

BDNF の分泌阻害を介して大脳皮質ニューロンの興奮性シナプスを減少させる。(Phencyclidine decreases excitatory synaptic sites through suppression of BDNF secretion in cortical neurons) Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会, 2010 年 9 月 3 日、神戸.

22) Ninomiya M, Numakawa T, Adachi N, Furuta M, Chiba S, Richards M, Shibata S, Kunugi H (二宮碧、沼川忠広、安達直樹、古田都、千葉秀一、リチャーズ・ミスティ、柴田重信、功刀浩) : Cultured neurons from intrauterine growth retardation rats display lower response to brain-derived neurotrophic factors. Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会, 2010 年 9 月 3 日,神戸.

23) Furuta M, Numakawa T, Ninomiya M, Chiba S, Kajiyama Y, Shibata S, Funabashi T, Akema T, Kunugi T (古田都、沼川忠広、二宮碧、千葉秀一、梶山優、柴田重信、船橋利也、明間立雄、功刀浩) : Possible changes in neurotrophin signalings and levels of ER α are involved in anxiety- and depressive-like behaviors in postpartum rats after weaning. Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会, 2010 年 9 月 3

日、神戸.

24) Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Kunugi H (千葉秀一、沼川忠広、二宮碧、功刀浩) : Antidepressant- and Anxiolytic-like Properties of Dopamine Receptor Agonist Cabergoline. ドーパミン受容体アゴニストカベルゴリンの抗うつ・抗不安薬様作用. Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会, 2010 年 9 月 4 日、神戸.

25) 難波隆志、服部功太郎、功刀浩、貝淵弘三、内野茂夫、高坂新一 : NMDA 受容体シグナルは統合失調症脆弱性因子 DISC1 を介して成体海馬における新生ニューロンの移動を制御する。(Namba T, Hattori K, Kunugi H, Kaibuchi K, Uchino S, Kohsaka S: Administration of NMDA receptor antagonist causes down-regulation of DISC1 expression and over migration of newly generated neurons in the adult hippocampus.) Neuro2010 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会 合同大会, 2010 年 9 月 4 日、神戸.

26) Fujii T, Uchiyama H, Yamamoto N, Hori H, Tatsumi M, Ishikawa M, Arima K, Higuchi T, Kunugi H: Possible association of the semaphorin 3D gene (SEMA3D) with

schizophrenia. Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会合同大会)、2010 年 9 月 3 日、神戸

27) 若林千里、篠山大明、功刀浩：統合失調症患者における血中サイトカイン濃度およびサイトカイン関連遺伝子の SNP 解析. Neuro2010 (第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会合同大会)、2010 年 9 月 3 日、神戸

28) 服部功太郎、田中治子、山本宜子、内山博文、堀弘明、寺石俊也、寺石俊也、木下裕紀子、松尾淳子、川本由実子、有馬邦正、樋口輝彦、功刀浩：統合失調症・気分障害のゲノム・死後脳を用いた Fyn チロシンキナーゼの解析. 第 29 回躁うつ病の薬理・生化学的研究懇話会、箱根、2010 年 6 月 19 日

29) 松尾淳子、木下裕紀子、川本由実子、須藤志保、橋倉都、堀弘明、寺石俊也、篠山

大明、服部功太郎、尾関祐二、有馬邦正、石川正憲、岡本長久、樋口輝彦、兼田康宏、功刀浩：統合失調症患者とうつ病患者の認知機能に関する統合失調症認知機能簡易評価尺度 (BACS-J) による検討. 第 106 回日本精神神経学会総会、広島、5.20, 2010.

30) 川本由実子、松尾淳子、橋倉都、木下裕紀子、須藤志保、堀弘明、寺石俊也、篠山大明、服部功太郎、尾関祐二、有馬邦正、石川正憲、岡本長久、樋口輝彦、功刀浩：統合失調症患者の運動機能障害に関するペグボードと握力検査による検討. 第 106 回日本精神神経学会総会、広島、5.20, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 BACS-J スコアの疾患間の比較

