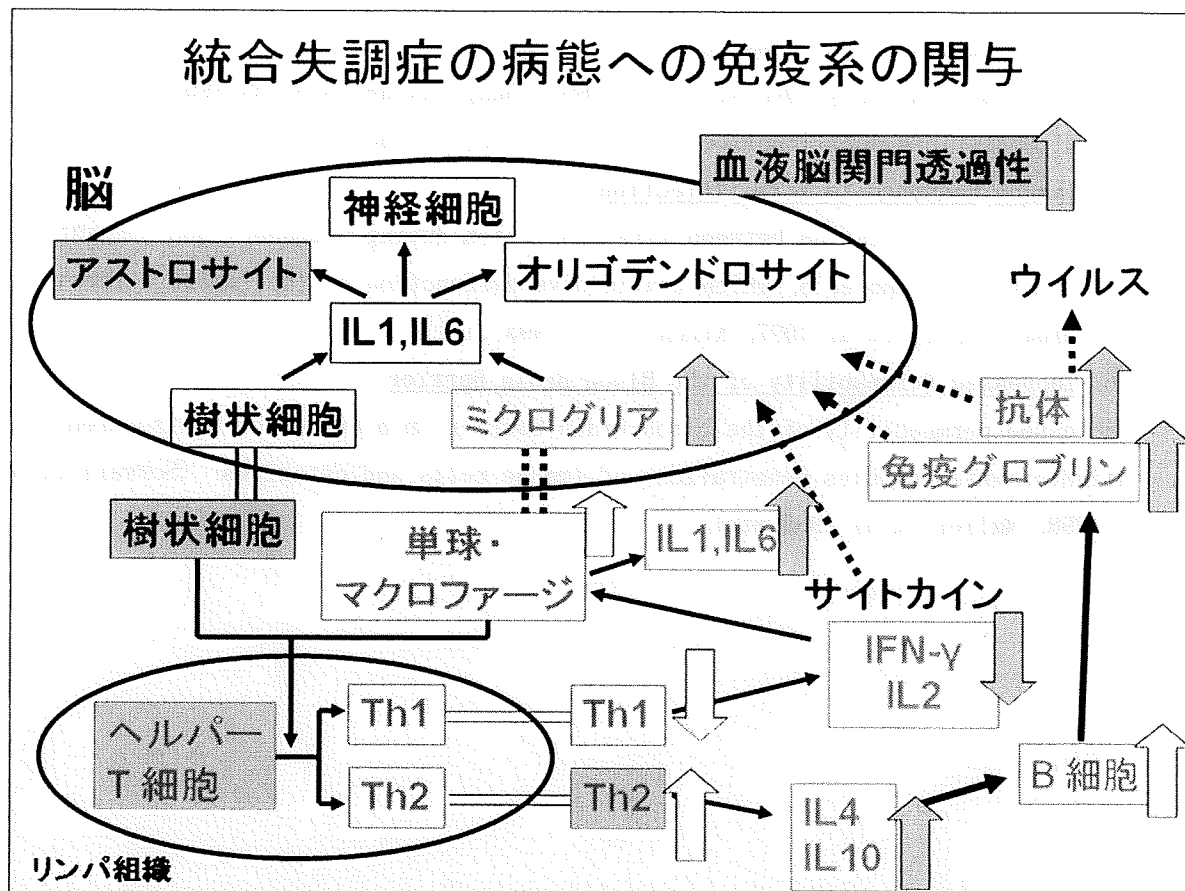


(資料1：統合失調症への免疫系の関与)



統合失調症への免疫系の関与を示す証拠に下記の相互に関連する現象があげられる。

(1) Activated Microglia

Activated microglia in a subset of schizophrenic patients based on postmortem studies (Kreutzberg et al 1996 etc)

(2) Imbalanced Subpopulation of Helper T Cell

A shift from Th1 to Th-2 helper T cell-immune reactivity in schizophrenic patients, especially with predominant negative symptom and/or poor therapy outcome, based on measurements of Th1- and Th2-relevant cytokines (Schwarz et al 2001 etc)

(3) Increased Immunoglobulins

Increased serum Immunoglobulin E and cerebral spinal fluid Immunoglobulin G in schizophrenic patients with predominant negative symptom and/or poor therapy outcome

(4) Frequent Detection of Antibodies against Viruses and Brain Structures in schizophrenic sera or cerebrospinal fluid

Herpes Simplex Virus (Bartova et al 1987 etc), Cytomegalovirus

(Torrey et al 1978 etc), Epstein Barr Virus (De Lisi et al 1986 etc),  
Borna Disease Virus (Yamaguchi et al 1999 etc)  
Antibrain Antibody (DeLisi et al 1985), Ganglioside (Stevens 1992)  
M1 Muscarinic acetylcholine receptor antibodies (Borda et al 2004)

(5) Immune Response to Viral Infection

Positive association between viral infection during pregnancy and susceptibility to schizophrenia, which can involve dysfunction of the immature immune system (Torrey et al 1997, Kirch et al 1993 etc)

(6) Increased Permeability of the Blood-Brain Barrier

Increased permeability of the blood-brain barrier in a subset of schizophrenic patients, which enables penetrations of immune cells and cytokines (Schwarz et al 1998, Muller et al 1995 etc)

(資料2)

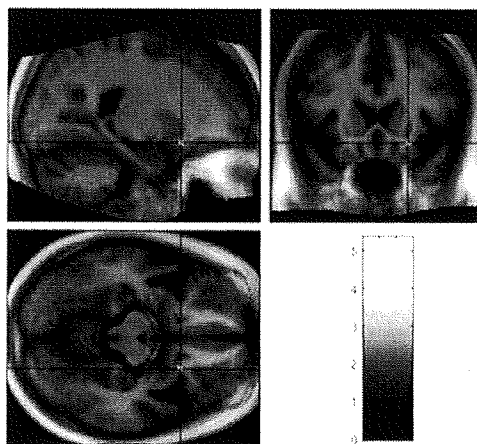
## 統合失調症罹患者群と健常対照者群の脳体積の比較

[全脳体積] 灰白質、白質とも、頭蓋内体積で割ることで、個人の頭蓋内体積の差異を補正し、Gray Matter Ratio、White Matter Ratioとして計測。年齢、性を補正した上で、健常群と疾患群をANCOVAにて解析。

Gray Matter Ratio:  $t = 1.711$  (  $df = 33$  )  $P=0.096$

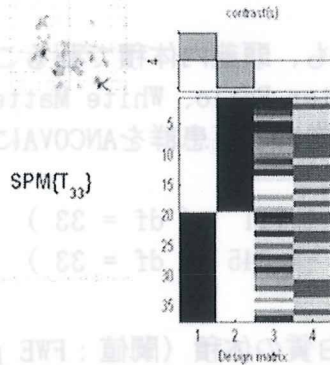
White Matter Ratio:  $t = -1.345$  (  $df = 33$  )  $P=0.188$

[局所脳体積] 右下前頭回白質の体積 ( 閾値 : FWE  $p < 0.05$  )



(資料 3)

