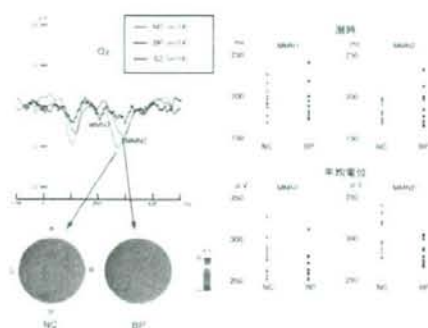


	物語内容の正答率(%)	Tに対するボタン押し	
		正答率(%)	反応時間(ms)
健常者群 (n=14)	96.4±10.3	93.4±3.6	393.6±40.9
双極性障害群 (n=14)	86.7±17.9	91.5±5.6	436.6±78.2
統合失調症群 (n=16)	70.0±31.6	93.0±10.0	451.8±85.9

**表1 健常者群と双極性障害群の行動指標結果。**物語内容についての質問紙の正答率は双極性群 86.7%、健常者群 96.4%であり、実験中物語を聞いていたと考えられたが、Tに対するボタン押しの正答率と反応時間は患者群の方が低いパフォーマンスを示した。統合失調症群では質問紙の正答率やボタン押しのパフォーマンスが健常者群よりも低く、注意配分がうまくできないあるいは、注意資源が足りないことが推測された。



**図6 双極性障害群と健常者群のv-MMNの結果** 左上段はOzにおける各被験者群(健常者群(NC)、双極性障害群(BP)、統合失調症群(SZ))に対する全平均ERP引算波形(Dに対する反応からSに対する反応を引算した)。3群とも刺激提示後150~320msには陰性電位(v-MMN)を認めた。V-MMNは潜時と頭皮上分布の異なる二つのピークを認めたため、早期成分をMMN1、後期成分をMMN2として別々に解析した。

#### D. 考察

今回の報告では、双極性障害群9人、健常者群14人に対して記録・解析を終了した。現時点での解析では、行動指標では双極性障害群は健常者群よりもTに対するボタン押しのパフォーマンスが劣っ

ていた。脳波解析では、両群共にv-MMNが誘発されたが、双極性障害群の方が減衰していた。以下に別の研究でわれわれが行った慢性期統合失調症群18人(男性15人、女性3人、21~54(35.8)歳、左利き1人)の結果と比較しながら考察する。

#### D-1. 行動指標

物語の内容について86.7%、健常者群では2人が96.4%であった(表1)。しかし、全体としては両群とも実験中は物語の筋を追っていくことが可能であったと考えられた。また、Tに対するボタン押しの正答率と反応時間では、双極性障害群の方が健常者群よりもややパフォーマンスが低下している可能性が示唆された(BP群:正答率91.5%、反応時間436.6ms、NC群:正答率93.4%、反応時間393.6ms)。これは、双極性障害群の疾患自体のために注意資源が減少しているか、あるいは内服薬の影響の可能性が考えられた。

一方、慢性期統合失調症群では、物語の内容についての質問紙の正答率は70.0

±31.6%、Tに対するボタン押しの正答率と反応時間はそれぞれ、93.0±10.0%、451.8±85.9msであったので(表1)、統合失調症群ではTに対するボタン押しのパフォーマンスは双極性障害群と同様に健常者群よりも低下していたが、物語の内容の筋を追うことでは双極性障害群よりもパフォーマンスはさらに低下していた。これは、統合失調症群は注意配分がうまく出来ないかあるいはもともと注意資源自体が双極性障害群よりも少ない可能性が示唆された。また、抗精神病薬などの薬物の影響についても検討課題であると考えられた。

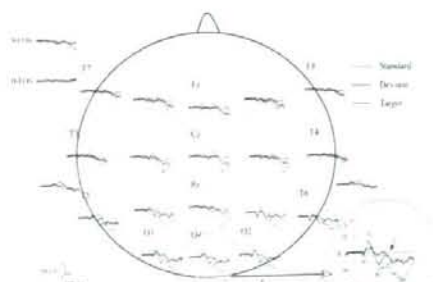


図7 健常若年成人のv-MMN 国際10-20法に従って頭皮上に18個の電極を置いて脳波を記録した。Ozを最大として後頭部、後側頭部では刺激提示後約150~300ms間のDに対する反応(青線)がSに対する反応(赤線)よりも図の上方(陰性)にシフトしている(矢印部)。これはv-MMNの重畳による。ちなみに、Tに対する反応(黒線)では400ms付近にPzを最大として広範に大きな阻性電位を認めるが、これはP200(注

#### D-2. v-MMN

健常若年成人を対象にした研究では刺激提示後約150~300msにv-MMNを認めた(図7)。今回の結果では、健常者群、

双極性障害群共に刺激提示後約150~320msに陰性シフトを認めており(図6左)、健常若年成人の結果と同様であるが、この成分は健常者群と比較して、双極性障害群では減衰していた。このことから双極性障害では気分が安定している時期でも視覚情報処理障害が遷延しており、注意障害に関与していることが示唆された。さらに、統合失調症群では12人では刺激提示後約150~400msにv-MMNが誘発されたが、4人では誘発されなかった(図8)。v-MMNが誘発された群では、健常若年成人と比較してMMN1、MMN2の振幅、MMN2の潜