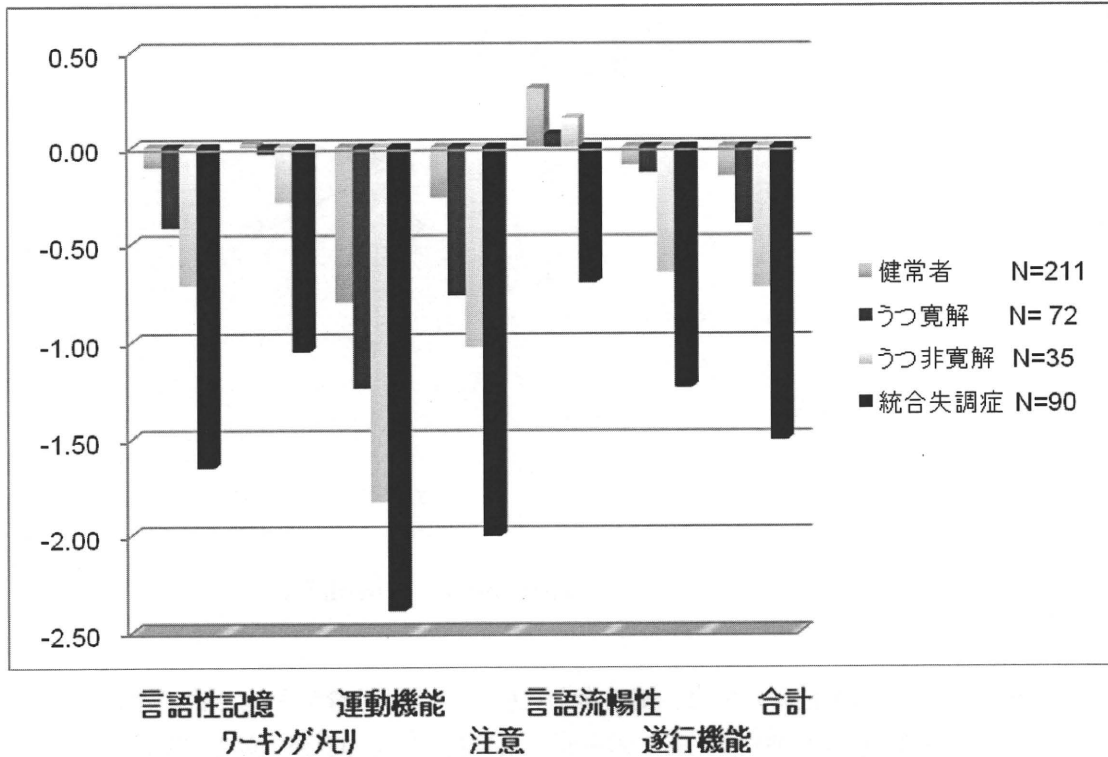


図2 統合失調症、うつ病、健常者におけるプレパルスインヒビション

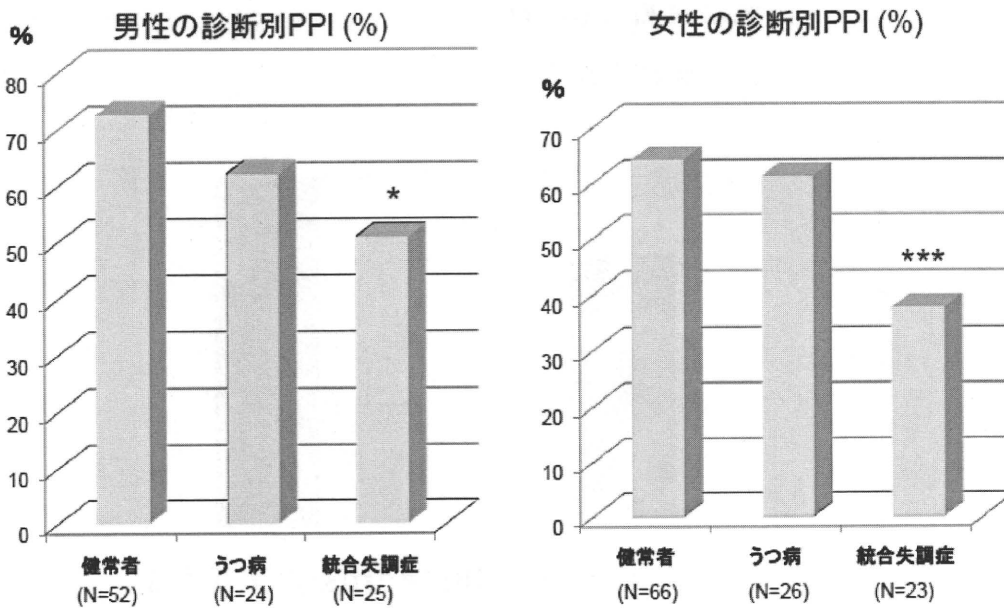


図3 プレパルスインヒビションとグルタミン濃度 (MRS) との逆相関

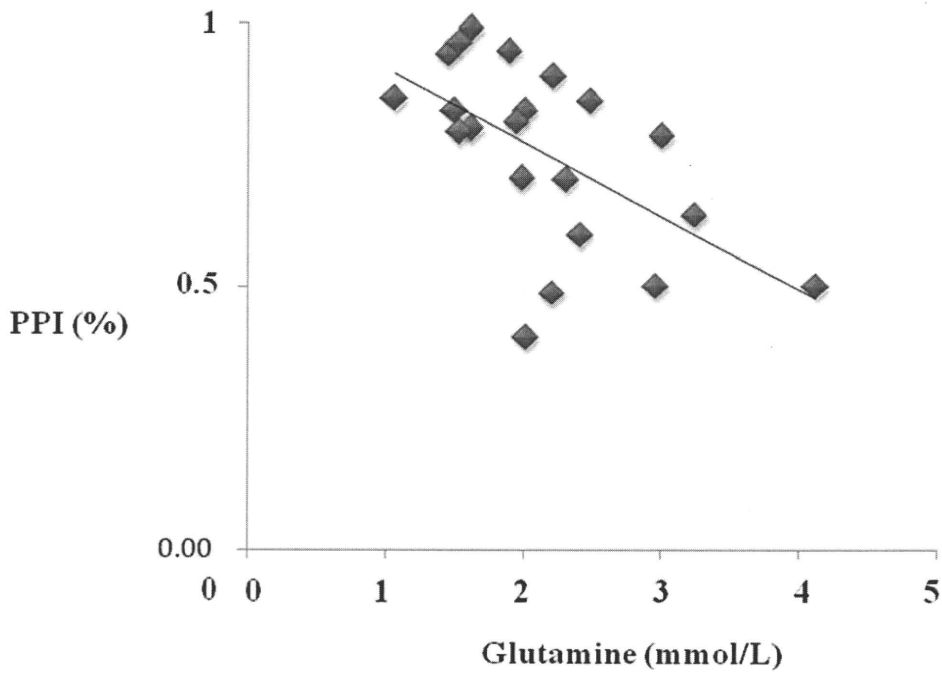


図4 統合失調症患者（急性期）では、健常者と比較して、低用量デキサメサゾンテスト後のコルチゾール値 ($p < 0.05$) とコルチゾール/DHEAS 比 ($p < 0.01$) が上昇していた。

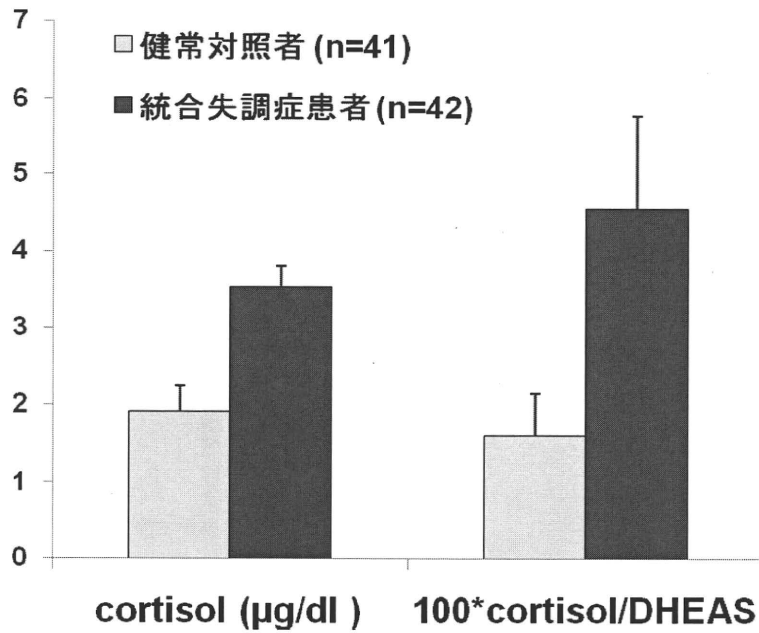


図5 MRIを用いた女性の統合失調症診断に有用な脳領域
(A, Bは体積変化のない脳構造、C~Eは体積変化がある領域)

