* Nov 14. [Epub ahead of print] (2008).
 - 8) 那波宏之、渡部雄一郎、染矢俊幸；統合失調症におけるサイトカインの機能と役割 *Brain Medical* 20巻；167-172 (2008).
 - 9) Namba H, Zheng Y, Abe Y, Nawa H. Epidermal growth factor administered in the periphery influences excitatory synaptic inputs onto midbrain dopaminergic neurons in postnatal mice. *Neuroscience.* Nov 7. [Epub ahead of print] (2009).
- ## 2. 学会発表
- 1) Nawa H, Kato T, Abe Y, Mizuno M, Takei N, Ozaki M: Neonatal exposure to neuregulin-1 results in distinct behavioral abnormalities in mice; comparison with other cytokine treatments. *Schizophrenia Congress, Colorado Springs USA* (2007).
 - 2) Tsuda N, Mizuno M, Nawa H: Neonatal administration of ErbB1 ligands commonly induce postpubertal cognitive behavioral changes. *Soc Neurosci Abstr.* 36: 587.5 (2006).
 - 3) Mizuno M, Narita E, Kawamura H, Eda T, Nawa H.: Striatal epidermal growth factor signals influences dopamine metabolism and functions. *Soc Neurosci. Abstr.* 36: 589.7 (2006).
 - 4) Aoki H, Mizuno M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Yokoyama M: A schizophrenia model established by maternal viral infection; contribution of inflammatory cytokines. 第28回日本神経化学会・第28回日本生物学的精神医学会(名古屋)(2006).
 - 5) Tsuda N, Eda T, Mizuno M, Sotoyama H, Nawa H: Minocycline improves cognitive and behavioral impairments resulted from neonatal exposure to interleukin-1. *The 37th Society for Neuroscience Meeting* (2007.11. San Diego).
 - 6) Zheng Y, Iwakura Y, Takada M, Namba H, Takei N, Kakita A, Takahashi H, Nawa H: EGF receptor expression of nigral dopamine neurons in human and monkey; impact on Parkinsonism. *The 37th Society for Neuroscience Meeting* (2007.11. San Diego).
 - 7) 川村宏樹、水野誠、那波宏之：統合失調症モデルの認知行動機能障害に対するエモジンの効果。第50回日本神経化学会2007年9月10-12日、横浜。
 - 8) 今野公博、熊谷春乃、荒木一明、糸原重美、那波宏之：ErbB1遺伝子改変動物の作製および行動解析。第50回日本神経化学会2007年9月10-12日、横浜。
 - 9) 難波寿明、阿部祐一、那波宏之：幼若期上皮成長因子投与マウスの全党皮質、海馬におけるGABA抑制機能の低下、第30回日本神経科学会2007年9月10-12日、神戸。
 - 10) 岩倉百合子、鄭英君、青木弘行、中井正三、武井延之、那波宏之：上皮成長因子ファミリーのドーパミン神経細胞に対する栄養因子活性。第80回日本生化学会2007年12月11-15日、横浜。
 - 11) Nawa H: Epidermal Growth Factor Challenge to A Cynomolgus Monkey Neonate and Its Behavioral Consequences. *The 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress, 11 July 2008, Toyama.*
 - 12) 那波宏之：名城大学学術フロンティア特別講演会、2008年5月27日、名古屋。
 - 13) Nawa H: Molecular and behavioral analyses of a non-human primate model for schizophrenia. 第31回日本分子生物学会年会/第81回日本生化学会大会合同大会(BMB2008)、2008年12月12日、神戸。

- 14) 那波宏之、加藤泰介、阿部祐一、外山英和、
難波寿明、水野 誠：ニューレグリン・EGF
シグナル阻害剤が有する抗精神病活性、第
51回日本神経化学学会大会、2008年9月12
日、富山。
- 15) 那波宏之：脳発達障害のモデル研究；サイ
トカインの関与、第38回新潟神経学夏季セ
ミナー、2008年8月29日、新潟。
- 16) 加藤泰介、水野 誠、那波宏之：新生仔期
ニューレグリン1—ペータ1暴露は成熟後の
MK801感受性を増強する、第51回日本
神経化学学会大会、2008年9月12日、富山。
- 17) 外山英和、那波宏之：新生期上皮成長因子
によるドーパミンD2受容体感受性の亢進と
大脳基底核GABA作動性路に対する影響、
第51回日本神経化学学会大会、2008年9月12
日、富山。
- 18) 水野 誠、鄭 英君、川村宏樹、渋谷雅子、
朴 英善、外山英和、江田岳誉、那波宏之：
イボテン酸投与統合失調症モデルラットにお
けるチロシン受容体阻害剤の効果、第51回
日本神経化学学会大会、2008年9月13日、富
山。