## 統合失調症患者群と健常対照者群の白質繊維束統合性の比較



FEW  $p < 0.05$  で有意差のある領域

Statistics: *p*-values adjusted for search volume

ret-level		cluster-level			voxel-level							
<i>p</i>	<i>z</i>	<i>p</i> <sub>uncorr</sub>	<i>k</i>	<i>p</i> <sub>uncorr</sub>	<i>p</i> <sub>uncorr</sub>	<i>F</i>	<i>T</i>	<i>Z</i> <sub>3</sub>	<i>p</i> <sub>uncorr</sub>	mm	mm	mm
0.00050	0.003	0.003	50	0.001	0.005	0.006	6.54	5.20	0.000	26	24	-36
					0.027	0.006	5.90	4.54	0.000	34	6	-32
		0.000	156	0.000	0.022	0.006	5.98	4.59	0.000	-25	-20	0
					0.128	0.006	5.27	4.47	0.000	-40	-16	-8
		0.000	162	0.000	0.033	0.006	5.61	4.79	0.000	-16	-19	-22
					0.184	0.006	5.07	4.33	0.000	-8	-8	-14
					0.273	0.006	4.71	4.09	0.000	-12	-22	-12
0.023	46	0.009			0.098	0.006	5.35	4.51	0.000	26	20	-8
0.008	64	0.004			0.102	0.006	5.33	4.50	0.000	-34	-24	32
					0.428	0.006	4.85	4.05	0.000	-34	-19	30
0.193	16	0.085			0.116	0.006	5.27	4.46	0.000	-26	-6	40
0.072	31	0.031			0.137	0.006	5.20	4.42	0.000	-23	-32	2
0.015	55	0.006			0.158	0.006	5.14	4.37	0.000	-10	6	-16
					0.251	0.006	4.25	2.77	0.000	-16	0	-18
0.176	39	0.031			0.175	0.006	5.09	4.34	0.000	-20	22	32
0.009	202	0.000			0.189	0.006	5.06	4.32	0.000	14	-14	-24
					0.212	0.006	5.01	4.29	0.000	-2	-18	-2
					0.221	0.006	4.99	4.27	0.000	8	-10	-18
0.005	74	0.002			0.194	0.006	5.05	4.32	0.000	42	-26	-12
					0.287	0.006	4.86	4.19	0.000	44	-26	-10

Table shows local maxima more than 8 mm apart

Height threshold = 4.00,  $p = 0.000$  [0.011] ( $z = 4$ )  
 FWHM threshold = 9 voxels,  $p = 1.000$  [0.011]  
 Expected number of clusters,  $\langle k \rangle = 6.527$   
 Expected number of voxels,  $\langle v \rangle = 2.42$   
 Expected false discovery rate,  $\leq 0.01$

Degrees of freedom = [16, 23.0]  
 FWHM = 2.9 [0.933] mm mm mm, 4.45349 [voxels]  
 Volume: 60396 [25420] voxels, 523.1 [voxels]  
 Voxel size: 2.0 2.0 2.0 mm mm mm, [resel = 11452 voxels]  
 Page 1

- 左上側頭回
- 左海馬
- 右側頭極

(資料4)

# 死後脳組織研究との比較 1

低pHの死後脳組織において誘導される遺伝子群と低酸素状態においてグリア細胞由来培養細胞で誘導される遺伝子群との共通性

Gene Symbol	Gene Title
ALDOA	Aldolase A, fructose-bisphosphate
ANK2	Ankyrin 2, neuronal
ATF2	Activating transcription factor 2
ATP2B1	ATPase, Ca <sup>++</sup> transporting, plasma membrane 1
CIRBP	Cold inducible RNA binding protein
CRMP1	Collapsin response mediator protein 1
ETV5	Ets variant gene 5 (ets-related molecule)
GABARAPL1	GABA(A) receptor-associated protein like 1
GABRG2	Gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, gamma 2
GAP43	Growth associated protein 43
GARS	Glycyl-tRNA synthetase
GNAI1	Guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha inhibiting activity polypeptide 1
HIVEP2	Human immunodeficiency virus type 1 enhancer binding protein 2
KIAA0372	KIAA0372
KIAA1107	KIAA1107
LM04	LIM domain only 4
MICAL2	Microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 2
MYO5A	Myosin VA (heavy chain 12, myosin)
NPTX1	Neuronal pentraxin 1
OPTN	Optineurin
PAM	Peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase
PGK1	Phosphoglycerate kinase 1
PJA2	Praja 2, RING-H2 motif containing
PLCB1	Phospholipase C, beta 1 (phosphoinositide-specific)
PTPRR	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, R
RAB22A	RAB22A, member RAS oncogene family
RAB6A	RAB6A, member RAS oncogene family
RALB	v-ral simian leukemia viral oncogene homolog B (ras related: GTP binding protein)
RASA1	RAS p21 protein activator (GTPase activating protein) 1
RIMS3	Regulating synaptic membrane exocytosis 3
RRAGA	Ras-related GTP binding A
SARS	Seryl-tRNA synthetase
SRPK2	SFRS protein kinase 2
STK24	Serine/threonine kinase 24 (STE20 homolog, yeast)
SYNGR3	Synaptogyrin 3
SYT1	Synaptotagmin 1
TMEFF1	Transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 1

(資料5)

## 死後脳組織研究との比較 2

低pHの死後脳組織において発現低下する遺伝子群と低酸素状態においてニューロン由来培養細胞で発現低下する遺伝子群との共通性

Gene Symbol	Gene Title
<b>CDKN1A</b>	<b>Cyclin-dependent Kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)</b>
<b>FGF2</b>	<b>Fibroblast growth factor 2 (basic)</b>
<b>FYN</b>	<b>FYN oncogene related to SRC, FGR, YES</b>
<b>GEM</b>	<b>GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle</b>
<b>GPR56</b>	<b>G protein-coupled receptor 56</b>
<b>INHBB</b>	<b>Inhibin, beta B (activin AB beta polypeptide)</b>
<b>NEK7</b>	<b>NIMA (never in mitosis gene a)-related Kinase 7</b>
<b>NQO1</b>	<b>NAD(P)H dehydrogenase, quinone 1</b>
<b>SERPINB6</b>	<b>Serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 6</b>
<b>TAZ</b>	<b>Tafazzin: endocardial fibroelastosis 2</b>
<b>TGIF</b>	<b>TGFB-induced factor (TALE family homeobox)</b>
<b>TGM2</b>	<b>Transglutaminase 2 (C polypeptide, protein-glutamine-gamma-glutamyltransferase)</b>
<b>ZC3HAV1</b>	<b>Zinc finger CCCH-type, antiviral 1</b>

## II. 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

[富田 博秋]

### 1. 論文発表

#### (1) 原著

1. 富田博秋、田中千秋、兪志前、小松浩、木村好、曾良一郎、Helen B. Kim, William E. Bunney. 気分安定薬奏功機序解明のための包括的遺伝子発現解析. 臨床薬理の進歩30, 52-59, 2009.

#### (2) 総説

1. 曾良一郎、笠原好之、内海修、久保有美子、富田博秋、池田和隆：AD/HDの遺伝要因解明の現状. 分子精神医学. 9(3), 262-267, 2009. (July)

2. 富田博秋：気分障害の網羅的遺伝子発現解析. 医学のあゆみ. 229(3), 8121-8125, 2009.

(April)

3. 富田博秋、田中千晶、兪志前：交絡因子に配慮した脳バンク構築の必要性. 脳と精神の医学. 20(1): 17-24, 2009.