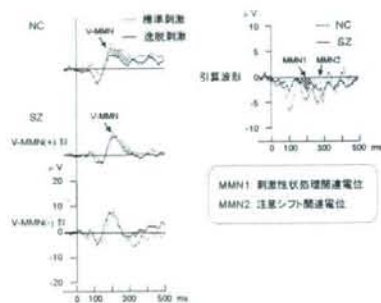


図8 v-MMNの全平均波形 左上段;NC群の全平均波形。150~300ms間で、逸脱刺激に対する反応(実線)は、標準刺激に対する反応(点線)陰性にシフトしており、先行研究では、このシフト(斜線部)はa-MMNと同様の特性を有していた左中段;SZ群のうちv-MMNが誘発された12人の全平均波形。150~400ms間で、v-MMNが誘発された。左下段;SZ群のうちv-MMNが誘発されなかった4人の全平均波形。右図;各群の引算波形。NC群(点線)、SZ群(実線)とも150~350ms間で二つのピークをもつv-MMNを認めたが、SZ群の方が減衰していた、先行研究から、早期成分(MMN1)は、刺激性状処理関連電位であり、後期成分(MMN2)は、注意シフト関連電位であることが示唆された。

時に違いはなかったが、MMN1潜時は健常

者群より有意に延長していた。V-MMN が誘発された群と誘発されなかった群では行動指標のパフォーマンスの違いはなく、プロフィールの違いも現時点では不明である。誘発されなかった理由としては、v-MMN に反映される、短期記憶表象自体作られなかった可能性、短期記憶表象は作られたが記憶保持が出来なかった可能性、v-MMN は誘発されたが時間同期性が悪いために加算平均波形では消失してしまった可能性などが考えられたが、さらに検討を進める必要があると思われる。

#### E. 結論

高密度脳波計を用いて双極性障害患者の視覚ミスマッチ陰性電位を記録した。双極性障害患者は健常者と比較してv-MMN が減衰しており、視覚情報自動処理の異常の可能性が示唆されたが、その程度は統合失調症患者よりも軽かった。さらに被験者を増やして解析をする必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 前川敏彦, 平野昭吾, 大林長二, 平野羊嗣, 鬼塚俊明, 飛松省三, 神庭重信. ミスマッチ陰性電位を用いた統合失調症の視覚自動処理過程の検討. 臨床脳波, 50; 202-208, 2008.
2. 角田智哉, 前川敏彦, 織部直弥, 鬼塚俊明, 平野羊嗣, 平野昭吾, 大林長二, 飛松省三, 神庭重信. ミスマッチ陰性

電位と P300 を用いた双極性障害の視覚情報自動処理過程の検討. 臨床神経生理学, 36; 607-614, 2008.

3. 前川敏彦, 飛松省三. 脳波の導出法: 原理と局在決定. 検査と技術, 36; 257-262, 2008.
  4. 前川敏彦, 鬼塚俊明, 神庭重信. 双極性障害の臨床神経生理学的研究. 臨床精神医学, 37; 1293-1302, 2008.
- ##### 2. 学会発表
1. Tosihiko Maekawa, Yoji Hirano, Shogo Hirano, Choji Obayashi, Toshiaki Onitsuka, Shozo Tobimatsu, Shigenobu Kanba. Altered visual attentional system in schizophrenia: Evidence from an ERP study. 63<sup>rd</sup> Annual Scientific Convention & Meeting of Society of Biological Psychiatry, May 1-3, 2008, Washington, DC.
  2. 前川敏彦, 角田智哉, 平野羊嗣, 平野昭吾, 大林長二, 織部直弥, 鬼塚俊明, 神庭重信, 飛松省三. 事象関連電位 (P300 と MMN) を用いた統合失調症の視覚認知機能評価. 第3回日本統合失調症学会. 3月14-15日, 2008, 東京都.
  3. 前川敏彦, 織部直弥, 鬼塚俊明, 平野羊嗣, 平野昭吾, 大林長二, 飛松省三, 神庭重信. 事象関連電位 (ミスマッチ陰性電位と P300) を用いた双極性障害の認知過程の検討. 第8回精神疾患と認知機能研究会. 11月8日, 東京都.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 引用文献

1. T. Maekawa, Y. Goto, N. Kinukawa, T. Taniwaki, S. Kanba, S. Tobimatsu. Functional characterization of mismatch negativity to a visual stimulus. *Clin Neurophysiol* 2005;116:2392-2402.
2. 前川敏彦, 飛松省三. 早わかり誘発電位(4): 事象関連電位とミスマッチ陰性電位. *臨床脳波* 47:775-787, 2005.



アデノシン A1 受容体遺伝子と統合失調症および双極性障害の相関解析

研究分担者 川崎 弘詔 九州大学大学院医学研究院精神病態医学 准教授

**研究要旨：**

我々は前年、ドーパミン・NMDA を始めとするいくつかの神経伝達系と相互作用をもち、神経伝達を調整するアデノシン神経伝達系の受容体サブタイプのひとつであるアデノシン A1 受容体 (ADORA1) 遺伝子上の 29 の SNP について双極性障害の対照疾患として統合失調症罹患群、および健常群にてゲノタイピングを行った。単変量解析・多変量解析・LD 解析・ハプロタイプ解析・スライディングウィンドウハプロタイプ解析を行った結果、多変量解析・スライディングウィンドウハプロタイプ解析において有意差が得られた。

本年はこの統合失調症における結果を確認し、より統計力の高い結果を得るため、かつ ADORA1 が双極性障害の発症に対して与える影響を評価するために、前年の統合失調症の解析において有意差の見られた 7 つの SNP を対象として、Taqman プローブ法によるゲノタイピングを行った。単変量解析の結果、新規に対象として用いたサンプルでは、統合失調症と健常対照群の間に有意差は見られなかった。しかし、双極性障害と健常対照群の間で有意差が確認された。