H. 知的財産権の出願・登録状況

那波宏之；サリドマイドまたはその誘導体を有効成分とする統合失調症の治療薬 特願
2008-287997 2008(平20)年11月10日提出

BDNF 関連分子測定系の確立

分担研究者 小島正己

産業技術総合研究所・セルエンジニアリング研究部門

バイオインターフェース研究グループ・チーム長

研究要旨

「統合失調症と BDNF」に関する研究の中で、神経細胞死や LTDなどを促進することが報告されている前駆体 BDNF (proBDNF) に関して、その定量法 (ELISA) を確立し、精神疾患患者およびモデルマウスの血中 proBDNF が有意に上昇していることを見出した。さらに、測定精度を高めるために ProBDNF の特異的抗体のより優れた作製を行い、精神疾患患者およびモデルマウスの血中 proBDNF を高感度に検出する抗体、さらには、抗体治療法の作製に貢献するモノクローナル抗体候補を60種以上見いだした。proBDNF と精神疾患発症の関連および創薬研究の方向性が期待される。

A. 研究目的

「統合失調症と BDNF」に関する研究の中で、神経細胞死や LTDなどを促進することが報告されている前駆体 BDNF (proBDNF) に関して、その定量法 (ELISA) を確立し、総括代表者の保有する疾患患者血漿サンプルと研究分担者の作製した proBDNF 高発現マウスを用いて、proBDNF が統合失調症をはじめとする精神疾患のバイオマーカーおよび標的分子である可能性を検証する。

B. 研究方法

研究分担者が作製してきた proBDNF に対する特異的抗体 (rabbit および chick) と proBDNF 蛋白質を用いて、ヒト血漿と proBDNF 高発現マウス血漿中の proBDNF が定量的に測定可能なサンドイッチ ELISA の条件を最適化し、ヒト血漿 800 検体およびマウスサンプルを用いたアッセイを行った。さらに、精度の高い測定系の確立をめ

ざして、proBDNF に対するモノクローナル抗体の作製を既報に従って行った。抗原として proBDNF のプロペプチド配列などを用いた。モノクローナル抗体候補を ELISA とピックアップ法により純化を行った。得られた抗体候補は、マウス脳ライゼートを用いたウエスタンブロット、ELISA 等を用いてその特異性を確認した。

ヒト検体の実験は、総括研究者の所属機関の倫理指針、マウスの実験は、申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定に基づいて行った。

C. 研究結果

組み換え proBDNF 蛋白質をもちいて、ダイナミックレンジが ng-pg/ml となるサンドイッチ ELISA を構築した。使用した抗体に他の神経栄養因子類 (NGF, NT-3, NT-4/5, proNGF, proNT-3) に対する cross-reactivity がないこと、BDNF ノックアウトマウス由来の脳 lysate では ELISA の反応性が検出感度以下であった。

総括研究者の研究室で保管されていたヒト血漿 800 検体を用いてアッセイを行った結果、うつ病患者群において、アッセイ値の有意な上昇が見られた ($p < 0.001$, compared to Control group)。しかし、統合失調症、躁うつ病患者群では、アッセイ値に有意な差は見出されなかった。血中 proBDNF と疾患の関連は、モデルマウスにおいても再現された。つまり、分担者が作製した proBDNF 高発現マウスの脳組織と血中の proBDNF 含量は、同腹のコントロールマウスに比べて 10 倍以上に増加していた。