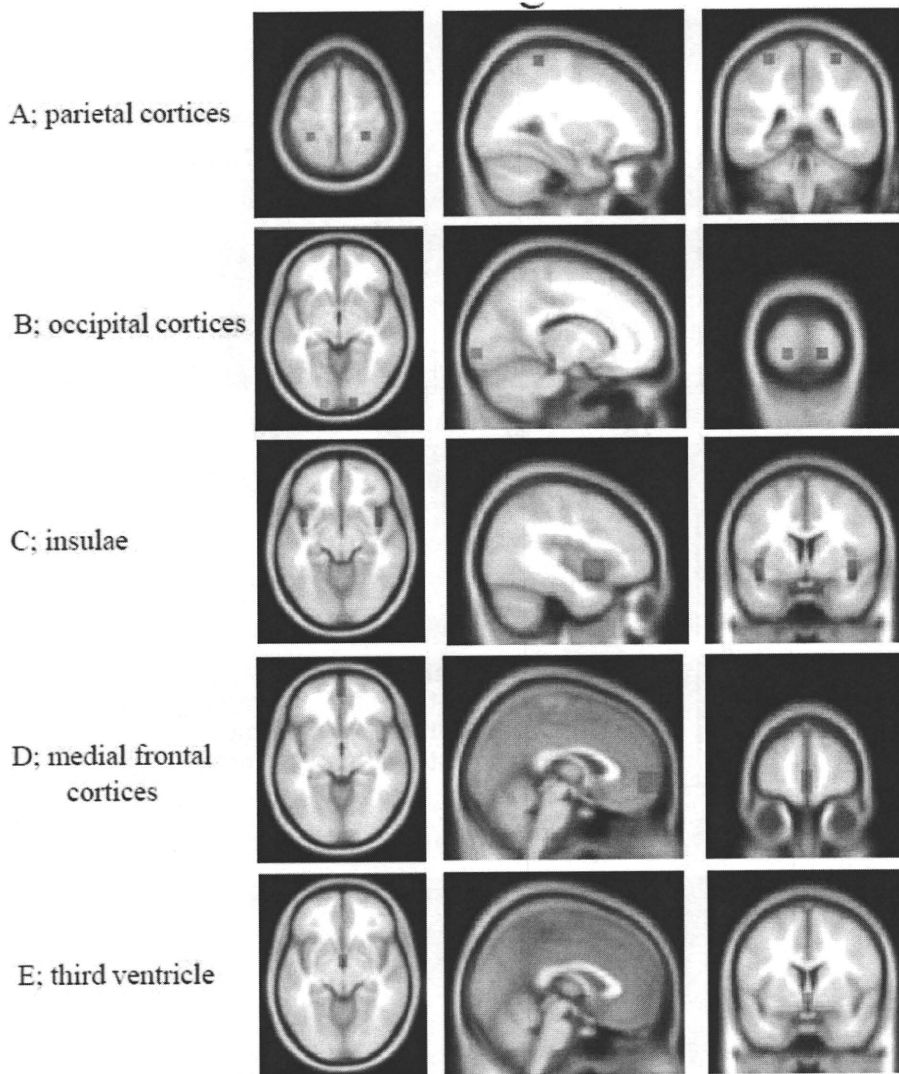
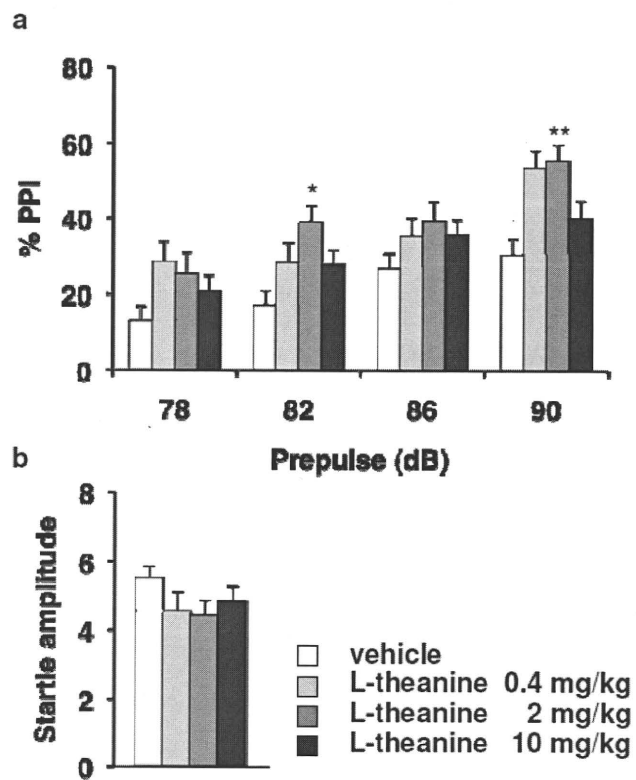


図6 テアニンの持続的投与によってプレパルスインヒビションの改善するが(a)、
プレパルスのない驚愕反応は変化しない(b)



MRIによる統合失調症の画像診断

分担研究者 佐藤典子

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター病院 放射線診療部・部長

研究要旨

このたび我々は統合失調症発症のリスクが極めて高いと考えられる群における脳局所変化を明らかにすることを目的とした。Pre-onset 群において、両側側頭葉皮質が健常群と比較して有意に萎縮していた。初発統合失調症群ではPre-onset 群でみられた皮質変化に加えて前部帯状回領域での容量減少も認められた。DTIを用いた検討によると、Pre-onset 群およびの初発統合失調症群では健常群と比較して側頭葉を走行する神経線維のうち両側 SLF 領域においてFA値の低下が認められた。今後画像検査によって pre-onset 群を早期発見することが可能になること、さらには統合失調症への移行を予測することが可能になることが期待された。

A. 研究目的

近年のNeuroimagingを用いた研究により、統合失調症における局所脳変化が明らかとなってきた。特に統合失調症発症のハイリスク群における脳局所変化を明らかにすることは、疾患の早期発見、早期治療の側面からも期待されている。

を撮影、このデータから3群の相違を検討した。

（倫理面への配慮）

対象者には検査に関する説明を文書を用いて行い、文書にて同意を得た。なお本研究は国立精神神経センター倫理委員会の承認を得て実施した。

B. 研究方法

臨床症状として統合失調症の診断基準は満たさないものの、統合失調症様の思路障害を呈しているpre-onset群10人、初発統合失調症患者9人、健常群10人を対象とした。拡散テンソル画像および3D-T1weighted image

C. 研究結果

Pre-onset群において、両側側頭葉皮質が健常群と比較して有意に萎縮していた。初発統合失調症群ではPre-onset群でみられた皮質変化に加えて前部帯状回領域での容量減少も認められた。DTIを用いた検討に

よると、Pre-onset群およびの初発統合失調症群では健常群と比較して側頭葉を走行する神経線維のうち両側SLF領域においてFA値の低下が認められた。

D. 考察

今回の結果より、統合失調症の神経変化は、SLF含む側頭領域の障害が前駆期より生じていることが明らかとなった。また、幻覚や妄想を呈した初発統合失調症の群において前部帯状回の大脳皮質容量が減少していたことは、統合失調症の陽性症状の責任病巣の一部として前部帯状回が関与しているであろうと言うこれまでの報告と合致するものであった。

E. 結論

今回の結果を応用することで、今後画像検査によってpre-onset群を早期発見することが可能になること、さらには統合失調症への移行を予測することが可能になることが期待された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ota et al., Neuroimaging study in subjects at high risk of psychosis revealed by the Rorschach test and first-episode Schizophrenia. Acta Neuropsychiatrica (In press)