4. 富田博秋：死後脳研究の現在と今後. 精神医学Update—最新研究動向. 医学のあゆみ 231(10), 967-973, 2009. (December)

5. 富田博秋：Bardet-Biedl症候群. 特集 肥満—最新の基礎・臨床研究— 日本臨牀 67(2), 506-510, 2010. (February)

6. 富田博秋：死後脳研究の展望と脳バンク. 特集 内因性精神疾患の死後脳研究. 精神医学52(4), 367-376, 2010. (April)

7. Sora I, Li B, Fumushima S, Fukui A, Arime Y, Kasahara Y, Tomita H, Ikeda K. Monoamine transporter as a target molecule for psychostimulants. International Review of Neurobiology, 85: 29-33, 2009.



### III. 研究成果の刊行物・別刷

## 特集：精神疾患のブレインバンク設立に向けて

17-24

## 交絡因子に配慮した脳バンク構築の必要性

富田 博秋\*, 田中 千晶\*, 兪 志前\*

**Key words** : brain bank, postmortem brain, agonal state, tissue pH, RNA integrity, microarray

## 1. はじめに

多数の遺伝子発現量などの分子遺伝学的現象を一度に包括的に解析するハイスループット解析技術は急速な進歩を遂げてきており、これらの技術を用いて精神疾患罹患者と健常対象者の死後脳を解析し比較することで、精神疾患の病態に関連する分子遺伝学的現象を特定できる可能性が広がってきている。このような研究の必要性から、欧米を中心として世界的に脳バンクの設立が加速しているが、現在のところ、分子遺伝学的研究の対象とするに足る検体数の死後脳を集積している脳バンクは欧米に偏在し、このため、ほとんどの死後脳研究は白人の脳に基づくものになっている。遺伝的バックグラウンドの相違を考えると、日本人あるいはアジア人を対象とする死後脳研究は日本やアジア諸国の精神疾患罹患者の分子病態を解明する上で重要なことである。日本においても死後脳研究の重要性や脳バンクの必要性については年々多くの精神科医や神経科学者の関心を引くようになってきており、日本のより多くの施設において脳バンクを設立・拡充させ、また、互いに有効に連携を取る体制を模索するための試みが始まって

いる。日本は欧米に比べると一足遅れて精神疾患の分子遺伝学的研究に備えた脳バンクの整備に着手することになる訳だが、その分、欧米でのこれまでの取り組みから得られた知見・ノウハウから、効率的で有用な脳バンク運営や死後脳研究の方法を学べるという利点がある。

そのような知見の中でも最も注目すべきことのひとつに死後脳の分子遺伝学的状態から疾患病態の因子を特定する上で、病態以外の諸条件に由来する交絡因子の評価・コントロールの問題がある。解析の対象となる死後脳の分子遺伝学的状態は単に精神疾患に罹患していたか否かという均一な疾患病態に由来する因子のみを反映するものではない。精神疾患罹患者の病歴、治療歴、死亡時の病勢は多様であり、また、罹患者、対照者の死後脳の分子遺伝学的状態は、精神疾患の病態という要因と同時に、性差や飲酒、喫煙歴など様々な生前の環境、死亡年齢、死因、死亡時の状況および死後の脳の摘出や保管の条件などの様々な要因を反映する。これらの要因は、死後脳研究により病態による因子を特定する際の交絡因子となり、交絡因子の評価・コントロールを如何に行うかが、死後脳研究により病態解明の有効性、信頼性を高める鍵となる。本稿では、脳バンク運営にお

## Control of Confounding Factors in Brain Bank Management

\*東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野〔〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1〕Hiroaki Tomita, Chiaki Tanaka, Zhiqian Yu : Department of Biological Psychiatry, Tohoku University Graduate School of Medicine, 1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan.

【富田博秋 E-mail : htomita@mail.tains.tohoku.ac.jp】

ける技術的側面の重要事項となる交絡因子の評価とコントロールに関して考慮すべき案件について検討を行う。

なお、欧米ではこれらの問題は、脳組織の Quality Control (品質管理) の問題と総称されることが多く、2008年の生物学的精神医学会のシンポジウムで筆者は「品質管理に配慮した脳バンク構築の必要性」というタイトルを用いた。ここで Quality (品質) と呼ばれ問題となるものは、主に組織の保存状態、分子の Integrity (安定性) などの問題であり、解析により疾患の病態の影響を評価できる状態であるか否かという意味で High Quality (高品質)・Poor Quality (低品質) という言葉が用いられている。しかし、これを直訳して、日本において、「品質管理」「高品質」「低品質」という言葉を用いると、「品質」という言葉が生前の脳機能などその他の属性に関することなどを誤って連想させたり、脳の物質的な面が強調されて、脳組織に対する尊厳の念を関係者・協力者・市民の間で共有する上で望ましくないと考えるに至った。そこで、「品質」という訳語を用いることを避けて、この問題に関して、評価・コントロールの対象を端的に示す「Confounding factor (交絡因子)」という言葉を用いて、この問題を交絡因子の評価・コントロールの問題として検討・記載を行いたい。

## 2. 死後脳研究における交絡因子

一般に精神疾患の死後脳研究の主な目的は死後脳の組織・細胞・分子の状態を解析することで生前の精神疾患の病態が脳の組織・細胞・分子に及ぼした影響を特定することであると考えられるが、その際の交絡因子となる要因の概要を図1に示す。精神疾患罹患者に特有の生前の因子として、疾患の病型、臨床症状、病歴、発症してからの経過の長さ、死亡時の病勢、治療歴、既往歴、身体合併症などの要因は、疾患の病因・病態との関連や、これらの因子間の相互の関連について検討されなければならない。また、罹患者、対照者ともに共通する生前の因子として、性差や飲酒、喫煙歴など様々な生前の生活環境からくる要因も、死

後脳の分子遺伝学的状態に反映されることが知られている。また、死亡時の年齢、死因も死後脳の状態に影響する重要な要因となる。死亡に直結する病態の始まりから死亡に至るまでの期間で、生命をかうじて維持する程度の循環動態が保たれているものの脳などの重要臓器の機能を維持するには不十分な状態を死戦期状態 (Agonal State) と呼ぶが、死戦期に起こる脳内の分子現象の変化は、そのまま直接死後脳の分子遺伝学的状態として残るため、死戦期の因子 (Agonal Factor) は特に重要である。死後、脳が摘出、保管され解析されるまでの課程も交絡因子として検討される必要がある。死亡した時点から、脳が摘出され、冷凍庫に凍結されるまでの時間は一般に死後経過時間 (Postmortem Interval: PMI)、凍結後、解析に使用されるまで冷凍庫に保管される期間を冷凍保存期間 (Freezer Storage Time) と呼ばれ、死後脳研究に特有な交絡因子として重視される。

これまでの研究から、上記の生前、死戦期、死後の因子は脳組織の性状に特異的な影響を及ぼすことが知られ、脳組織の性状を調べることである程度客観的に評価できることがわかってきた。死戦期に長時間に渡って低酸素等の状況に暴露されることなどにより死後脳組織の pH が低下するとともに RNA 退縮が進んで RNA の完全性 (integrity) が低下することに関しては従来より多数の報告がこれを裏付けており<sup>1) 2) 6) 7) 11) 12) 15) 18) 21) 23) 25) 27) 35)</sup>、近年のマイクロアレイを用いた発現プロファイルによる評価でもこれらの因子の顕著な影響が複数の研究グループにより観察されている<sup>1) 16) 19) 20) 28) 31) 32) 34)</sup>。一方、死戦期の状況を客観的に評価することの困難さを指摘する論文<sup>34)</sup>や死戦期の状況と RNA 完全性の相関を否定する研究<sup>9) 26)</sup>もあるが、そのようなグループも RNA 完全性は重要な交絡因子としてコントロールされる必要があると結論づけている。客観的記録として特定可能な死戦期の影響、組織 pH と RNA の完全性などは死後脳研究においてコントロールを行うべき客観的な交絡因子として重要であることはコンセンサスのあるところと考えられる。また、死戦期状態や死後経過時間は特定の遺伝子の発現量に反映されるという報告もあり<sup>13) 17) 22) 24) 30)</sup>、死戦期や死後経過時間に発現