このことから ADORA1 は統合失調症および双極性障害の発症と弱い相関をもつ可能性が示唆される。

**A. 研究目的**

アデノシン神経伝達系はドーパミン・NMDA グルタミン酸などを介する神経伝達系と阻害的な相互作用を持つことが知られており、例えば、動物モデルにおいてアンフェタミンによる行動活性をアデノシンアゴニストが抑えるという報告や、NMDA アゴニストがアデノシンの放出とアデノシンを介した鎮静作用を示すという報告、そしてこの相互作用を利用してパーキンソン病の治療薬としてアデノシン A2A アンタゴニストの使用が検討されていることなどが、その実例として上げられる。

このようなアデノシン神経系のもつ他の神経伝達系への作用はアデノシン神経系自身の異常が他の脳内神経伝達物質を介した神経伝達系の異常を引き起こすことで間接的に精神神経疾患の病態に影響を与える可能性を示唆している。

そこで前年、ADORA1 遺伝子を候補遺伝子として選択し、統合失調症罹患群および健常群においてゲノタイピングを行った。

本年においては、前年の結果に基づき、有意差の見られた 7 つの遺伝子変異をマーカーとし、新たな統合失調症

罹患群、健常対照群および双極性障害罹患群において Taqman プローブ法によるゲノタイピングを行った。

## B. 研究方法

### 対象群：

統合失調症罹患群と健常対照群の比較においては、統合失調症罹患群は男性 285 名、女性 285 名の計 570 名（平均年齢：47.0±11.4 才）、適合格健常対照群として男性 285 名、女性 285 名の計 570 名（平均年齢：46.7±11.1 才）のサンプルを用いた。

また双極性障害と健常対照群の比較においては、双極性障害罹患群は男性 181 名、女性 185 名の計 366 名（平均年齢：50.1±13.4 才）、適合格健常対照群として男性 185 名、女性 185 名の計 370 名（平均年齢：50.6±12.6 才）のサンプルを用いた。

### Taqman プローブ法：

本研究においてはリアルタイム PCR 法のひとつである Taqman プローブ法を用いた。

### 統計解析：

ゲノタイピングの結果を元にしてアレル頻度およびゲノタイプ頻度のフィッシャーの直接確率検定による統計解析を行った( $\alpha=0.05$ )。有意差の水準を  $p=0.05$  とした。

### (倫理面への配慮)

血液採取に際しては、理研脳科学研究所の倫理ガイドラインに従い実施された。

## C. 研究結果

本研究において我々は前年に統合失調症に関する ADORA1 遺伝子の影響を

解析した際に有意差が見られた 7 つの遺伝子変異を対象とした相関解析を行った。

アレル頻度およびゲノタイプ頻度の結果を基にフィッシャーの直接確率検定による単変量解析を行った結果、今回新たに用いたサンプル群では統合失調症罹患群と健常対照群の比較においては有意な相関は見られなかった。

しかし双極性障害罹患群と健常対照群との比較において一つのマーカーのアレル頻度における比較において有意差が認められた (表 1 b)。

## D.E. 考察および結論

今回、我々は、新たな日本人統合失調症患者群、健常対照群および双極性障害患者群において、アデノシン神経系に関与する ADORA1 遺伝子上の 7 つの SNP についてゲノタイピングを行った。

フィッシャーの直接確率検定法による単変量解析の結果、双極性障害罹患群と健常対照群の間のアレル頻度の比較において一つのマーカーで有意差が見られた。

本研究の結果は ADORA1 遺伝子が双極性障害の病態に弱い相関をもつ可能性を示唆している。

また、今回の研究では Taqman プローブ法を用いているため、前年の研究におけるスライディングウィンドウハプロタイプ解析法において有意差が見られたハプロタイプに属する遺伝子欠損の解析が行えておらず、統合失調症に関する追試が充分とは言えず、更なる研究が望まれる。

本研究の結果は ADORA1 遺伝子が統合失調症および双極性障害の病態に弱い相関を持つことを示唆した。

このことはアデノシン神経伝達系が他の神経伝達系を介し精神神経疾患の病態に影響を与えるという仮説を支持するものであると考えられ、今後は全般性精神障害の概念に基づいた解析と考察を行うことが必須であると考えられる。

なし

### 3. その他

なし

## F. 健康保険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

投稿予定

### 2. 学会発表

Leo GOTOH, Hiroaki KAWASAKI, Hiroshi MITSUYASU, Yuki KOBAYASHI, Atsushi TAKATA, Naoya ORIBE, Shigenobu KANBA: Association Analysis of Adenosine A1 receptor (ADORA1) and DopamineD1 receptor (DRD1) genes with schizophrenia in the Japanese population 第3回日本統合失調症学会, 2008. 3. 15, 東京都

## 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

表 1 a, 統合失調症罹患群と健常対照群の間における、ADORA1 遺伝子変異のアリル頻度とゲノタイプ頻度の比較

Japanese SZ	HWE	n	Allele		P-value (Fisher's exact Test)	Genotype			P-value (Fisher's exact Test)	MAF	
			C	T		C/C	C/T	T/T			
2nd : Seq AD01 rs3766564	SC CT	0.1532 0.5413	564 568	988 983	140 153	0.4910	429 427	130 129	5 12	0.2952	12.4% 13.5%
AD02 rs3766562	SC CT	0.8954 0.5143	561 568	396 371	726 785	0.1975	72 64	252 243	237 261	0.4203	35.3% 32.7%
AD03 rs3766560	SC CT	0.3396 0.6401	564 570	234 238	894 902	0.9588	28 23	178 192	358 355	0.6171	20.7% 20.9%
AD04 rs3766558	SC CT	0.7484 0.2494	562 568	547 529	577 607	0.3327	135 130	277 269	150 169	0.5265	48.7% 46.6%
AD05 rs3766554	SC CT	0.8717 0.1867	560 568	550 529	570 607	0.2380	136 131	278 267	146 170	0.3570	49.1% 46.8%
AD06 rs3766553	SC CT	0.7925 0.0422	562 570	805 784	319 356	0.1417	287 280	231 224	44 66	0.1025	28.4% 31.2%
AD07 rs3766552	SC CT	0.8773 0.2015	560 569	546 530	574 608	0.3120	134 131	278 268	148 170	0.4368	48.8% 46.8%