2. 学会発表

なし

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

G. 研究発表

現在投稿準備中

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

MRS を用いたバイオマーカーの開発

分担研究者 石川正憲
国立精神・神経センター病院精神科医長

研究要旨

このたび我々は統合失調症の情報処理障害の指標と考えられているプレパルスインヒビションと局所脳関連を MRI や MRS を用いて検討した。健常女性群において、PPI と下頭頂葉、扁桃体、視床などの領域の FA 値に有意な相関を認めた。MD を用いた検討では側坐核や視床、頭頂葉などの領域で有意な相関を認めた。T1 強調画像を用いた皮質容量との相関では頭頂葉や鉤状束領域の皮質部分と PPI との間に相関が認められた。MRS のデータからは頭頂葉領域の Glx と PPI との間に相関が認められた。今回の結果から PPI とグルタミン酸系神経の関連が示唆された。

A. 研究目的

プレパルスインヒビション (PPI) の低下は感覚のフィルター機構の障害と言われており、統合失調症では有意に障害を受けることが指摘されている。このたび我々は PPI の局所脳関連の検討を MRI、MRS など multimodality をもちいて検討した。

B. 研究方法

B. 研究方法

構造化面接によって精神疾患を除外された健常群 25 人を対象とした。頭部画像は Siemens 社製 1.5T Magnetom Vision を用い DTI および MRS などを施行した。MRS は統合失調症にて障害が指摘されている左上縦束と、左前視床放線を中心とした左前頭葉白質領域

に関心領域を設置した。

(倫理面への配慮)

対象者に対し研究の目的、方法を十分に説明したうえで書面にて同意を得た。なお本研究は当センターの倫理委員会で承認を得ている。

C. 研究結果

健常女性群において、PPI と下頭頂葉、扁桃体、視床などの領域の FA 値に有意な相関を認めた。MD を用いた検討では側坐核や視床、頭頂葉などの領域で有意な相関を認めた。T1 強調画像を用いた皮質容量との相関では頭頂葉や鉤状束領域の皮質部分と PPI との間に相関が認められた。MRS のデータからは頭頂葉領域の Glx と PPI との間に相関が認められた。

総括研究報告書に記入。

D. 考察

まず健常女性を対象とした結果より、PPIでは扁桃体—視床—頭頂葉の circuit が深く関連している可能性が示唆された。fMRIを用いた先行研究より頭頂葉などの領域が PPI に関連していることが知られていたが、今回 DTI を用いた研究から、白質ネットワークに関連していることが明らかとなった。また頭頂葉領域のグルタミン酸系神経が関与していることも明らかとなった。

E. 結論

今回の結果から PPI とグルタミン酸系神経の関連が示唆された。今後はグルタミン酸系に作用する内服薬やサプリメントなどの利用により PPI の改善が図れるかの検証が必要である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Ota et al., Neuroimaging study in subjects at high risk of psychosis revealed by the Rorschach test and first-episode Schizophrenia. Acta Neuropsychiatrica (In press)

2. 学会発表

なし

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

細胞生物学的遺伝子機能解析

分担研究者 沼川忠広

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第三部・室長

研究要旨

人や動物において、統合失調症様症状(陽性・陰性症状)を誘発することで知られるフェンサイクリジン(PCP)の中枢ニューロンへの影響を、BDNFの機能阻害を介していると仮定して解析を行った。PCPは、大脳皮質ニューロンにおいて、シナプス数を減少させるが、BDNFを外から加えると回復した。これは、PCPによるシナプス阻害は、BDNF機能を低下させることに起因している可能性を示す。

A. 研究目的

脳由来神経栄養因子は統合失調症のリスク遺伝子である可能性が示唆されている。そこで人や動物において統合失調症様症状を誘発するフェンサイクリジン(PCP)の作用メカニズムにおけるBDNFの役割を細胞レベルで明らかにすることを目的にする。

B. 研究方法

ラット脳から培養大脳皮質ニューロンを用意し、PCPを投与して、主にBDNFの発現や機能変化の解析を行った。また、細胞の構造やシナプス機能の変化にも注目した。

(倫理面への配慮)

動物実験では、綿密な研究計画を行い、使用する動物の数、そして与える苦痛が最小限になるよう十

分配慮した(所属委員会の承認済み)。

C. 研究結果

PCP投与48時間後では、シナプスの形成が阻害されていた。PCPと同時にBDNFを外から添加すると、PCPによるシナプス阻害は回復した。グルタミン酸刺激によるカルシウム流入は、PCPで阻害され、この阻害効果は少なくとも、PCP投与6時間後まで持続した。同時に、細胞外へのBDNFの放出が半減していた。

D. 考察

PCPのカルシウム流入への影響から、グルタミン酸受容体機能への阻害を原因とする、BDNFのカルシウム依存的な細胞外放出の抑制が起こる可能性がある。このBDNF放出量の減少がシナプス数の低下、そして統合失調症様応答の原因である可能

性がある。

E. 結論

PCPは、BDNFの分泌を阻害し、中枢神経細胞のシナプス機能を抑制する可能性がある。

F. 健康危険情報

総括報告書に記載。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kunugi H, Hori H, Adachi N, and Numakawa T. Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. *Psychiatry Clin. Neurosci.* (2010) 64:447-459. Review.
2. Numakawa T, Yokomaku D, Richards M, Hori H, Adachi N, and Kunugi H. Functional interactions between steroid hormones and neurotrophin BDNF. *World J. Biol. Chem.* (2010) 1, 133-143. Review.
3. Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Yoon HS, and Kunugi H. Cabergoline, a dopamine receptor agonist, has an antidepressant-like property and enhances brain-derived neurotrophic factor signaling. *Psychopharmacology (Berl)* (2010) 211, 291-301.

4. Ninomiya M, Numakawa T, Adachi N, Furuta M, Chiba S, Richards M, Shibata S, and Kunugi H. Cortical neurons from intrauterine growth retardation rats exhibit lower response to neurotrophin BDNF. *Neurosci Lett.* (2010) 476, 104-109.

2. 国際学会発表

- 1 Phencyclidine decreases excitatory synapses: possible involvement of dysfunction of brain-derived neurotrophic factor. Adachi, N., Numakawa, T., Kumamaru, E., Itami, C., Iijima, Y., Richards, M., Katoh-Semba, R., and Kunugi, H. The Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN) 10 17-20, 2010, Phuket Island, Thailand,
- 2 . Glucocorticoid suppresses BDNF-triggered glutamate release via decreasing interaction between glucocorticoid receptor and TrkB. Numakawa, T. Adachi, N. Kumamaru, E. Yagasaki, Y. Izumi, A. and Kunugi H, APSN, 10. 17-20, 2010, Phuket Island, Thailand,