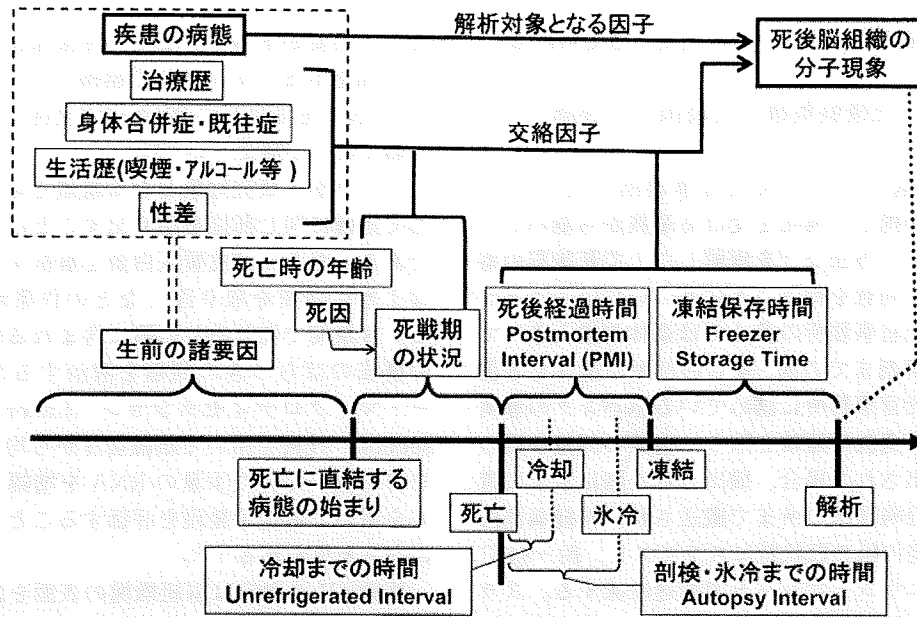


図1 死後脳を対象とする分子遺伝学的研究における交絡因子

が相関する遺伝子の発現レベルも客観的な交絡因子として使用する。また、あらゆる実験に共通することであるが、様々な解析の際のアーチファクトも交絡因子として注意を払う必要がある。以下の項では、臨床症状と死後脳を集積する上で、死後脳の交絡因子に関して配慮すべき点を検討する。

### 3. 臨床情報の集積と交絡因子の評価

精神疾患罹患者の診断、病歴、治療歴、死亡時の病勢、合併症などを正確に判断するために、適宜、遺族、主治医へのインタビュー、カルテの確認、剖検時の所見などの情報を集積し、これらの情報を総合して行われる。健常対照者についても見逃されている精神疾患既往歴がないかを慎重に調査する必要がある。また、罹患者、対照者とも、性差や飲酒、喫煙歴など、様々な生前の環境の相違、死亡時の年齢、死因、死亡前後の状況は分子の発現状況に影響することが知られ評価を要する。特に死亡前一定期間、低酸素状態、昏睡、発熱、痙攣、脱水、低血糖、頭部外傷（特に開放性）、

神経毒性物質の摂取、腎不全や多臓器不全などのエピソードがあり、徐々に衰弱して死去した場合、そのような死亡時の状況は、あらゆる要因の中でも多大に脳の mRNA やタンパク質の発現や安定性に作用することが知られ、この影響は精神疾患の及ぼす影響よりもはるかに大きいと考えられるので、この要因を十分に評価し影響を最小限にコントロールすることは重要である<sup>32)</sup>。死戦期の影響の大きい症例や組織 pH が著しく低下している脳組織は解析の対象から除外することが望ましいと考えられる<sup>16) 32)</sup>。

死戦期の影響に比べるとその他の交絡因子の影響は比較的小さいと考えられるが、性差、死亡時の年齢、服薬歴、喫煙歴なども死後脳の分子遺伝学的状態への影響が報告されており、このうち、服薬歴、喫煙歴は組織 pH に影響することも示唆されている<sup>1) 10) 20) 33)</sup>。これらの因子の影響は死戦期の影響ほどは大きくないと考えられることや、集積しうる症例数に制限があることから、抗精神病薬の未服薬症例や非喫煙例症例だけの解析を行うことを考えるのは現実的ではない。これらの因子は、統計解析の際にこれらの因子を交絡因子と

して注意深く取り扱うことが重要と考えられる。

#### 4. 死後脳集積と交絡因子の評価

米国の脳バンクは検死官事務所 Coroner's Office と連携し、検死を受ける遺族から脳バンク運営の目的・方法などを理解した上で死後脳の寄付について同意を得ることに基づいていることが多い。検死官事務所の多くでは遺体が搬入されてから検死解剖までの間、4℃の部屋に遺体を安置する。検死官事務所に詰めている脳バンクの専属スタッフが遺族に連絡を取り、遺族の同意が得られ脳が摘出された場合、摘出された脳は氷上に置かれて神経病理医の所まで搬送され、神経病理医が脳を規定の幅の冠状断にスライスし、約-84℃のアルミニウム・プレートで急速冷凍する。スライスされた脳組織ブロック（スラブ：slab）は神経病理医が神経学的病変の有無を確認する必要があり、スラブの両面を写真撮影し保存しておくことも望ましい。亡くなってから脳を凍結するまでの時間は死後経過時間（Postmortem Interval：PMI）として、分子発現状況への影響を評価する必要がある。PMIは48時間を超すとRNA退縮などへの影響が大きい、それ以内ではそう大きな影響はないとする報告が多い。死後経過時間だけでなく死後から脳組織の冷凍庫への保管の課程を更に細かく分けて、死亡してから4℃の部屋に安置されるまでの時間（Unrefrigerated Interval）、あるいは、死亡してから脳が摘出され氷上で冷却されるまでの時間（Autopsy Interval）を、評価の対象にしている脳バンクも多く、特に4℃の部屋に安置されるまでの時間が短いことは交絡因子のコントロールに重要とする知見もある<sup>30)</sup>。

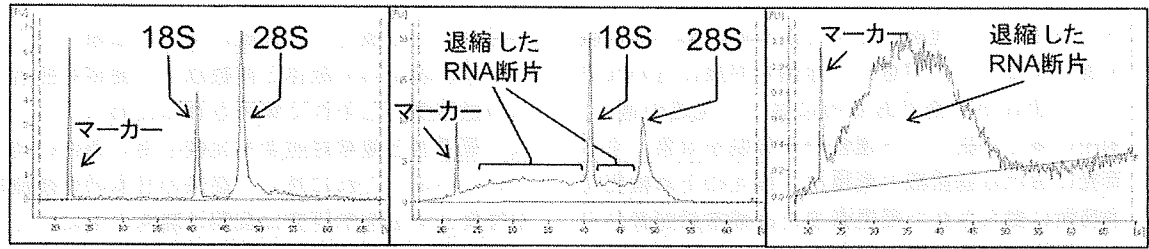
凍結された脳は-80℃の冷凍庫に保存するが、長期にわたって貴重な脳を保存する上で、停電などのトラブルによる温度上昇時に液体窒素が流入し温度を保つ装置や異常時に電話で責任者を呼び出すシステムを装着すること、トラブル発生時に組織を一時的に保管できる予備の冷凍庫スペースが必要である。凍結保存期間中に冷凍庫にトラブルがなければ大きな影響はないとする報告が多いが、PMIなどの因子とともに脳バンクごとに評価