表 1 b, 双極性障害罹患群と健常対照群の間における、ADORA1 遺伝子変異のアリル頻度とゲノタイプ頻度の比較

Japanese BP	HWE	n	Allele		P-value (Fisher's exact Test)	Genotype			P-value (Fisher's exact Test)	MAF	
			C	T		C/C	C/T	T/T			
2nd : Seq AD01 rs3766564	BP 未変換										
AD02 rs3766562	BP CT	0.6346 0.2773	363 370	261 223	465 517	0.0196	49 38	163 147	151 185	0.0802	36.0% 30.1%
AD03 rs3766560	BP CT	0.3818 0.6000	362 370	151 146	573 594	0.6036	13 16	125 114	224 240	0.5274	20.9% 19.7%
AD04 rs3766558	BP CT	0.9166 0.3223	364 370	363 338	365 404	0.0945	91 81	181 174	92 115	0.1994	49.9% 45.4%
AD05 rs3766554	BP CT	0.9155 0.2236	364 370	361 338	367 402	0.1434	89 83	183 172	92 115	0.2195	49.8% 45.7%
AD06 rs3766553	BP CT	0.1072 0.3855	365 370	525 511	205 229	0.2305	195 180	135 151	35 39	0.4331	28.1% 30.9%
AD07 rs3766552	BP CT	0.8742 0.1345	365 369	362 339	368 399	0.1743	89 85	184 169	92 115	0.2003	49.6% 45.9%