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（精神障害分野））
分担研究報告書

統合失調症の候補遺伝子研究による治療標的分子の解明

分担研究者 尾崎紀夫 名古屋大学 大学院医学系研究科 教授

研究要旨

メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）は、脳内におけるメチル基供与の主要経路に関与し、神経毒性作用を有するホモシステインをメチル化してメチオニンに変換する働きや、ドパミンのメチル化に関与している酵素である。MTHFR が重度に機能欠損すると血中ホモシステイン濃度が上昇し、統合失調症様の精神症状を呈することが報告されている。本研究では、MTHFR の全遺伝子領域について関連解析および imputation 解析を実施し、2つの機能的多形 [rs1801133 (C677T)、rs1801131 (A1298C)] について既報 18 研究の結果を合わせメタ解析を行った。関連解析の結果、アレル、ジェノタイプに関して統合失調症との間に有意な関連は認められなかったが、ハプロタイプ (rs1801133、rs17421511、rs17037396、rs9651118) に関して弱い関連が認められた。Imputation 解析の結果、MTHFR の遺伝子領域に関連のある SNPs が認められた。独立したサンプルにより上述の結果を検証したところ、有意な関連は認められなかった。一方で、機能的多形に関するメタ解析の結果、rs1801133 と統合失調症との間に有意な関連が認められたことから、今後のさらなる検証が必要と考えられる。

<研究協力者>

吉見陽 1, 2, 3, Branko Aleksic 2, 4, 川村由季子 2, 3, 高橋長秀 2, 5, 山田真之亮 1, 2, 3, 臼井比奈子 2, 齋藤真一 2, 6, 伊藤圭人 2, 岩田仲生 4, 7, 稲田俊也 8, 野田幸裕 1, 3, 山田清文 1, 尾崎紀夫 2

- 1 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学
- 2 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学
- 3 名城大学大学院薬学研究科病態解析学 I
- 4 戦略的創造研究推進事業（CREST）
- 5 マウントサイナイ医科大学精神科分子精神医学
- 6 松阪厚生病院精神科
- 7 藤田保健衛生大学医学部精神医学教室
- 8 財団法人神経研究所附属晴和病院

A. 研究目的

統合失調症は、生涯発症率が約 1%と頻度は高く、難治例が数多く存在する重篤な精神障害である。統合失調症の病態は現時点で明らかにされていないが、遺伝因子と環境因子の双方が発症に関与する多因子疾患であり、多因子疾患の中では遺伝因子の関与が高い疾患であることが明らかにされている。したがって、病態仮説をゲノム解析によって検証する方法が妥当性の高いアプローチと考えられる。近年、統合失調症を対象とした全ゲノム関連解析（GWAS）が報告され、疾患の発症に関与し得る候補遺伝子が同定されているが、信頼に足る結果を得るにはサンプルサイズが未だ不十分であるという問題がある。したがって、統合失調症との関連が示唆される特定のパスウェイに焦点を当て、エフェクトサイズの小さい候補遺伝子の発症脆弱性への関連性を詳細に検討することも有用

であると考えられる。

メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) はホモシステイン代謝を制御しており、5, 10-メチレンテトラヒドロ葉酸から一炭素供与体である 5-メチルテトラヒドロ葉酸へと変換し、ホモシステインのメチル化による S-アデノシルメチオニン (SAM) の生成を媒介する。SAM は脳内の主要なメチル基供給源となり、神経伝達物質ドパミン、エピネフリン、ノルエピネフリンなどのカテコールアミンへの変換を触媒しているカテコール-O-メチル基転移酵素 (COMT) の反応に関与している。

ホモシステインの代謝異常は、神経管欠損症 (NTDs)、統合失調症、大うつ病性障害など様々な疾患との関与が示唆されており、統合失調症患者では MTHFR の酵素活性の減少や血中ホモシステイン濃度の上昇が認められている。血中ホモシステイン濃度の上昇は、DNA、脂質、タンパク質、神経伝達物質のメチル化に影響を及ぼし、ホモシステインの酸化誘導体は神経細胞および血管内皮細胞に対する細胞毒性を有することが報告されている。

MTHFR は統合失調症、双極性障害、大うつ病性障害の発症脆弱遺伝子座位である 1p36.3 に位置している。MTHFR には 2 つの機能的多形 C677T (rs1801133)、A1298C (rs1801131) が存在し、酵素活性や核酸合成、DNA メチル化に影響することが報告されている。統合失調症や気分障害において、2 つの SNPs との関連を示唆する報告されており、最近のメタ解析ではホモシステイン濃度の上昇や 677T アレルの保持者では統合失調症の発症リスクが高いことが示唆されている。

本研究では、既存の報告では主に機能的多形との関連解析について報告しているが、一致した見解に至っていないこと、全遺伝子領域を標的として解析している報告がほとんどないことから、MTHFR 全遺伝子領域について日本人統合失調症との遺伝子関連解析を実施し、既報の結果を統合してメタ解析を行った。

1: 対象

696 人の統合失調症患者、747 人の健常者を対象として関連解析を行った。有意な関連が認められた多形に関しては、797 人の統合失調症患者、1025 人の健常者から成る独立したサンプルコホートを用いて検証した。診断はすべて DSM-IV-TR に基づ

き行われた。また、本研究は三省合同のゲノム研究に関する倫理指針に則った名古屋大学医学部および藤田保健衛生大学倫理審査委員会の承認を得ており、対象者には本研究に関して十分な説明を行い、文書にて同意を取得した。

2. 遺伝統計学的検討:

HapMap データベースの連鎖不平衡地図を参照し、 $r^2 > 0.8$ 、マイナーアレル頻度 (MAF) > 0.1 を満たす tagging SNPs を Tagger プログラムにより選定し、アレル、ジェノタイプ、ハプロタイプ頻度について関連解析を行った。ジェノタイピングには TaqMan 法を用い、統計学的解析として関連解析およびメタ解析には PLINK、imputation 解析には MACH プログラム、検出力分析には Genetic Power Calculator を用いた。

C. 研究結果

統合失調症患者 (696 人) と健常者 (747 人) における MTHFR との遺伝子関連解析では、アレル、ジェノタイプに関して有意な関連は認められなかったが、ハプロタイプ (rs1801133、rs17421511、rs17037396、rs9651118) に関して弱い関連が認められた ($p < 0.05$)。

Imputation 解析の結果、MTHFR の遺伝子領域に関連のある SNPs が認められた (rs17421511: $p = 0.014$, rs11121832: $p = 0.041$, rs2066471: $p = 0.016$, rs7533315: $p = 0.016$)。

有意な関連が認められた 4 つの SNPs (rs1801133、rs17421511、rs17037396、rs9651118) について、独立したサンプル [統合失調症患者 (797 人)、健常者 (1025 人)] を用いて再確認した結果、有意な関連は認められなかった。

2 つの機能的多形 [rs1801133 (C677T)、rs1801131 (A1298C)] に関して、既報 18 研究の結果と統合したメタ解析を行った結果、rs1801133 と統合失調症との間に有意な関連が認められた ($p = 0.000833$)。