を行う必要がある。また、冷凍保存したスラブの一部をホモジナイズして組織のpHを定量したり、RNAを抽出してRNAの完全性をチェックしておくことが望ましい<sup>51) 32)</sup>。

スラブから研究対象となる組織を切り出すに際して正確に同じ部位を切り出すことは重要な課題である。たとえば皮質灰白質を解析するのであれば丁寧に白質を取り除くなどの作業が必要になる。対象間で切り出しの際に含まれる組織・細胞の構成のばらつきの問題を解消するためレーザー・マイクロディセクション（Laser Microdissection）技術を用いて組織切片から均一な細胞群を打ち抜いて得た少量のRNAを増幅したサンプルを用いて遺伝子発現を評価することも今後盛んになると思われる<sup>31) 14)</sup>。

組織pHの測定は脳組織塊の表面を計る方法もあるが、同一部位から切り出した小切片をホモジナイズしたもののpHを測定する方法が一般的に用いられている。脳部位、ホモジナイズの条件、測定までに要する時間、室温などにより若干pHが異なるため、脳バンク間で共通のプロトコルを使用することが望ましく、少なくとも脳バンクごとには一定の条件で測定が行われる必要がある<sup>51) 32)</sup>。複数の研究から死後脳組織の分子遺伝学的状態に顕著な影響を引き起こしうるpHのcut-off値としてpH6.5前後が提唱されている<sup>9) 14) 16) 25)</sup>。もちろんcut-off値は高いほどよいと考えられるが、検体数とpHの影響の程度の兼ね合いで現実的なcut-off値の設定がなされる必要がある。pH6.5以下の組織を含む解析では大多数の遺伝子の発現レベルが組織pHと高く相関し、pHの遺伝子発現プロファイルに及ぼす影響が他の因子に比べて顕著に大きいものに対し、pH6.5以上の組織のみでの解析を行うとpHの影響は他の因子と同等のレベルに弱まる。

RNA完全性の評価は組織RNAの中で最も発現量の多いリボソームRNAの28Sと2番目に多い18S分子の発現量を定量することが一般的に行われる。図2に示す通り、28Sは生理的には18Sの倍近く発現しているが、mRNAも含めRNAが退縮するときには分子量の大きい28Sの方がその影響を受けやすいため、28S/18S比をとるとRNA



rRNA Ratio [28s / 18s]:1.9      rRNA Ratio [28s / 18s]: 1.1      rRNA Ratio [28s / 18s]:0.0  
 RNA Integrity Number (RIN):10      RNA Integrity Number (RIN):6.6      RNA Integrity Number (RIN):2.1

図2 アジレント社バイオアナライザー 2100 による 18S と 28S リボソームのピークの描出

サンプル全体が退縮している程 28S/18S 比は小さくなっていく。28S/18S 比の死後脳研究での現実的な値として 1.5 程度はあることが望ましいと考えられる。28S, 18S 発現量の評価はアガロース・ゲルでの電気泳動やアジレント社のバイオアナライザー 2100 などにより行われる。バイオアナライザー 2100 を用いると 28S と 18S のピークに加え、ベースラインの状態も含めて RNA 退縮を評価する指標 RNA integrity number (RIN) という指標が算出され、より信頼性の高い指標として広く用いられてきている<sup>29)</sup>。RIN 値は 10 を最高に RNA が退縮するに従い値が低くなる (図 2)。この他に、RNA 完全性の評価の指標として RQS (RNA quality scale) も提唱されている<sup>30)</sup>。この他、遺伝子転写物の 5' 端 (転写開始部位近傍) 上流領域の方は 3' 端 (多重アデニン付着部位近傍) 下流領域よりも早く退縮するため、特定の遺伝子の各々の部位に設計されたプライマーを用いて qRT-PCR などサンプル中に残存する転写物の 5' 部位と 3' 部位のコピー数を定量し、3' / 5' 比を算出することも可能である<sup>5) 32)</sup>。

死亡時の状況、組織 pH、RNA 完全性の評価をマイクロアレイなどの本実験を行う前に行うことが重要であることは言うまでもないが、マイクロアレイ実験を行った場合、そこから得られる豊富なデータは、死亡時の状況、組織 pH、RNA 完全性を評価する上でも有用である。また、マイクロアレイ実験中の人為的過誤、スキャンする際の気泡やアラインメントのずれなどのアーチファクト

の評価を行う上でも、実験後に実験データそのものを用いて病態解析の上での交絡因子を評価することも重要である。アフィメトリックス社のジーンチップを用いた場合、同社の RPT ファイルやバイオコンダクターから無料で提供されるデグラデーション・プロット (AffyRNAdeg : <http://rss.acs.unt.edu/Rdoc/library/affy/html/AffyRNAdeg.html>) を用いて RNA 完全性の評価が可能である。またマイクロアレイ機器の種類を問わず、クラスタリング解析、Dispersion Tree 解析、平均相関係数解析 (Average Correlation Index : ACI) を用いると死亡時の状況、組織 pH、RNA 退縮の影響を大きく受けているサンプルやマイクロアレイ実験中に大きな人為的過誤が生じたアレイを手早く確認できる<sup>19) 28) 32)</sup>。これらの解析をもとに、マイクロアレイデータにより組織 pH 低下や RNA 退縮は遺伝子発現プロファイルに大きな影響を与えるという報告が多くなされている。

今後、死戦期状況、低酸素暴露、pH 低下に敏感に反応して発現変化する遺伝子群や死後経過時間の延長に反応して発現変化する遺伝子群が特定され、これらの情報を元にした交絡因子のコントロール方法などが開発されることが望まれる。

### 5. 交絡因子から見た死後脳バンクの運営形態

従来、日本での死後脳研究における脳組織の集積は、大学病院や研究機関と協力関係にある病院で死亡した罹患者のうち、その遺族が研究の日

的・方法などを理解した上で医学研究のために脳を寄付することに同意した症例を対象に行われるという流れが主流であるのに対し、先述の通り、米国の多くの脳バンク運営や死後脳を対象とする研究における脳組織の集積は、検死のため検死官事務所に搬入された罹患者または健常対照者のうち、遺族の同意を得られたケースを対象に行われるという流れで行われる。検死官事務所に脳バンクの専属職員が常駐し、研究の対象となりうる精神疾患罹患者および健常対照者を選別し、遺族に電話などで研究の目的・方法などの概要を説明し、脳を寄付し生前の情報を収集して研究に用いることに協力が得られるかを打診し、協力への同意が得られた親族に研究の詳細を説明して文書で同意を得るといった流れをとるところが多い。これらの作業は臓器移植のコーディネーターや角膜バンクとも連携しながら行われる。同意の得られた寄付者の脳は摘出された後、匿名化のための番号が付される。それ以降の行程に関わる脳バンク職員や研究者にはこの番号のみが知らされることで、脳組織や臨床データを用いた研究に携わるものに個人情報漏洩しないよう配慮される。脳バンク専属の複数の心理士が適宜精神科医のアドバイスを得ながら、生前の臨床症状や生活歴、死亡時の状況などの情報は遺族、主治医へのインタビュー、カルテの確認、剖検時の所見などを集積、総合して、生前の臨床診断や病状の評価を行い、健常対照者に精神疾患の既往が無いことを確認する。この過程は心理学的剖検（Psychological Autopsy）という言葉で表現される。これらの手順は事前に十分な法的な検討がなされ施設の倫理委員会で厳正な審査を受け承認を得た上で実施される。