抗体作成に関しては、組み換え proBDNF 蛋白質、プロペプチド蛋白質、マウス脳ライゼート、総括研究者の有するヒト血清などを持ちて、作製抗体に他の神経栄養因子類 (NGF, NT-3, NT-4/5, proNGF, proNT-3) に対する cross-reactivity がないこと、BDNF ノックアウトマウス由来の脳 lysate では反応性が検出感度以下であることを見いだした。

上記アッセイの結果として、モノクローナル抗体候補 60 種類以上の同定に成功し、この中から、脳の内在性 proBDNF、血中 proBDNF を特異的に検出するものをさらに探索中である。

D. 考察

BDNF の機能異常と精神疾患の関連が近年指摘されているが [Martinowich, Nat. Neurosci. 2007]、本研究では、BDNF の一分子種である proBDNF に注目し、その高感度測定系 ELISA の確立と精神疾患との関連をヒト血漿検体とモデルマウスを用いて行った。本年度の研究結果は、うつ病診断の新たなバイオマーカーになりうる可能性、②proBDNF を指標にした精神疾患 endo-phenotype の研究が可能になることが見出された。proBDNF のシグナル伝達を担う p75 を含めたその情報伝達様式と疾患発症の関係を解明することにより、創薬シーズ開発への道が拓

けることが期待される。

BDNF の機能異常と精神疾患の関連が近年指摘されているが [Martinowich, Nat. Neurosci. 2007]、本研究では、BDNF の一分子種である proBDNF に注目し、その高感度測定系 ELISA の確立と精神疾患との関連をヒト血漿検体中の濃度決定するために、proBDNF 特異的モノクローナル抗体の作製研究を行ってきた。本年度の研究結果は、高感度かつ特異的に proBDNF を検出する多数のモノクローナル抗体候補の単離であるが、この候補群の中から、

①内在性 proBDNF の検出系の作製

②proBDNF シグナルによる精神疾患に対する治療

に資する抗体を確立することで、創薬シーズ開発の道を拓けることが期待される。

E. 結論

proBDNF の測定系を開発することにより、proBDNF と精神疾患発症の関連研究と創薬研究に新たな方向性が見出された。

F. 健康危険情報

総括研究報告書に記入。

G. 研究発表

Suzuki, S., Kiyosue K., Hazama, S., Ogura, A., Kashihara, M., Hara, T., Koshimizu, H., & Kojima, M., *The Journal of Neuroscience*, 27, 6417-6427, (2007).

Takemoto-Kimura, S., Ishihara-Ageta, N., Nonaka, M., Adachi-Morishima, A., Mano, T., Okamura, M., Fujii, H., Fuse, T., Hoshino, M., Suzuki, S., Kojima, M., Mishina, M., Okuno, H., & Bito, H., *Neuron*, 54, 755-770, (2007).

小島正己、大塚充、原とも子、清末和之、小倉明彦、上垣浩一 脳の成長因子 BDNF 機能未知ド

メインに潜む精神疾患発症危険因子第4回産業
用酵素シンポジウム/FS フォーラム 2009.3 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

小島正己、原とも子 proBDNF 特異的抗体の作
製およびその用途 出願準備中

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

統合失調症リスク遺伝子の探索

分担研究者 尾関祐二

獨協医科大学 精神医学室・准教授

国立精神・神経センター 神経研究所 疾病研究第三部・室長（H20年9月まで）

研究要旨

染色体の構造異常より、統合失調症の発症リスクとなる遺伝子を探索した。具体的には次の二つの手法を用いた。1. 遺伝子のタイピングアレイを用いた染色体の微小構造異常検索による遺伝子コピー数多型（copy number variation: CNV）の精査を通したリスク遺伝子の同定（以下 CNV 検索によるリスク遺伝子の同定）、2. 染色体転座を持つ統合失調症患者での分子レベルでの異常検索による、統合失調症のリスク遺伝子の同定（以下 染色体転座の解析によるリスク遺伝子の同定）。