D. 考察と結論

遺伝子関連解析の結果、日本人の統合失調症の発症、病態生理への MTHFR の関与は否定的であった。

一方で、機能的多形に関するメタ解析の結果、

rs1801133 と統合失調症との間に有意な関連が認められたことから、今後のさらなる検証が必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Yoshimi A, Aleksic B, Kawamura Y, Takahashi N, Yamada S, Usui H, Saito S, Ito Y, Iwata N, Inada T, Noda Y, Yamada K, Ozaki N: Gene-wide association study between the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) and schizophrenia in the Japanese population, with an updated meta-analysis on currently available data. *Schizophr Res* 124 (1-3):216-22, 2010
- Yazaki S, Koga M, Ishiguro H, Inada T, Ujike H, Itokawa M, Otowa T, Watanabe Y, Someya T, Iwata N, Kunugi H, Ozaki N, Arinami T: An association study between the dymecilin gene and schizophrenia in the Japanese population. *J Hum Genet* 55 (9):631-4, 2010
- Tsunoka T, Kishi T, Kitajima T, Okochi T, Okumura T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Naitoh H, Inada T, Ujike H, Yamada M, Uchimura N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Iwata N: Association analysis of GRM2 and HTR2A with methamphetamine-induced psychosis and schizophrenia in the Japanese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34 (4):639-44, 2010
- Tomida K, Takahashi N, Saito S, Maeno N, Iwamoto K, Yoshida K, Kimura H, Iidaka T, Ozaki N: Relationship of psychopathological symptoms and cognitive function to subjective quality of life in patients with chronic schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci* 64 (1):62-9, 2010
- Takahashi M, Hayashi H, Watanabe Y, Sawamura K, Fukui N, Watanabe J, Kitajima T, Yamanouchi Y, Iwata N, Mizukami K, Hori T, Shimoda K, Ujike H, Ozaki N, Iijima K, Takemura K, Aoshima H, Someya T: Diagnostic classification of schizophrenia by neural network analysis of blood-based gene expression signatures. *Schizophr Res* 119 (1-3):210-218, 2010
- Syu A, Ishiguro H, Inada T, Horiuchi Y, Tanaka S, Ishikawa M, Arai M, Itokawa M, Niizato K, Iritani S, Ozaki N, Takahashi M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Keino-Masu K, Arikawa-Hirasawa E, Arinami T: Association of the HSPG2 gene with neuroleptic-induced tardive Dyskinesia. *Neuropsychopharmacology* 35 (5):1155-64, 2010
- Okuda A, Kishi T, Okochi T, Ikeda M, Kitajima T, Tsunoka T, Okumukura T, Fukuo Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Yamanouchi Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N: Translin-associated factor X gene (TSNAX) may be associated with female major depressive disorder in the Japanese population. *Neuromolecular Med* 12 (1):78-85, 2010
- Ohnuma T, Shibata N, Baba H, Ohi K, Yasuda Y, Nakamura Y, Okochi T, Naitoh H, Hashimoto R, Iwata N, Ozaki N, Takeda M, Arai H: No association between DAO and schizophrenia in a Japanese patient population: a multicenter replication study. *Schizophr Res* 118 (1-3):300-2, 2010
- Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Yoshida T, Takahashi H, Iike N, Iwase M, Kamino K, Ishii R, Kazui H, Fukumoto M, Takamura H, Yamamori H, Azechi M, Ikezawa K, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Yamada K, Numata S, Ikeda M, Tanaka T, Kudo T, Ueno S, Yoshikawa T, Ohmori T, Iwata N, Ozaki N, Takeda M: The chitinase 3-like 1 gene and schizophrenia: evidence from a multi-center case-control study and meta-analysis. *Schizophr Res* 116 (2-3):126-32, 2010
- Nunokawa A, Watanabe Y, Kaneko N, Sugai T, Yazaki S, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Ozaki N, Hashimoto R, Someya T: The dopamine D3 receptor (DRD3) gene and risk of schizophrenia: case-control studies and an updated meta-analysis. *Schizophr Res* 116 (1):61-7, 2010
- Noda Y, Mouri A, Ando Y, Waki Y, Yamada SN, Yoshimi A, Yamada K, Ozaki N, Wang D, Nabeshima T: Galantamine ameliorates the impairment of recognition memory in mice repeatedly treated with methamphetamine: involvement of allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors and dopaminergic-ERK1/2 systems. *Int J Neuropsychopharmacol* 13 (10):1343-54, 2010
- Morikawa T, Manabe T, Ito Y, Yamada S, Yoshimi A, Nagai T, Ozaki N, Mayeda A: The expression of HMGA1a is increased in lymphoblastoid cell lines from schizophrenia patients. *Neurochem Int* 56 (6-7):736-9, 2010

- Kushima I, Aleksic B, Ito Y, Nakamura Y, Nakamura K, Mori N, Kikuchi M, Inada T, Kunugi H, Nanko S, Kato T, Yoshikawa T, Ujike H, Suzuki M, Iwata N, Ozaki N: Association study of ubiquitin-specific peptidase 46 (USP46) with bipolar disorder and schizophrenia in a Japanese population. *J Hum Genet* 55 (3):133-6, 2010
- Kushima I, Aleksic B, Ikeda M, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ito Y, Nakamura Y, Inada T, Iwata N, Ozaki N: Association study of bromodomain-containing 1 gene with schizophrenia in Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B (3):786-91, 2010
- Koide T, Aleksic B, Ito Y, Usui H, Yoshimi A, Inada T, Suzuki M, Hashimoto R, Takeda M, Iwata N, Ozaki N: A two-stage case-control association study of the dihydropyrimidinase-like 2 gene (DPYSL2) with schizophrenia in Japanese subjects. *J Hum Genet* 55 (7):469-72, 2010
- Kishi T, Tsunoka T, Ikeda M, Kitajima T, Kawashima K, Okochi T, Okumura T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ujike H, Inada T, Yamada M, Uchimura N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Iwata N: Serotonin 1A receptor gene is associated with Japanese methamphetamine-induced psychosis patients. *Neuropharmacology* 58 (2):452-6, 2010
- Iwayama Y, Hattori E, Maekawa M, Yamada K, Toyota T, Ohnishi T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kikuchi M, Hashimoto K, Iyo M, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Iwata N, Nanko S, Iwamoto K, Okazaki Y, Kato T, Yoshikawa T: Association analyses between brain-expressed fatty-acid binding protein (FABP) genes and schizophrenia and bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 153B (2):484-493, 2010
- 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* 36 (4):756-65, 2010
- Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T, Watanabe Y, Takahashi M, Someya T, Ujike H, Iwata N, Ozaki N, Onaivi ES, Kunugi H, Sasaki T, Itokawa M, Arai M, Niizato K, Iritani S, Naka I, Ohashi J, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T: Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 67 (10):974-82, 2010
- Iritani S, Sekiguchi H, Habuchi C, Torii Y, Yamada S, Waki Y, Noda Y, Furukawa H, Nabeshima T, Ozaki N: Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal formation of PCP-treated mice. *Neurosci Res* 68 (2):125-30, 2010
- Iritani S, Sekiguchi H, Habuchi C, Hikita T, Taya S, Kaibuchi K, Ozaki N: Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal region of genetic animal model of schizophrenia. *Synapse* 64 (12):948-53, 2010
- Ikeda M, Tomita Y, Mouri A, Koga M, Okochi T, Yoshimura R, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Hashimoto R, Williams HJ, Takeda M, Nakamura J, Nabeshima T, Owen MJ, O'Donovan MC, Honda H, Arinami T, Ozaki N, Iwata N: Identification of novel candidate genes for treatment response to risperidone and susceptibility for schizophrenia: integrated analysis among pharmacogenomics, mouse expression, and genetic case-control association approaches. *Biol Psychiatry* 67 (3):263-9, 2010
- Ikeda M, Aleksic B, Kirov G, Kinoshita Y, Yamanouchi Y, Kitajima T, Kawashima K, Okochi T, Kishi T, Zaharieva I, Owen MJ, O'Donovan MC, Ozaki N, Iwata N: Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. *Biol Psychiatry* 67 (3):283-6, 2010
- Hashimoto R, Noguchi H, Hori H, Nakabayashi T, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Harada S, Takeda M, Saitoh O, Kunugi H: A genetic variation in the dysbindin gene (DTNBP1) is associated with memory performance in healthy controls. *World J Biol Psychiatry* 11 (2 Pt 2):431-8, 2010
- Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Ohi K, Hori H, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Iwata N, Ozaki N, Kamijima K, Baba A, Takeda M, Kunugi H: Possible association between the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) gene and major depressive disorder. *Neurosci Lett* 468 (3):300-2, 2010