以下、参考資料として前年の結果を再掲

図1、ADORA1 遺伝子構造

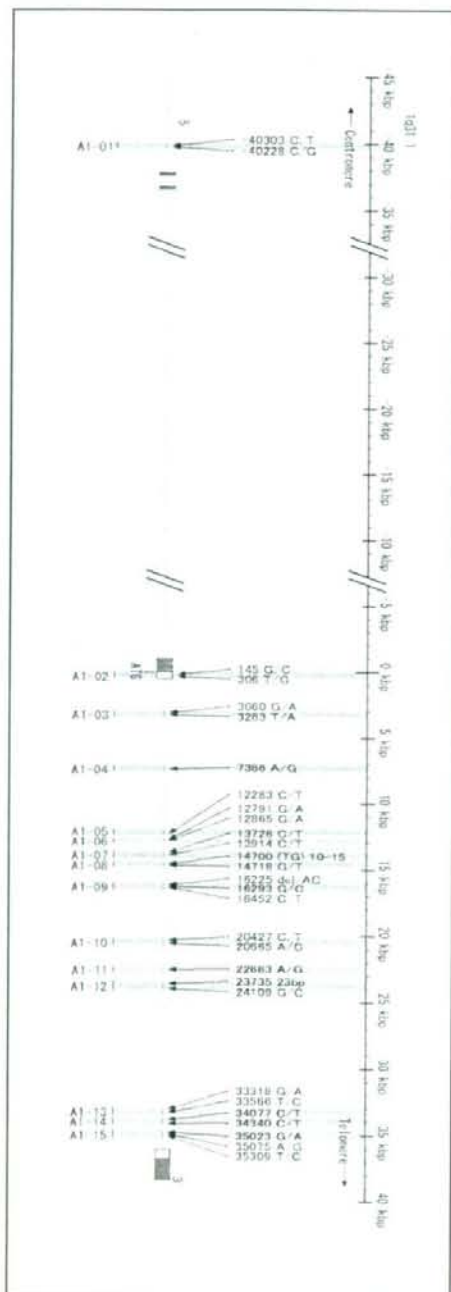


表 2、実験に使用したプライマーのリスト

Table 1

List of primers for genic DNA fragment amplification and sequencing reactions

Name of primer	Sequence (5'-3')	Direction	Position	Product size (bp)	Purpose	
A1-01-F	AGGATCCAGTGTGACTTACC	Sense	-40524	-40505	367	Amp
A1-01-R	TACAAACAGCCTAACC AAG	Antisense	-40177	-40158		Amp, Seq
A1-02-F	TACATCGGCATCGAGGTGC	Sense	34	52	550	Amp, Seq
A1-02-R	TTCAGCTCTGAGGTCATGGG	Antisense	564	583		Amp
A1-03-F	TCTAAGTGGCTGGAGTCAGC	Sense	2962	2981	414	Amp, Seq
A1-03-R	ATAGGGCTTCAATTACCAAGC	Antisense	3355	3375		Amp
A1-04-F	TTAGCCACACTGCAAAATCCC	Sense	7020	7039	429	Amp
A1-04-R	TTCTAAGAGGACGTGTATGC	Antisense	7429	7448		Amp, Seq
A1-05-F	ATCCTGGCCCTCTGCATGCC	Sense	12059	12077	467	Amp
A1-05-R	TGGTAGCCCTCTGAGAGCAG	Antisense	12507	12525		Amp
A1-05-F2	TGC TG TAGAGCACTGAGTGG	Sense	12197	12216	817	Seq
A1-06-F	TGCTGGAATGGTACCTCACCC	Sense	12650	12689		Amp
A1-06-R	AGAGTTGACAGTACCACGCC	Antisense	13467	13486	817	Amp
A1-06-F2	TAGAGTCTCACTTTGTTGCC	Sense	12762	12781		Seq
A1-06-R2	ATGAGCCATATAGTTCCAGC	Antisense	12870	12888	828	Seq
A1-07-F	TTGCACTATGAGGGCAGGG	Sense	13450	13466		Amp
A1-07-R	AACAGGGCATTGCGGCAGG	Antisense	14076	14094	Amp	
A1-07-R2	AATTTACAGAGCTGCCAGGC	Antisense	13993	14012	201, 203	Seq
A1-08-F	AGTGGCTTCAGGTTCTTAGTG	Sense	14651	14671		Amp
A1-08-R	ATGGAGAATGAGGGACTGGG	Antisense	14834	14853	528, 530	Amp
A1-08-R2	TTGAGCAAGCAGAACTGAAAG	Antisense	14795	14815		Seq
A1-09-F	ATCCTCAACGGGTTCAAGCC	Sense	16109	16128	638, 661	Amp
A1-09-R	ATCCTTACAGGGGGCCCGG	Antisense	16619	16638		Amp
A1-09-R2	AAGTGGGCACCATGGCAGC	Antisense	16513	16531	579	Seq
A1-10-F	TGCATGCCACCAAGACTGG	Sense	20181	20199		Amp
A1-10-R	TAATTAGGTGGTTCTCACAGG	Antisense	20739	20759	Amp, Seq	
A1-11-F	TATGGAAAACCATGTGACTGG	Sense	22586	22605	278	Amp
A1-11-R	AACAATTCTTGGAGCCTTGG	Antisense	22844	22863		Amp, Seq
A1-12-F	AGCCGCATAAAAGCCATCAGC	Sense	23585	23604	638, 661	Amp
A1-12-R	AAGTTTGGATTGTCTCAGTGG	Antisense	24202	24222		Amp
A1-12-F2	TATTGTGAAAATCGCCAGGG	Sense	23867	23885	470	Seq
A1-12-R2	ACCTTGGCATTTCTCAGCTC	Antisense	24001	24020		Seq
A1-13-F	AAGAGTCAGAGGCACCCTTC	Sense	33228	33247	611	Amp
A1-13-R	TGCTGCCGTCCAGCCATG	Antisense	33679	33697		Amp, Seq
A1-14-F	AGCAATTATGAGGATTAOCTG	Sense	33942	33962	646	Amp
A1-14-R	AGGCCTGGTGCACAGCACTG	Antisense	34534	34552		Amp
A1-14-F2	TATAAATGGCAGATGTGATGG	Sense	34000	34023	646	Seq
A1-15-F	TATAGCCCTTACAGAGCAGG	Sense	34691	34910		Amp
A1-15-R	TAGGCATTGCTCCCTGTGC	Antisense	35518	35536	646	Amp, Seq
A1-15-F2	AGAAAGCCGCAGATTCTGC	Sense	34891	35009		Seq

Amp, these primers were used for PCR amplification.

Seq, these primers were used for direct sequencing.