欧米の脳バンクが検死官事務所と連携するシステムであることから、結果として、遺族の同意の元に脳バンクに献体される症例は事故または急性病変が死因となって死亡することが多くなり、このため、先述の死戦期状況の影響が少ないケースが摘出・保管の対象となることが多い。近年では、長時間の死戦期を経たケースを研究あるいは集積・保管の対象から除外する脳バンクも出てきている。また、健常対照者も精神疾患罹患者も検死

の対象となる場合には同様に協力の依頼を行うため、罹患者からの献体と同数以上の健常対照者からの献体が同じ条件で集積されるため、このことは、罹患者と健常対照者を比較し易い条件に結びついている。これに対し、従来の日本の死後臓器を対象とする医学研究は長期の闘病の末に亡くなり、医療機関と遺族の間で既に形成された信頼関係にもとづく同意に伴う臓器提供であることが多く、結果として死戦期状況の影響が大きい症例が集積され易くなることになる。また、健常対照者の死後脳を集積することが困難で、罹患者と健常対照者が異なる施設、システムで集積されることも多くなりがちであり、罹患者と健常者との比較を困難にしている。

このような状況を考慮して、短期・中期的には現在の日本の死後脳を集積システムの中で、死後脳研究における交絡因子への対処法を検討する必要がある。また、中長期的には、今後、日本の文化・条件を考慮しながら、より有効に交絡因子の影響を大きく受けずに、精神疾患罹患者と健常対照者の死後脳を解析・比較できるような新しい死後脳集積のシステムを構築していくことが望ましい。そのためにも、当事者・家族を含め社会全体の脳バンクへの理解・関心が高まり、治療を受ける医療機関と遺族の間の信頼関係を越えて、社会と脳バンクの間の信頼関係が形成される必要がある。精神医療・福祉の環境改善を図る上での脳科学推進の重要性と、その一環としての脳バンクの意義・有用性を当事者・家族・市民が理解できるような情報の普及に取り組むことが重要と思われる。

## 6. おわりに

今後、倫理面、技術面に十分配慮した脳バンクのネットワークが構築され、より多くの対象を均一な条件で解析することができれば、病態解明につながる信頼性の高い解析が可能になり、将来罹患者の方々に還元しうる成果が得られるのではないかと期待される。当面は日本の実情にあった脳バンクの運営システムと交絡因子の評価・コントロールの方法が工夫・検討される必要があると考

えられる。並行して、精神疾患罹患者・家族・市民と医学研究者が、研究により病態の解明が進み、より良い治療法が開発され得るというヴィジョンを共有でき、社会に脳バンク設立・拡充を後押しする機運が高まるよう、研究者側から働きかけることも重要な課題と考えられる。

#### 文献

- 1) Bahn S, Augood SJ, Ryan M, et al (2001) Gene expression profiling in the post-mortem human brain--no cause for dismay. *J Chem Neuroanat*, 22 : 79-94
- 2) Benfenati F, Cimino M, Zoli M, et al (1991) Decrease in mRNA levels but not in the density of D2 dopamine receptors in rat striatum after transient forebrain ischemia. *Neurosci Lett*, 126: 6-8
- 3) Bernard R, Kerman IA, Meng F, et al (2008) Gene expression profiling of neurochemically defined regions of the human brain by in situ hybridization-guided laser capture microdissection. *J Neurosci Methods*,
- 4) Bonneuil N (2007) Ageing laws for the human frontal cortex. *Ann Hum Biol*, 34 : 484-492
- 5) Bunney WE, Bunney BG, Vawter MP, et al (2003) Microarray technology: a review of new strategies to discover candidate vulnerability genes in psychiatric disorders. *Am J Psychiatry*, 160: 657-666
- 6) Burke WJ, O'Malley KL, Chung HD, et al (1991) Effect of pre- and postmortem variables on specific mRNA levels in human brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 11 : 37-41
- 7) Chevyreva I, Faull RL, Green CR, et al (2008) Assessing RNA quality in postmortem human brain tissue. *Exp Mol Pathol*, 84 : 71-77
- 8) Copois V, Bibeau F, Bascoul-Mollevi C, et al (2007) Impact of RNA degradation on gene expression profiles : assessment of different methods to reliably determine RNA quality. *J Biotechnol*, 127 : 549-559
- 9) Ervin JF, Heinzen EL, Cronin KD, et al (2007) Postmortem delay has minimal effect on brain RNA integrity. *J Neuropathol Exp Neurol*, 66 : 1093-1099
- 10) Halim ND, Lipska BK, Hyde TM, et al (2008) Increased lactate levels and reduced pH in post-mortem brains of schizophrenics : medication confounds. *J Neurosci Methods*, 169 : 208-213
- 11) Hardy JA, Wester P, Winblad B, et al (1985) The patients dying after long terminal phase have acidotic brains; implications for biochemical measurements on autopsy tissue. *J Neural Transm*, 61 : 253-264
- 12) Harrison PJ, Heath PR, Eastwood SL, et al (1995) The relative importance of premortem acidosis and postmortem interval for human brain gene expression studies : selective mRNA vulnerability and comparison with their encoded proteins. *Neurosci Lett*, 200 : 151-154
- 13) Hashimoto K, Sawa A, Iyo M (2007) Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders. *Biol Psychiatry*, 62 : 1310-1316
- 14) Hemby SE, Ginsberg SD, Brunk B, et al (2002) Gene expression profile for schizophrenia : discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. *Arch Gen Psychiatry*, 59 : 631-640
- 15) Hynd MR, Lewohl JM, Scott HL, et al (2003) Biochemical and molecular studies using human autopsy brain tissue. *J Neurochem*, 85 : 543-562
- 16) Iwamoto K, Bundo M, Kato T (2005) Altered expression of mitochondria-related genes in post-mortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet*, 14 : 241-253
- 17) Iwamoto K, Bundo M, Ueda J, et al (2006) Expression of ribosomal subunit genes increased coordinately with postmortem interval in human brain. *Mol Psychiatry*, 11 : 1067-1069
- 18) Kingsbury AE, Foster OJ, Nisbet AP, et al (1995) Tissue pH as an indicator of mRNA preservation in human post-mortem brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 28 : 311-318
- 19) Li JZ, Vawter MP, Walsh DM, et al (2004) Systematic changes in gene expression in post-mortem human brains associated with tissue pH and terminal medical conditions. *Hum Mol*