1. CNV 検索によるリスク遺伝子の同定

205 人の統合失調症患者と 187 人の健常被験者を対象に、アフィメトリックス社の GeneChip Human Mapping 50K Array Xba 240 を用いて、統合失調症患者に特有の CNV を探索した（解像度 1 Mb 程度）。さらに、統合失調症に特有な CNV を持つと判断した 12 名の DNA および一般的によく見られると判断した CNV を持つ 4 名（任意に選択）を対象により解像度が高い（100kb 程度）イルミナ社の illumina CNV 370 を用いて CNV の再検討したところ、前回と同様の結果が得られたのは 6 名のみであった。候補遺伝子が絞り込まれた一方、マイクロアレイを用いた CNV の検討は直接遺伝子の状態を調べるものではないため、プラットフォームにより結果が左右されることを再確認し、今後定量的 PCR 法など他の方法での確認が必要であると考えられた。

2. 染色体転座の解析によるリスク遺伝子の同定

t(3;9)(q13.12;q21.2)転座を持つ統合失調症患者とその転座を母親から受け継いだ子（失調型パーソナリティ障害）を見出したため、その分子病態を解析した。芽球化したリンパ球を用いた検討では転座点から 100kb 程の距離にある phosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1) の mRNA 発現量が対照とした健常者 26 名のどの対象者よりも減少していた ($p < 0.005$ Mann-Whitney U test)。PSAT1 は L-セリン産生に必須の酵素であるため、血清中アミノ酸を測定したところ、転座を持つ 2 名の血清 L-セリンおよびグルタミン酸濃度が 16 名のどの健常被験者より低かった（共に $p = 0.013$ Mann-Whitney U test）。PSAT1 の発現量低下が血清 L-セリン濃度を低下させるのは自然なことであるが、低グルタミン酸を引き起こす理由は現在のところ不明である。L-セリンは神経発達に重要な因子であり、グルタミン酸低下は統合失調症の病態仮説の一つであるグルタミン酸受容体機能低下

仮説との関連が予測される。以上から本症例ではPSAT1の活性が統合失調症発症と関連する可能性が予測されるが、実証するには更なる検討が必要になると考えられた。

A. 研究目的

統合失調症は家族集積性があり、発症に遺伝要因が関与していることは明らかであるが、発症に関与すると完全に証明されている遺伝要因は存在しない。一方疾患の分子病態解析が進んでいるアルツハイマー病やパーキンソン病の分子病態研究では稀ではあるが浸透率の高い遺伝子異常が、疾患全体の分子機構解明の鍵になっている。そこで我々は、こうした研究に倣って比較的稀な遺伝子異常を染色体の構造異常から検索することとした。染色体構造異常が疾患と関連していれば、構造異常により遺伝子が直接障害を受けることも多く、よく行われている関連解析よりも、結果を直接病態の分子機構の解明につなげやすい利点もある。

染色体の構造異常検索としては、

1. 統合失調症患者における特異的コピー数多型 (copy number variation : CNV) 検索
2. 染色体構造異常を持つ統合失調患者の分子病態解析

の二つの観点から解析を行った。

CNV とは、染色体の微小な構造異常で、部分的なゲノムの欠失もしくは重複である。近年の染色体研究の進歩は、健常人でも染色体上に多くの欠失や重複があることを明らかにしつつあり、数 Mb から数 Kb 程度の染色体欠失/重複は一人当たり平均 24 箇所との報告がある。これら染色体の欠失もしくは重複部位に遺伝子の情報が含まれていれば、遺伝子のコピー数減少や増加が起

こる。

A. 研究方法 (倫理面への配慮)

1. 統合失調症患者における CNV 検索

平成 19 年度は DSM-IV 診断による統合失調症患者を対象にアフィメトリックス社の GeneChip Human Mapping 50K Array Xba 240 (以下[50K アレイ]) を用いて遺伝子の 1 塩基多型を検出する際に生じる多型に関する情報とシグナル情報を用い、コンピュータソフト CNAT4.0 にて CNV の検出を行った (統合失調症患者 205 名、健常被験者 187 名)。解像度は 1Mb 程度。数 Mb 程度の CNV があることが明らかとなった統合失調症患者 16 名を対象に、イルミナ社の illumina CNV 370 を用いてさらに CNV の解析を行った (解像度 100kb 程度)。コピー数の増減は illumina CNV 370 を用いて遺伝子型を決定する際のシグナル強度を専用のコンピュータソフトで解析し、コピー数を決定した。