図2、マイナーアレル頻度

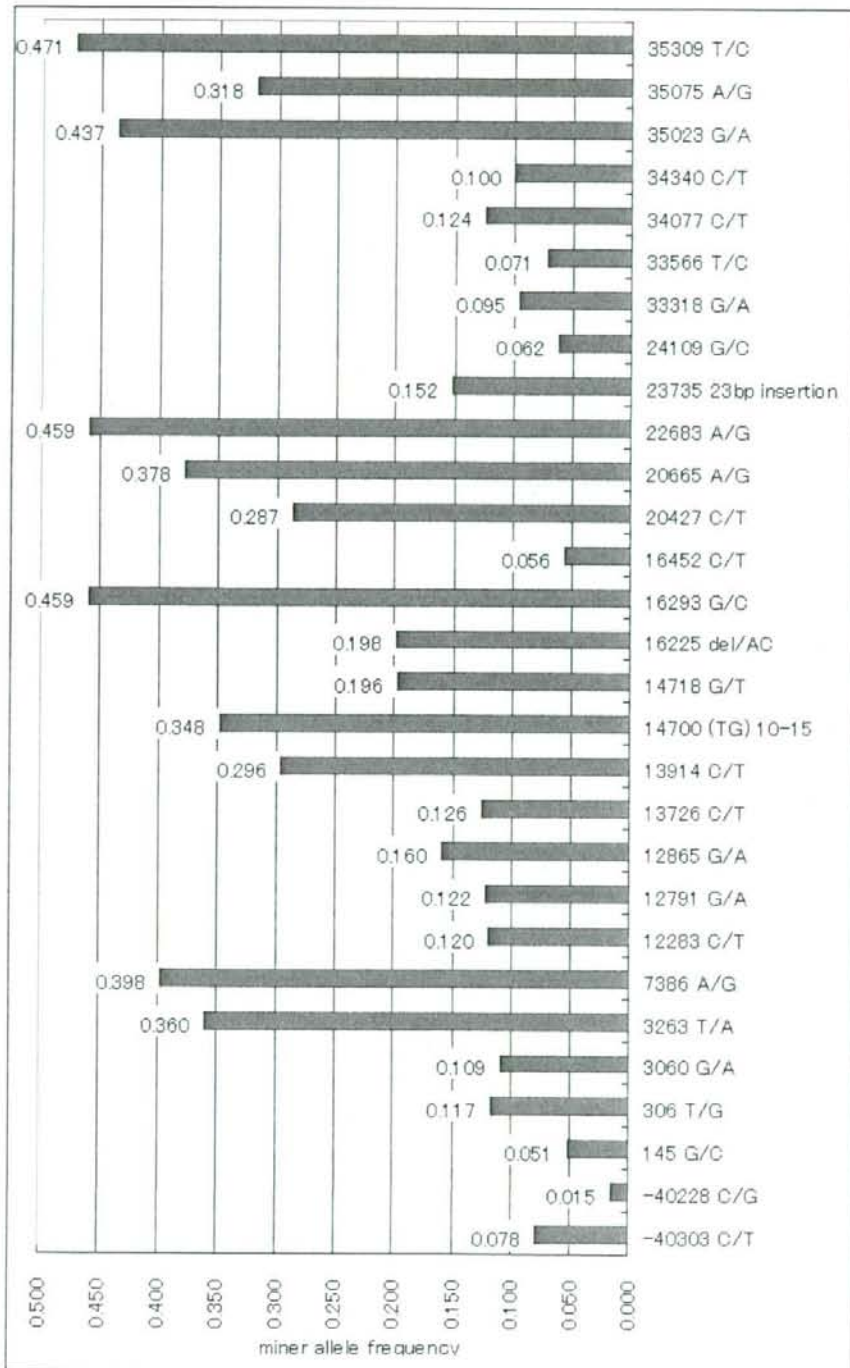


図3、単変量解析：統合失調症罹患者群と健常対照群における各マーカーのアレル頻度の比較

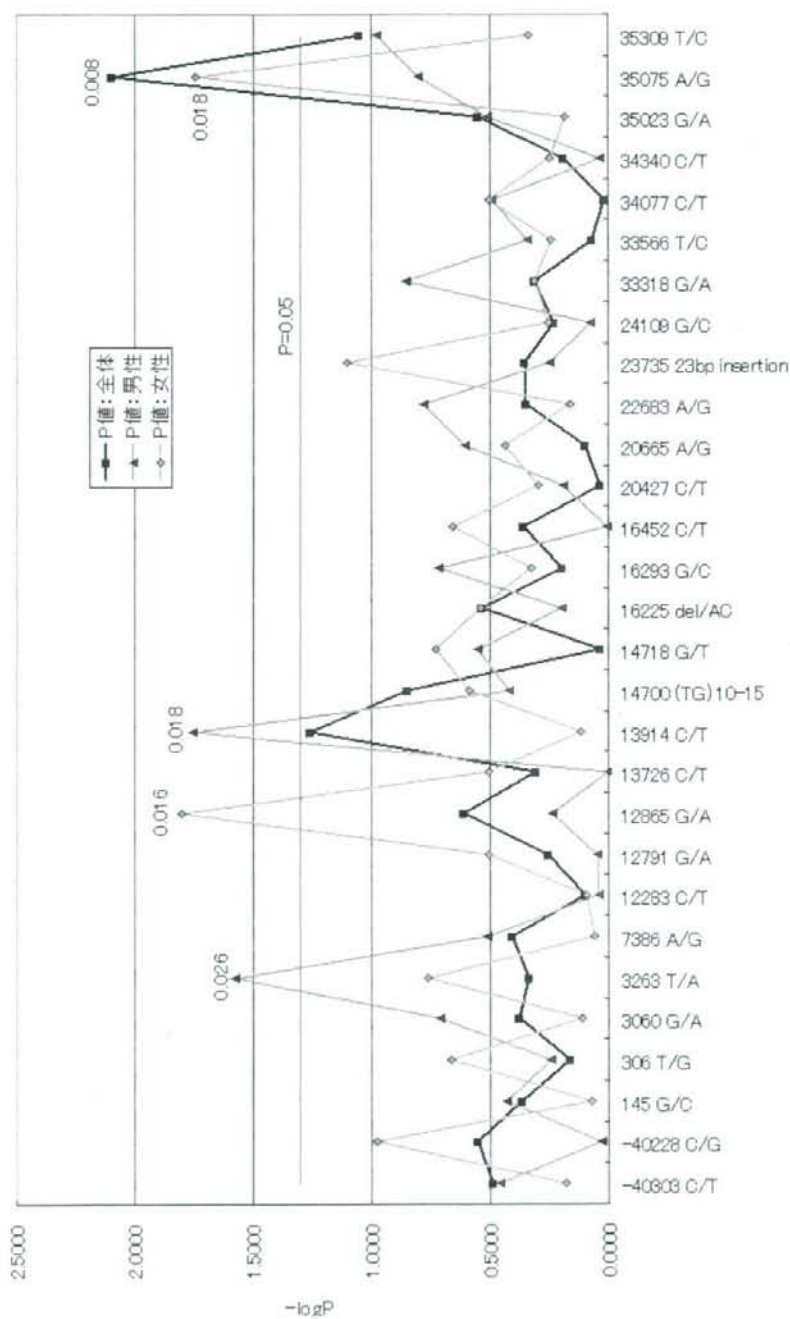




表3、多変量解析の結果

Step-down procedure (likelihood method)			
SNP-Name	P-Value	Odds-ratio	CI
16225 del/AC	0.004	0.561	(0.377-0.834)
24109 G/C	0.041	0.544	(0.303-0.976)
35075 A/G	0.001	1.858	(1.298-2.659)
Step-up procedure (likelihood method)			
SNP-Name	P-Value	Odds-ratio	CI
16225 del/AC	0.024	0.65	(0.448-0.945)
35075 A/G	0.001	1.731	(1.244-2.408)