- Genet, 13 : 609-616
- 20) Lipska BK, Deep-Soboslay A, Weickert CS, et al (2006) Critical factors in gene expression in postmortem human brain : Focus on studies in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 60 : 650-658
  - 21) Miller MT, Sleight J, Rawlinson F, et al (1990) Amoxapine overdose : recovery after severe metabolic acidosis (pH 6.69) and status epilepticus. *Anaesth Intensive Care*, 18 : 246-248
  - 22) Miller P, Peers C, Kemp PJ (2004) Polymodal regulation of hTREK1 by pH, arachidonic acid, and hypoxia : physiological impact in acidosis and alkalosis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 286 : C272-282
  - 23) Morrison-Bogorad M, Zimmerman AL, Pardue S (1995) Heat-shock 70 messenger RNA levels in human brain : correlation with agonal fever. *J Neurochem*, 64 : 235-246
  - 24) Pardue S, Zimmerman AL, Morrison-Bogorad M (1994) Selective postmortem degradation of inducible heat shock protein 70 (hsp70) mRNAs in rat brain. *Cell Mol Neurobiol*, 14 : 341-357
  - 25) Paschen W, Djuricic B, Mies G, et al (1987) Lactate and pH in the brain : association and dissociation in different pathophysiological states. *J Neurochem*, 48 : 154-159
  - 26) Popova T, Mennerich D, Weith A, et al (2008) Effect of RNA quality on transcript intensity levels in microarray analysis of human post-mortem brain tissues. *BMC Genomics*, 9 : 91
  - 27) Ravid R, Van Zwielen EJ, Swaab DF (1992) Brain banking and the human hypothalamus-factors to match for, pitfalls and potentials. *Prog Brain Res*, 93 : 83-95
  - 28) Ryan MM, Huffaker SJ, Webster MJ, et al (2004) Application and optimization of microarray technologies for human postmortem brain studies. *Biol Psychiatry*, 55 : 329-336
  - 29) Schroeder A, Mueller O, Stocker S, et al (2006) The RIN : an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements. *BMC Mol Biol*, 7 : 3
  - 30) Spokes EG, Garrett NJ, Iversen LL (1979) Differential effects of agonal status on measurements of GABA and glutamate decarboxylase in human post-mortem brain tissue from control and Huntington's chorea subjects. *J Neurochem*, 33 : 773-778
  - 31) Stan AD, Ghose S, Gao XM, et al (2006) Human postmortem tissue : what quality markers matter? *Brain Res*, 1123 : 1-11
  - 32) Tomita H, Vawter MP, Walsh DM, et al (2004) Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile : quality control in microarray analyses of postmortem human brain. *Biol Psychiatry*, 55 : 346-352
  - 33) Vawter MP, Evans S, Choudary P, et al (2004) Gender-specific gene expression in post-mortem human brain : localization to sex chromosomes. *Neuropsychopharmacology*, 29 : 373-384
  - 34) Weis S, Llenos IC, Dulay JR, et al (2007) Quality control for microarray analysis of human brain samples : The impact of postmortem factors, RNA characteristics, and histopathology. *J Neurosci Methods*, 165 : 198-209
  - 35) Yates CM, Butterworth J, Tennant MC, et al (1990) Enzyme activities in relation to pH and lactate in postmortem brain in Alzheimer-type and other dementias. *J Neurochem*, 55 : 1624-1630

## 気分安定薬奏功機序解明のための包括的遺伝子発現解析

Comprehensive gene expression study for elucidating the mechanism of action of mood stabilizers

富田 博秋\*<sup>1</sup> 田中 千晶\*<sup>2</sup> 俞 志前\*<sup>3</sup> 小松 浩\*<sup>4</sup> 木村 好\*<sup>5</sup> 曾良 一郎\*<sup>6</sup>  
ヘレンB.キム\*<sup>7</sup> ウィリアムE.バニー\*<sup>8</sup>

Key words : 気分安定薬、双極性障害、遺伝子発現、マイクロアレイ、リチウム

### はじめに

双極性障害は躁状態とうつ状態を呈する疾患で、病状が再燃、再発し易く、生涯に渡って罹患者や家族の社会生活に大きな影響を及ぼすことが多い。生涯罹患者率は顕著な躁状態を呈する双極Ⅰ型障害だけでも全人口の0.8%前後、軽度の躁状態の程度の軽い双極Ⅱ型障害を含めるとその2~3倍にのぼると見積られる。1949年以降のCade, Stromgren, Schou, Baastrup等の功績によって、リチウムイオンが抗躁作用および再燃予防作用を持つことが確認され、双極性障害の治療薬として普及した<sup>1)</sup>。一方、1980年代以降、抗てんかん剤のうちバルプロ酸、カルバマゼピンにも同様に抗躁作用および再燃予防作用が確認され、リチウムとあわせて気分安定薬 (Mood Stabilizer) の総称で現在に至るまで、双極性障害治療の中心的な薬剤として広く用いられてきている。その後、新規の抗てんかん剤が開発されるたびに、気分安定薬としての有効性についても臨床治験がなされてきており、なかでもラモトリジンは気分安定薬として有用性が確認され、欧米各国で広く使用されるに至っている。しかし、これまでの気分安定薬は抗躁作用、抗うつ作用の発現に時間がかかり、効

果が不十分であるために、抗精神病薬、抗うつ剤なしに治療を行うことは困難なことが多い。さらに再燃予防作用が不十分であったり、副作用等によるコンプライアンス低下のために、症状の再燃、再発を繰り返し、社会機能の低下を余儀なくされることも多い。より有効な双極性障害治療薬の開発が待たれるが、双極性障害の病態にも、従来の気分安定薬の奏功機序にも不明な点が多く、新規薬剤の開発を困難にしている。

これまでの気分安定薬の奏効機序に関する研究としては米国のKlein等、Jope等がリチウムのGSK3ベータ活性抑制、バルプロ酸のヒストン修飾やリチウムの日内変動に関連/関係する転写因子への関与など重要な研究を行っている<sup>2-4)</sup>。米国のManji等は動物実験などを通して気分安定薬のBCL2, BAG1, AMPA遺伝子発現への影響や細胞可塑性への役割を提唱するなど活発な研究を行っている<sup>5-7)</sup>。また、イスラエルのAgam, Belmaker等や英国のHarwood等はイノシトールリン酸系の、米国のRapoport等はアラキドン酸カスケードの気分安定薬の奏効機序における重要性を報告している<sup>8-10)</sup>。しかし、これまでに気分安定薬の奏効機序への関与が示唆されている分子がどのように奏効機序に関わっているのか、気分安

* <sup>1</sup> TOMITA HIROAKI	東北大学大学院医学系研究科	精神・神経生物学分野
* <sup>2</sup> TANAKA CHIAKI	同	上
* <sup>3</sup> YU, ZHIQIAN	同	上
* <sup>4</sup> KOMATSU HIROSHI	同	上
* <sup>5</sup> KIMURA KONOMI	同	上
* <sup>6</sup> SORA ICHIRO	同	上
* <sup>7</sup> KIM, HELEN B	カリフォルニア大学アーバイン校医学部	精神医学講座
* <sup>8</sup> BUNNEY, WILLIAM E	同	上

定薬の奏効機序に関わるはずの多数の分子群の中でどの程度の重要性を担っているのかは不明で、今後マイクロアレイを始めとする包括的な分子遺伝学的な研究が進むことでより重要で治療法開発に有効な分子が同定されることが期待される。

マイクロアレイ法等を用いた気分安定薬による遺伝子発現変化の検討として、米国のBosetti等、Niculescu等、Scolnick等、カナダのYoung等、オーストラリアのSchofield等のグループが、気分安定薬を投与したラットやマウスの脳組織における発現を解析している<sup>11-14)</sup>が、(1)げっ歯類とヒトでは遺伝子発現の調節機構に大きな違いがある。(2)解析に用いられる組織ブロックは神経細胞、各種グリア細胞の多細胞種からなるため、個体差や組織を切り出す過程で生じるブロックに含まれる細胞種の比率のばらつきが偽陽性を引き起こす。(3)気分安定薬は脳内に多種存在する神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの各々で細胞種特異的な影響を及ぼすことが示唆されているが組織ブロックを用いた研究では細胞種特異的な影響が打ち消されて検出されない、などの問題が残されている。