・ Fukuo Y, Kishi T, Okochi T, Kitajima T, Tsunoka T, Okumukura T, Kinoshita Y, Kawashima K, Yamanouchi Y, Umene-Nakano W, Naitoh H, Inada T, Yoshimura R, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N: Lack of Association Between MAGEL2 and Schizophrenia and Mood Disorders in the Japanese Population. *Neuromolecular Med* 12 (3):285-91, 2010

・ Amagane H, Watanabe Y, Kaneko N, Nunokawa A, Muratake T, Ishiguro H, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, Hashimoto R, Itokawa M, Ozaki N, Someya T: Failure to find an association between myosin heavy chain 9, non-muscle (MYH9) and schizophrenia: a three-stage case-control association study. *Schizophr Res* 118 (1-3):106-12, 2010

・ Aleksic B, Kushima I, Ito Y, Nakamura Y, Ujike H, Suzuki M, Inada T, Hashimoto R, Takeda M, Iwata N, Ozaki N: Genetic association study of KREMEN1 and DKK1 and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res* 118 (1-3):113-7, 2010

2. 学会発表

・ 中村由嘉子, Aleksic B, 久島周, 稲田俊也, 池田匡志, 木下葉子, 岩田仲生, 加藤忠史, 尾崎紀夫: Association study of YWHAE gene with Mood disorder in Japanese population 第32回 日本生物学的精神医学会 小倉, 2010

・ Tomoko Shiino BA, Itaru Kushima, Yoshihito Ito, Yukako Nakamura, Hiroshi Ujike, Michio Suzuki, Toshiya Inada, Ryota Hashimoto, Masatoshi Takeda, Nakao Iwata and Norio Ozaki: Genetic association study of KREMEN1 and DKK1 and schizophrenia in a Japanese population. 第32回日本生物学的精神医学会 2010.10.7-9 小倉, 2010

・ Koide T, Kushima I, Ito Y, Aleksic B, Nakamura Y, Inada T, Iwata N, Ozaki N: A two-stage case-control association study of the dihydropyrimidinase-like 2 gene with schizophrenia in the Japanese population. 統合失調症学会 Hakata, Fukuoka Pref., Japan, 2010

・ Itaru Kushima YN, Branko Aleksic, Masashi Ikeda, Yoshihito Ito, Tomoko Shiino, Tomo Okochi, Yasuhisa Fukuo, Hiroshi Ujike, Michio Suzuki, Toshiya Inada, Ryota Hashimoto, Masatoshi Takeda, Kozo Kaibuchi, Nakao Iwata, Norio Ozaki: Resequencing analyses of four candidate genes (KALRN, VAV3, EPHB1, PCNT)

of schizophrenia. WCPG 2010 Athens, Greece, 2010

・ Branko Aleksic MI, Yoko Kinoshita, Tomo Okochi, Nick Craddock, Kozo Kaibuchi, Michael Owen, Norio Ozaki, Michael O'Donovan, Nakao Iwata: Overview of the single SNP analysis of Japanese genome wide association study of schizophrenia, in XVIIIth World Congress on Psychiatric Genetics. Athens, Greece, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

・ 尾崎紀夫, 永井拓, 吉見陽, 山田真之亮: 統合失調症マーカー及びその利用. 国立大学法人名古屋大学 特願 2010-147017 2010. 6. 29

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

全ゲノム情報を用いた統合失調症診断法の開発

分担研究者 岩田 仲生 藤田保健衛生大学医学部 教授

研究要旨

精神疾患の診断は、現在も症候論を基盤として行われおり、診断の補助となる生物学的なマーカーとなるものは同定出来ていない。また、近年の統合失調症を対象とした全ゲノム関連研究(GWAS)でも、少数個のリスク遺伝子同定にとどまっており、診断にいかせる情報は未だ見つかっていない。しかし、International Schizophrenia Consortium (ISC)が行った研究、Polygenic component 解析では、数多くの“リスク”SNP（この場合 $P < 0.5$ など統計的に有意でないものも含む）の総和である polygenic score が、統合失調症患者で有意に高いことが報告された。この score は診断の 3%の寄与率を説明することも示され、将来的に診断の補助になることも期待される。

本研究では、我々が行った日本人統合失調症 GWAS データを利用し、Polygenic component 解析を追試した。その結果、日本人内でも統合失調症で有意に高い polygenic score を示すことを発見した。さらに、英国人統合失調症のデータを利用し、英国人の“リスク”SNP でも、日本人統合失調症で高い score を示し、民族を超えた“リスク”SNP の存在を証明した。

現状では、この方法論は、その寄与率の低さから分離能が十分ではなく、診断への応用は困難である。しかし、今後より精度の高い解析を行うことで、生物学的な統合失調症診断の足がかりとなりうる。

A. 研究目的

統合失調症は、思春期以後に発症し、幻覚・妄想といった陽性症状、感情鈍麻・意欲の減退・社会的引きこもりなどの陰性症状、さらには認知機能障害などを特徴とする疾患である。その有病率は 100 人に 1 人といわれており、決して稀な疾患ではない。この統合失調症の診断は、主に症候論をもとに現在行われている。その理由は、他の身体疾患のように、生物学的指標 (biomarker) となりうるものが同定されていないことがあげられる。従って、この数十年間、多くの精神科医や研究者が、biomarker を同定するべく研究を行ってきたが、今のところ目立った成果はあげられていない。