2. 染色体構造異常を持つ統合失調患者の分子病態解析

染色体転座 t(3;9)(q13.12;q21.2) を持つ統合失調症患者を見出し、さらに唯一生存している血族である息子の協力を得て核型を検索したところ、母親と同様の核型が見出された。その息子は統合失調型パーソナリティの症状を示しており、社会機能は著しく低かった。

FISH 法にて染色体の切断点及び切断点周囲の遺伝子を検索した。染色体転座を持つ 2 名のリンパ芽球及び健常者 26 名のリンパ芽球を用いて、切断点周囲に存在

する遺伝子の mRNA 発現量を調べたところ、PSAT1 遺伝子の発現量の低下が認められた。PSAT1 は生体内で L-セリンを合成するための酵素の一つであることから、PSAT1 の発現量が低下すれば、体内のアミノ酸量に変化が生じると考え、高速液体クロマトグラフィーを用いて L-セリンおよびグルタミン酸、グルタミン、D-セリンの血清濃度を測定した。

なお本研究では国立精神・神経センター関連各施設の倫理委員会での承認を得ており、研究対象者には書面で説明を行い、書面に署名をしてもらうことで研究参加への同意などを取得している。

B. 研究結果

1. 統合失調症患者における CNV 検索

統合失調症患者で特異に見られ、CNV データベース (<http://projects.tcag.ca/variation> カナダ The Center of Applied Genomics 作成)でも認められないような CNV のうち、コピー数が増加していたものを表 1 に、コピー数が増加していたものを表 2 に示す。

表 1. 統合失調症患者特異的にコピー数が減少していると予測された箇所

位置	人数	長さ(Mb)
1q32.1	1	1
4p12	1	1
4q25	1	2
16q23.1	1	1
21q21.2	1	1

表 2. 統合失調症患者特異的にコピー数が増加していると予想された箇所

位置	人数	長さ(Mb)
1p36.13	1	3.3
7q11.21	1	1.8
8q11.21	1	2
12q23.3	2	1.5
18q22.1	1	2.2
19q12	1	1

さらに CNV が見出された統合失調症患者 16 名(統合失調症で特異的に見られる CNV を持っていた患者 12 名と一般役な CNV を持っていた 4 名)を対象に再解析を行った。その結果、6 名で前年度とほぼ同様の結果が得られた。その 6 名を表 3 にまとめた。

表 3. 統合失調症患者特異的にコピー数が減少もしくは増加していると再確認されたもの(太字が統合失調症患者でのみ見られた CNV)

位置	人数	長さ(Mb)	コピー数
4q25	1	1.74	1
8p23.2	1	2.39	3
16q23.1	1	1.35	1
18q22.1	1	1.14	3
21q21.2	1	0.68	1
22q11.21	1	0.59	3

最終的にコピー数が減少していることが確認された遺伝子で、これまでに統合失調症との関連が指摘されている遺伝子は EGF 4q25(Anttila S et al *Neuroreport* 2004 15:1215-8)のみであった。

コピー数が増加していると考えられる箇

所では、統合失調症と関連があることがこれまでに指摘されている遺伝子はみられなかった。中枢神経に発現し、今後統合失調症との関連を検討すべき候補遺伝子としてはPI13(18q22.1:成人側頭葉で発現)が挙げられる。

近年頻りに1q21.1の部位のCNVと統合失調症の関連が報告されている。今回の我々の検討でも統合失調症患者で1例だけ同部位のduplicationを持つとの結果が出たものがあったが、今回の再解析では確認されなかった。この結果から50Kアレイを用いた我々の手法では1q21.1部分の検出に問題があることが予測された。50Kアレイを用いて1q21.1部分でコピー数に異常がある健常人が4名検出されたが、上記結果より、この結果もこれだけでは事実であると確認できない。