図4、LDブロック

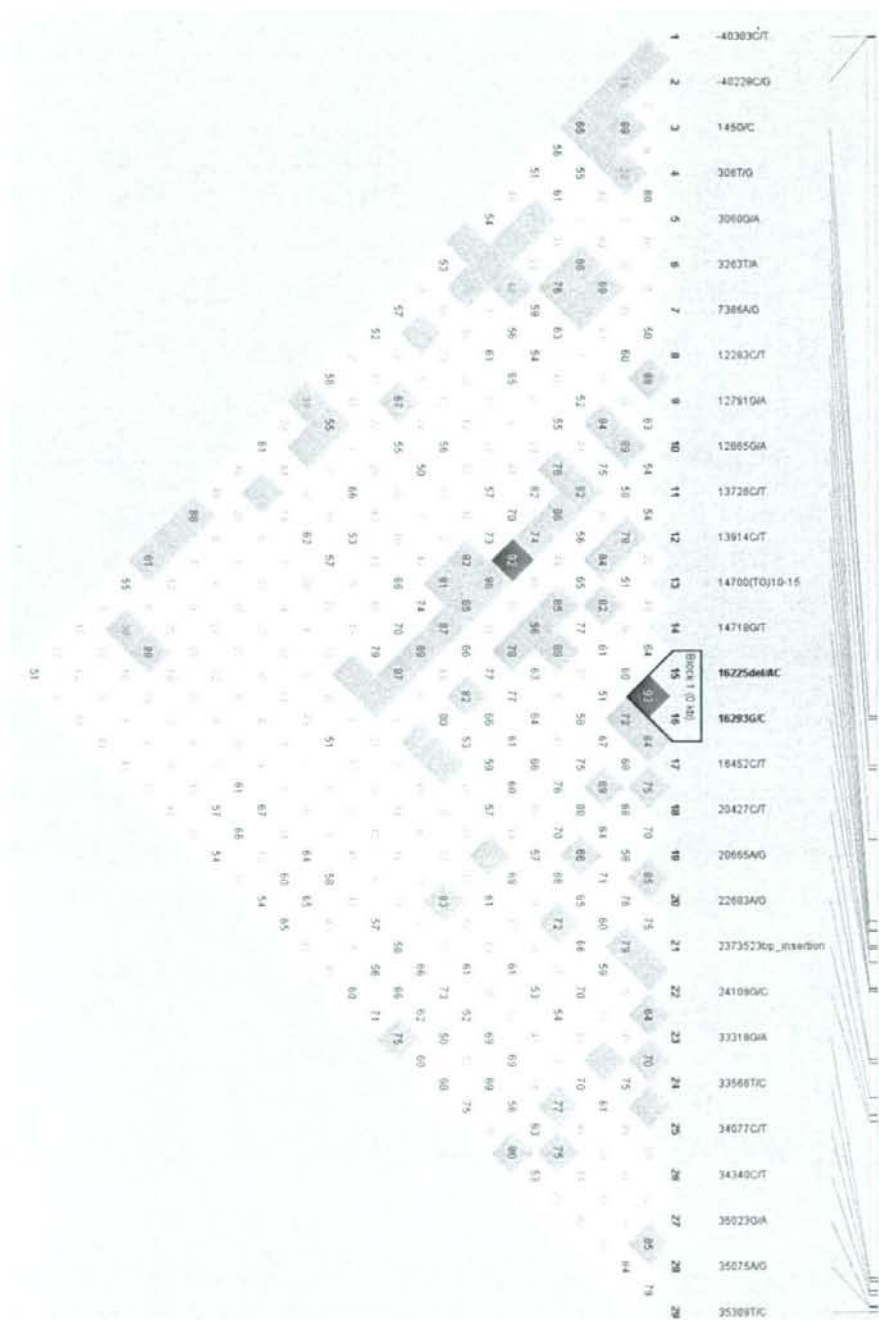


表4、ハプロタイプ解析の結果

Haplotype	Sample number	Total	Haplotype frequency				P
			All		Schizophrenia		
			820	420	400	400	
No1	CCGTGTACGGCT3G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.033	0.045	0.020	0.043		
No2	CCGTGTGCGGCC4G1CCTGG0GGTCCGGC	0.029	0.026	0.033	0.592		
No3	CCGTGTACGGCT4G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.029	0.029	0.030	0.903		
No4	CCGTGTGCGGCC5G1CCTGG0GGTCCGGC	0.022	0.019	0.025	0.561		
No5	CCGTGTGCGACC3G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.017	0.012	0.023	0.242		
No6	TCGTGAGTAGTC4T0CCCGG1GGTCCGAC	0.016	0.012	0.020	0.354		
No7	CCGTGTGCGGCC4G0CCTGG0GGTCCGGC	0.016	0.010	0.023	0.137		
No8	CCGTGAACGGCC3G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.016	0.019	0.013	0.453		
No9	CCGTGTGCGGCT3G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.012	0.007	0.018	0.177		
No10	CCGTGAACGGCT3G0GCCAA0GGTCCAAAT	0.012	0.014	0.010	0.573		
No11	CCGTGTACGGCT3G0GCCAA0GGTCCGAT	0.011	0.017	0.005	0.109		
<0.01		0.787	0.790	0.783	0.781		
whole haplotype					0.223		

表5、スライディングウィンドウハプロタイプ解析の結果 (ウィンドウ幅2, 3)





cAMP-GEFII 遺伝子と統合失調症の相関解析

研究分担者 川崎 弘詔 九州大学大学院医学研究院精神病態医学 准教授

**研究要旨：**

我々は cAMP-GEFII 遺伝子のエクソンおよびプロモーター領域を対象とし、双極性障害の対照疾患として統合失調症罹患群、および健常群にてゲノタイピングおよび新規 SNP の検索を行った。続いてその中で P 値の低い二つの SNP を選択し、それらを含む二つの領域についてサンプルを増やし追実験を行ったが有意な差は現われなかった。