その一つの方向性として、遺伝子からアプローチする方法が研究されている。その基盤には、遺伝疫学研究から、「統合失調症の発症には、遺伝的要因がかなりの割合で関与する」という証左が確実であることが理由としてあげられる。しかし、最近の全ゲノム関連研究 (Genome-Wide Association Study: GWAS。各個人に存在する全ゲノム上の多数の遺伝子変異、例えば一塩基多型; SNP を用いて、個々の変異がどの程度疾患に関連するかを検討する方法論)でさえ、確定的なリスク遺伝子は少数個しか同定されていない。さらに、その効果の大きさは非常に小さく、Odds ratio にして 1.2 以下というものであり、それを利用したとしても、

到底診断には利用できない。

古くから、統合失調症をはじめとした複雑疾患は、多くの遺伝子の寄与が相加的に集まり、発症に至るといふ仮説が存在する(Polygene モデル)。この仮説を検証するべく、International Schizophrenia Consortium (ISC)は、GWAS 情報を利用し、興味深い結果を得た。ISC は、一般的には統計的有でない水準(例えば $P < 0.5$)以下の SNP を、「リスク」SNP として定義し、その「リスク」アレルの総数(Polygenic score)を統合失調症と正常対照者で比較した(Polygenic Component 解析)。その結果、統合失調症で有意に高い score を示し、その診断に対する寄与は、約 3%であることを報告した。また、シミュレーション解析の結果、ここで用いたような頻度の高い SNP は、診断の約 1/3 を説明することを示した。このことは、polygenic score を応用することで、将来的な統合失調症診断の改善が少なからず期待できる。本研究では、日本人 GWAS の結果を用い、ISC が示した Polygenic component 解析の結果を追試することを目的とした。また、英国人データを利用することで、日本人と英国人に共通するリスクの存在を証明することを目指して行われた。

B. 研究方法

1) 対象

DSM-VI-TR によって診断された日本人統合失調症 575 名と、日本人正常対照者 564 名を対象とした。また、英国人サンプルは、Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC)で用いられた 479 名の統合失調症と 2938 名の正常対照者を用いた(O'Donovan et al, 2008, Nat Genet)

2) Polygenic Component 解析

この解析では、2 個の独立した GWAS データセットを用いる。まず、一つの GWAS サンプル(discovery set という)で普通の関連解析を行い、非常に緩い有意水準(例えば $P < 0.5$: この場合の P を P_T と表す)を設定、そこで「リスクアレル」を定義する。次に、異なる GWAS データセット(Target set という)で各 SNP の genotype 分布を決定、「リスクアレル」の総数を Target set すべてのサンプルでカウントし、case と control でその総数の平均に差があるかを検討する。ただし、日本人 GWAS データは、一つしかないため、ランダムに 2 群にわけ、一つを discovery set、もう一方を target set とすることを 1000 回繰り返すことで、この解析を追試した。

Discovery set におけるリスクアレルの設定は、通常の χ^2 乗検定を、target set における polygenic score の比較には、logistic regression 解析を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究課題は、統合失調症患者、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究である。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に即して編成された藤田保健衛生大学倫理委員会において本研究課題に直結するゲノム研究に関する課題、「遺伝子解析によるこころの健康とこころの病気に対するかかりやすさ(発症脆弱性)や薬の効きめや副作用(治療反応性)等の解明に関する研究」の研究計画書を提出し、承認を受け、これまでも研究を遂行してきた。

平成 18 年度以降、試料提供者へのインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理(匿名化)などを徹底し、倫理的配慮を持って研究

を進めている。

また申請者は日本人類遺伝学会の臨床遺伝専門医として藤田保健衛生大学病院遺伝医療相談を担当しており、本研究のみならず様々な遺伝相談に応じる体制を構築し対応する環境を整備している。

C. 研究結果

1) 日本人内での解析

ISCとの結果と同様に、 $P_T < 0.5$ のところで最も有意 ($P=0.05$) かつ大きな寄与率 (約2%) を示した (図1)。

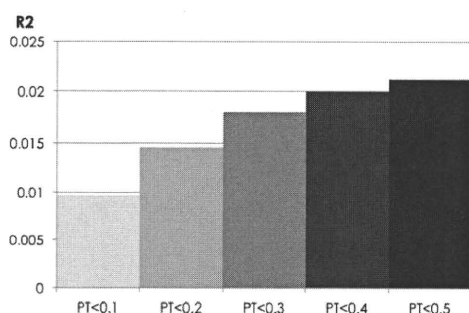


図1 Polygenic component analysis within Japanese sample

3) 日本人と英国人を用いた解析

discovery を日本人、target を英国人サンプルとした場合、 $P_T < 0.5$ のところでのみ有意な score の上昇がみられた (図2)。しかし、逆の discovery を英国人、target を日本人サンプルの場合は、 $P_T < 0.3$ で、極めて小さな P 値が得られた ($P=7.0 \times 10^{-5}$)。ただし寄与率は、日本人内での解析で得られたそれと比較すると、非常に小さく、最大でも 0.8%程度であった (図3)。

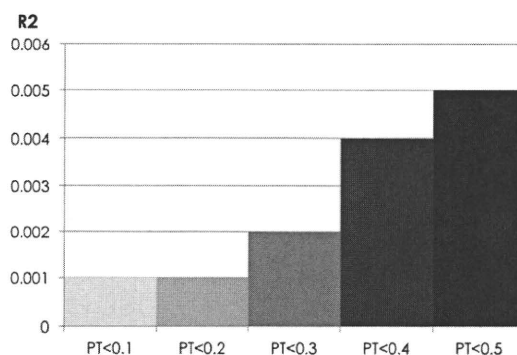


図2 Polygenic component analysis between Japanese and UK sample (discovery: UK, target: Japan)

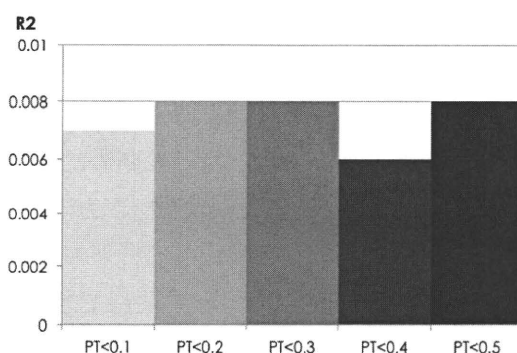


図3 Polygenic component analysis between Japanese and UK sample (discovery: Japan, target: UK)

D. 考察

本解析では、少数の日本人から定義された「リスクアレル」が、独立した日本人統合失調症の中で有意に多く含まれる結果を得た。その score の診断に対する寄与としては、2%程度と低いものではあったが、ISCで検討された大規模サンプル (6000名以上) で得られた寄与率3%と大きく異なるものではなかったことは着目に値する。この一因としては、日本人サンプルが民族的に均一であることが考えられる。他方、日本人と英国人との比較では、有意ではあるが、その寄与率は1%以下と、日本人内の