現在、用いられている複数の気分安定薬のヒト脳の神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトにおける遺伝子発現調節への影響を包括的に評価して、各薬剤、各細胞種に特異的な現象や、薬剤間、細胞種間に共通の現象を特定することは、気分安定薬の奏功機序を解明する上で有用と考えられる。本研究では、現在広く使用されている気分安定薬であるリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、およびラモトリジンの4剤をヒト脳の神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトに由来する培養細胞に投与し、遺伝子発現プロファイルへの影響をマイクロアレイ解析により検討した。

### 対象および方法

ヒトの神経細胞由来の培養細胞SK-N-SH細胞、ヒト・アストロサイト由来のU-87 MG細胞は

American Type Culture Collection (ATCC) から購入した。ヒト・オリゴデンドロサイト由来の培養細胞OL細胞はScripps研究所のJuan Carlos De La Torre先生のご厚意により提供を受けた。SK-N-SH細胞およびU-87 MG細胞は10%ウシ胎児血清を添加したEagle's Minimum Essential Medium (EMEM)、OL細胞は10%ウシ胎児血清を添加したDulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) を用いて37°C、5%CO<sub>2</sub>濃度のCO<sub>2</sub>インキュベータ内で培養した。塩化リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンを各々の治療域濃度(0.75mM, 0.5mM, 50μM, 5μM)で混入した培養液を準備した。この際、カルバマゼピンとラモトリジンは難溶性のため一旦Dimethyl sulfoxide (DMSO) 溶媒に溶解した上で各培養液に添加した。この際、培養液中のDMSOの最終濃度は0.15%であったので、カルバマゼピンとラモトリジン混入溶液の対照として、溶媒であるDMSOを0.15%濃度に混入した培養液を準備した。上記、3種の培養細胞を①塩化リチウム、②バルプロ酸、③カルバマゼピン、④ラモトリジン、⑤DMSO、⑥薬剤非添加の6種類の培養液中で5日間培養を行った。18種(3細胞種×6条件の薬剤投与)の細胞の各々から総RNAをRNeasy Mini Kit (Qiagen社, Valencia) およびRNase-free DNase I (Qiagen社, Valencia) を用いて抽出・精製し、2100 BioAnalyzer (Agilent社, Palo Alto) にてRNAのクオリティーを確認した。500 ngの総RNAからIllumina社が提供するプロトコルに従ってビオチン化したcRNAを合成し、Human-6 V2 microarray (Illumina社, San Diego) に16時間ハイブリダイズした後、非特異的な結合を洗浄除去し、専用のスキャナーで各アレイの信号強度を測定した。各アレイのプロープの信号強度をBeadStudio 3.1ソフトウェアで算出し、各薬剤、各細胞種に特異的に発現変化を示す遺伝子群や、薬剤間、細胞種間に共通に発現変化を示す遺伝子群を特定した。GeneSpring GX version 8.0 (Agilent社, Palo Alto) 等のソフトウェアを用い

て、投与薬剤間や遺伝子間の発現プロファイルの階層クラスター等の検討を行った。また、Expression Analysis Systematic Explorer (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) を用いて、気分安定薬投与により顕著に発現変化を起こす遺伝子カテゴリの検討を行った。

### 結 果

ヒト神経細胞由来のSK-N-SH細胞にリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンを投与したところ、各々853個、2661個、1669個、2570個の遺伝子が20%以上発現誘導され、1701個、2868個、2822個、3675個の遺伝子が20%以上発現を抑制された。SK-N-SH細胞において各投与薬剤間で共通して発現が誘導（上段）または抑制（下段）される遺伝子の数を図1上に示す。リチウムとバルプロ酸との間に共通して180個の遺伝子が

誘導され、398個の遺伝子が抑制され、カルバマゼピンとラモトリジンとの間に共通して810個の遺伝子が誘導され、1436個の遺伝子が抑制された。これらの薬剤間の共通性は期待値よりも有意に高く、他の薬剤間の組み合わせではこのような高い共通性は認められなかった。4剤に共通して52個の遺伝子が誘導され、174個の遺伝子が抑制された。

ヒト・アストロサイト由来のU-87 MG細胞にリチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリジンを投与したところ、各々1092個、2718個、1659個、2583個の遺伝子が20%以上発現誘導され、1332個、2657個、793個、3216個の遺伝子が20%以上発現を抑制された。U-87 MG細胞において各投与薬剤間で共通して発現が誘導（上段）または抑制（下段）される遺伝子の数を図1左下に示す。リチウムとバルプロ酸との間に共通して366個の

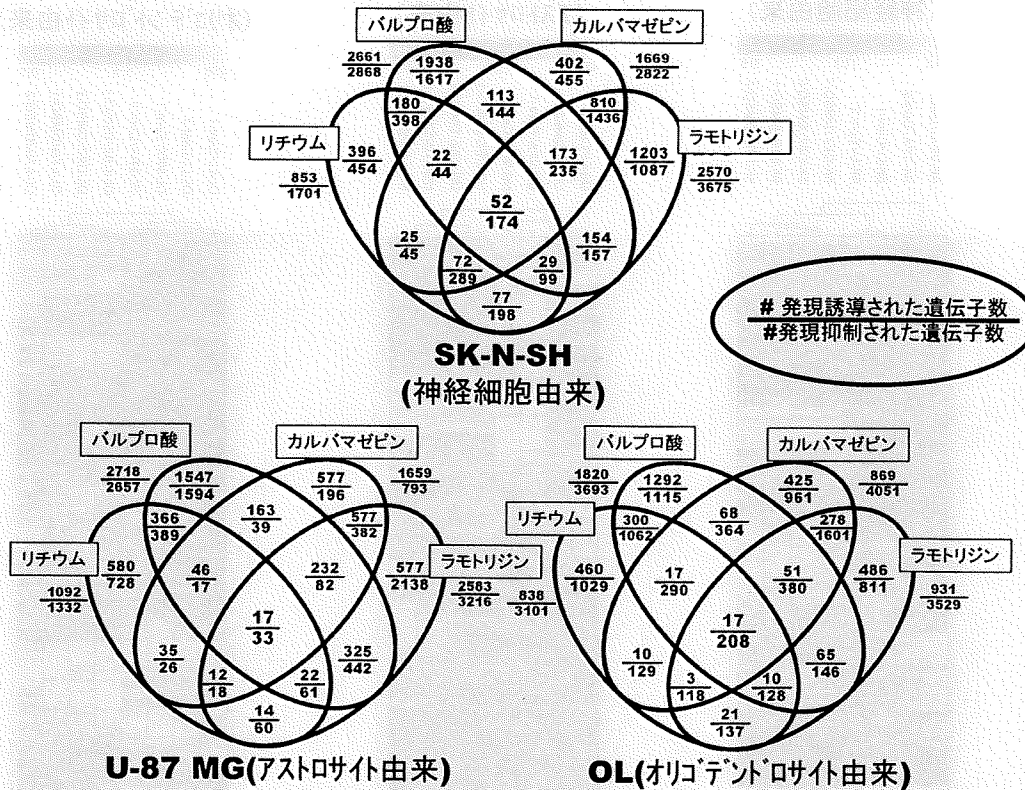


図1 各ヒト脳由来細胞において4剤の気分安定薬により共通に発現が誘導または抑制された遺伝子数