本年はこの統合失調症における結果を新たな別の集団において確認するために、前年の統合失調症の解析において有意な傾向の見られた二つの SNP を対象として、Taqman プローブ法によるゲノタイピングを行った。しかし Taqman プローブ法を用いた新たな集団のゲノタイピングにおいては我々が前年の研究において確認していた SNP は確認されなかった。

**A. 研究目的**

cAMP-GEF 遺伝子は、Rap1-GEF (guanine nucleotide exchange factor) 遺伝子ファミリーに属しており、その GEF 活性は cAMP、カルシウムおよびジアシルグリセロール (diacylglycerol (DAG)) のような代表的なセカンドメッセンジャー分子の結合により、それぞれの GEF ドメインがポジティブな制御を受け活性化され、Ras スーパーファミリーの small GTPases を活性化することによって、細胞内のシグナルを伝達することが知られている。

本経路は、プロテインカイネースによるリン酸化カスケードによるシグナル伝達とは異なることが報告されている。ドーパミン受容体を介したシグナルは細胞内の cAMP 濃度を変化させることが知られており、プロテインカイ

ネース A を介した経路以外にも、cAMP と GEF の結合部位をもつ cAMP-GEFII を介したシグナル伝達経路が発見されている。また cAMP-GEFII は中枢神経での発現が強いため、本遺伝子は遺伝要因との関連が示唆されている、双極性障害をはじめとする種々の精神疾患の有望な候補遺伝子の一つである。

前年我々は、双極性障害の対照疾患として、疫学的に遺伝要因が強いと報告されており多因子遺伝疾患である統合失調症罹患群、および健常群の DNA サンプルを用いて、候補遺伝子として細胞内 cAMP の結合部位をもつ cAMP-GEFII 遺伝子を選択し、エクソンおよびプロモーター領域のゲノタイピングおよび新規 SNP の検索を行い、有意な傾向を持つ SNP を同定した。

本年は前年の研究において推定された 1 つの LD ブロックから一つの SNP を

TagSNPとして選出したマーカーと、ブロックに属さず有意な傾向を示したマーカーの2つを対象として TaqMan プローブ法による解析を行った。

## B. 研究方法

### 対象群：

統合失調症罹患群と健常対照群の比較においては、統合失調症罹患群は男性 285 名、女性 285 名の計 570 名（平均年齢：47.0±11.4 才）、適健常対照群として男性 285 名、女性 285 名の計 570 名（平均年齢：46.7±11.1 才）のサンプルを用いた。

### Taqman プローブ法：

本研究においてはリアルタイム PCR 法のひとつである Taqman プローブ法を用いた。

### 統計解析：

ゲノタイピングの結果を元にしてアレル頻度およびゲノタイプ頻度のフィッシャーの直接確率検定による統計解析を行った( $\alpha=0.05$ )。有意差の水準を  $p=0.05$  とした。

### (倫理面への配慮)

血液採取に際しては、理研脳科学研究所の倫理ガイドラインに従い実施された。

## C. 研究結果

前年の研究により我々は cAMP-GEF2 遺伝子上の 7 つの SNP から 1 つの LD ブロックを推定した。この LD ブロックを構成する 5 つのマーカーのうち最もマイナーアレル頻度の低いものを TagSNP として選定し本年の解析に用いるマーカーとした。

また、LD ブロックに属さない 2 つのマーカーのうち有意な傾向を示した 1 つのマーカーも本年の解析に使用した。

これら 2 つのマーカーを用いて新たな集団における統合失調症罹患群と健常対照群の間の比較を行ったが、ひとつは有意差が見られず、もうひとつは単一形を示した。(表 1)

## D.E. 考察と結論

前年の研究において我々はエクソン 17、22 周辺のイントロンに存在する 7 つの SNP に対して解析を行い、それぞれの領域からひとつずつのマーカーを選出し、相関解析を行った。

しかし、そのどちらにおいても今回の新たな集団を用いた Taqman プローブ法による解析では有意差が認められなかった。

しかし、前年の結果と、本年の結果は大きく統合失調症罹患群と健常対照群の間の比較および前年と本年の健常対照群同士の比較において差が見られ、各集団選択の正当性やマーカー選出の正当性において更なる検証が必要である。

## F. 健康保険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

投稿予定

### 2. 学会発表

Atsushi TAKATA, Hiroaki  
KAWASAKI, Hiroshi  
MITSUYASU, Yuki KOBAYASHI,

Leo GOTOH, Naoya ORIBE,  
Shigenobu KANBA: Association  
analysis of human cAMP-GEFII  
gene polymorphisms with  
Japanese schizophrenic patients.  
第3回日本統合失調症学会, 2008.  
3. 15, 東京都

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

表 1, 統合失調症罹患者群と健常対照群の間における、cAMP-GEF2 遺伝子変異のアリル頻度とゲノタイプ頻度の比較

Japanese SZ	HWE	n	Allele		P-value (Fisher's exact Test)	Genotype			P-value (Fisher's exact Test)	MAF
<b>2nd : Seq</b>			C	T		C/C	C/T	T/T		
<b>A203</b>	SC	561	1023	99		475	73	13		8.8%
<b>rs13026645</b>	CT	563	1011	115	0.2812	464	83	16	0.5866	10.2%
<b>A2_N</b>	SC	564	1128	0		564	0	0		0.0%
<b>Novel SNP</b>	CT	570	1140	0	1.0000	570	0	0	1.0000	0.0%

以下、参考資料として前年の結果を再掲

図 1, cAMP-GEFII 遺伝子構造と実験対照とした SNP の位置