2. 染色体構造異常を持つ統合失調患者の分子病態解析

In situ hybridization法によりt(3;9)(q13.12;q21.2)転座点付近の遺伝子を特定し、患者とその子および26人の健常被験者の芽球化したリンパ球で各々の遺伝子のmRNAの発現量を測定したところ、9番染色体上転座点q21.2よりセントロメア側100kb以内のところに存在するphosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1)遺伝子のmRNA発現量が、染色体転座を持つ2名では他のどの健常者よりも低かった($p < 0.005$ Mann-Whitney U test)。PSAT1は生体内L-セリン生合成に必須の酵素であることから、末梢アミノ酸濃度を測定したところ、転座を持つ2名の血清L-セリンおよびグルタミン酸濃度が他の16人のどの健常被験者よりも低かった($p=0.013$ Mann-Whitney U test)。

C. 考察

1. 統合失調症患者におけるCNV検索

解像度が異なる二種類のプラットフォームで6症例に統合失調症に特異的な可能性のあるCNVが確認された。これら症例では今後CNVと統合失調症との関連を検討してゆくことが考えられる。ただし今回、使用した手法によって結果が異なったこと、そもそも直接的にDNA量を定量したわけではないことから、今後定量的PCR法で、実際CNVが生じているか確認する必要がある。

2. 染色体構造異常を持つ統合失調患者の分子病態解析

血清L-セリン濃度の低下はPSAT1の発現量低下から生じていると考えて矛盾はない。L-セリンは神経系の発生に重要なアミノ酸であるが、この血中濃度低下が統合失調症の危険因子になっている可能性が考えられた。また、現在のところ機構は不明であるが、本症例での染色体異常が血清低グルタミン酸を引き起こす可能性が示され、グルタミン酸受容体機能低下仮説に基づき統合失調症を発症している可能性が考えられた。すなわちPSAT1の活性が統合失調症発症と関連する可能性が予測されるが、実証するには更なる検討が必要になる。

D. 結論

統合失調症は家族集積性があることが知られており、今回のように様々な角度から遺伝因子を検討してゆくことは今後の統合失調症の病態解明から治療法や予防法の解明に重要であると考えられる。今回の我々の結果はまだまだ予備的なものではあるが、

現在の手法を推し進めることで、今後統合失調症の病態解明につながってゆくと考えられる。

E. 健康危険情報

F. 研究発表

1. 論文発表

Yuji Ozeki, Takashi Mizuguchi, Naotsugu Hirabayashi, Masafumi Ogawa, Naomi Ohmura, Miyuki Moriuchi, Naoki Harada, Naomichi Matsumoto, Hiroshi Kunugi.
A case of schizophrenia with chromosomal microdeletion of 17p11.2 containing a myelin-related gene PMP22
The Open Psychiatry Journal, 2;1-4 2008

2. 学会発表

Yuji Ozeki, Takeshi Mizuguchi, Naotsugu Hirabayashi, Tomoko Shizuno, Naomi Ohmura, Miyuki Moriuchi, Naoki Harada, Hiroaki Hori, Kunimasa Arima, Osamu Saitoh, Naomichi Matsumoto, Hiroshi Kunugi
Chromosomal microdeletion of shicozphrenia - Microdeletion screening and association study of PMP22 gene -
10.7-11, 2007 New York, USA

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 | なし |

研究成果の刊行に関する一覧表

雑 誌 (主なもの 40 報を選択)

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	11 (7)	695-703	2006
Ohnishi T, Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Iida H, 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 (Pt 2)	399-410	2006
Hori H, Noguchi H, Hashimoto R, Nakabayashi T, Omori M, Takahashi S, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Harada S, Saitoh O, Iwase M, Kajimoto O, Takeda M, Okabe S, Kunugi H:	Antipsychotic medication and cognitive function in schizophrenia.	Schizophr Res	86 (1-3)	138-146,	2006
Kunugi H, Hashimoto R, Okada T, Hori H, Nakabayashi T, Baba A, Kudo K, Omori 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	113(10),	1569-73	2006
Hashimoto R, Numakawa T, Ohnishi T, Kumamaru E, Yagasaki Y, Ishimoto T, Mori T, Nemoto K, Adachi N, Izumi A, Chiba S, Noguchi H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Taguchi T, Kamiya A, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Sawa A, Kunugi H.	Impact of the DISC1 Ser704Cys polymorphism on risk for major depression, brain morphology, and ERK signaling.	Hum Mol Genet	15(20)	3024-3033	2006