

201122002B

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）

統合失調症の多次元生物学的診断法と
新たな治療薬の開発をめざした病態解明研究

平成 21 年度～23 年度 総合研究報告書

研究代表者 功刀 浩

平成 24（2012）年 5 月

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）

統合失調症の多次元生物学的診断法と
新たな治療薬の開発をめざした病態解明研究

平成 21 年度～23 年度 総合研究報告書

研究代表者 功刀 浩

平成 24（2012）年 5 月

目 次

I.	総括研究報告 統合失調症の多次元生物学的診断法と新たな治療薬の開発をめざした病態解明研究-----	1
	功刀 浩	
II.	分担研究報告	
	1. MRIによる統合失調症の画像診断-----	44
	佐藤 典子	
	2. MRSを用いたバイオマーカーの開発-----	47
	石川 正憲	
	3. 細胞生物学的遺伝子機能解析-----	53
	沼川 忠広	
	4. 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-----	56
	尾崎 紀夫	
	5. 全ゲノム情報を用いた統合失調症診断法の開発-----	69
	岩田 仲生	
	6. 神経発達障害関連分子に着目したバイオマーカー・治療薬の開発-----	74
	那波 宏之	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	83
IV.	研究成果の刊行物・別刷(主なもの)-----	99

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））
総合研究報告書

統合失調症の多次元生物学的診断法と新たな治療薬の開発をめざした病態解明研究

研究代表者 功刀 浩

研究要旨

本研究の目的は、最先端の脳科学的手法・生物学的手法を用いて、統合失調症の多次元生物学的診断法の確立を行うとともに、遺伝子研究・機能解析によってバイオマーカーや治療法を開発を行うことを目的とする。その結果、以下のような成果が得られた。

研究代表者／分担研究者の功刀は、統合失調症における多次元生物学的診断法の開発とそれに基づいた病態解明、鍵分子の探索を目的として、統合失調症、うつ病、健常者を対象に詳細な認知機能テストバッテリー（知能検査 WAIS-R、ウェックスラー記憶力検査、実行機能[WCST]など）、簡易認知機能テスト(BACS)、運動機能(pegboard)、感覚情報処理の異常を検出するプレパルスインヒビション(PPI)、ストレスホルモン系を調べるデキサメサゾン(DEX)／CRH 負荷テストや低用量デキサメサゾン抑制テスト(DST)、安定同位体 ^{13}C を活用した呼気ガス検査、血液中や脳脊髄液中のタンパク質やモノアミン代謝産物、MRI 脳構造画像、プロトン MRS を同一被験者に施行し、多次元の生物学的指標に関するデータを集積した。

①高次脳機能検査によって、統合失調症では知能や記憶・前頭葉機能、情報処理、運動機能が全般的に低下しており、BACS-J は統合失調症の認知機能障害の検出に極めて有効であること、高い感度、特異性をもつために診断にも有用であること、知能検査に汎用されている WAIS-R の下位項目スコアを指標とし比較的高い感度、特異性で統合失調症とうつ病や健常者とを判別する方法を開発した。②PPI では、これまでに 1100 人の被験者からデータを収集し、統合失調症患者、うつ病、健常者のデータベースを構築し、診断や鑑別に有用であることを示した。③神経内分泌学的検査では、DEX/CRH テストで過剰抑制を示す者は、統合失調症型人格特性傾向をもつことを見出した。他方、低用量デキサメサゾン抑制テスト(DST)で検討したところ、統合失調症急性期では DST 後

のコレステロール値が上昇していることを見出した。④統合失調症、うつ病、健常者合わせておよそ 300 人の脳脊髄液サンプルを収集した。これは今後、診断技術開発や病態解明のために極めて貴重なリサーチリソースとなる。これを用いた解析を行い、統合失調症では血液や脳脊髄液中の IL-6 が増加していることを明らかにした。⑤安定同位体で標識した ^{13}C フェニルアラニンの呼気ガス検査を世界に先駆けて行い、統合失調症におけるフェニルアラニン代謝の低下を明らかにした。⑥統合失調症のリスク遺伝子として SEMA3D、ABCA1、インターロイキン 1β の遺伝子多型を同定した。⑦MRI による VBM 法と拡散テンソル画像(DTI)を活用した統合失調症の診断法の開発を行い、健常者との比較で良好な中率を示す診断法、うつ病と統合失調症とを判別する方法を開発した。

以上のように、多次元生物学的診断法の確立のためのデータベースの構築が大きく進展し、多次元生物学的診断システムの作成基盤を構築した。

分担研究者の佐藤は、MRI による統合失調症の画像診断を分担し、分担研究者の石川は、急性期病棟における患者リクルート体制を整備するとともに、MRS を用いたバイオマーカーの開発を担当した。分担研究者の沼川は、標的分子に関する細胞生物学的遺伝子機能解析を行った。特に、脳由来神経栄養因子(BDNF)に着目した検討を行った。分担研究者の尾崎あは、候補遺伝子研究による治療標的分子の解明を行った。分担研究者の岩田は、全ゲノム情報を用いた統合失調症診断法の開発を担当した。分担研究者の那波は、神経発達障害関連分子に着目したバイオマーカー・治療薬の開発を行った。以上の分担研究者の研究要旨は、それぞれの分担研究報告に記載した。

分担研究者

佐藤典子	国立精神・神経医療研究センター病院放射線診療部・部長
石川正憲	国立精神・神経医療研究センター病院第一病棟部・医長
沼川忠広	国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第三部・室長
尾崎紀夫	名古屋大学大学院医学系研

究科・教授

岩田仲生	藤田保健衛生大学 医学部・教授
那波宏之	新潟大学脳研究所・教授

分担研究者の研究目的・方法・結果・考察・結論・健康危険情報・研究発表・知的財産権の出席・登録状況成果については、44ページ以降に掲載した。

A. 研究目的

統合失調症の生涯罹患率はおよそ1%であり、わが国では約70万人が治療を受けており、入院患者数(18万人)はあらゆる病気の中で最も多い。医療費による国家の直接的経済損失や職業的機能障害などによる間接的経済損失も莫大である。このような現状であるのは、統合失調症の根本的治療法や発症予防法が無いためであり、病気の本態を解明し、新たな診断・治療・予防法を開発することは、厚生労働行政上極めて重要な課題である。

統合失調症の病態は、神経心理、神経生理、生化学、画像、遺伝子解析などによって研究されており、いずれの方法においても健常者と比較して差がみられるという所見はある一方、統合失調症だけに特異的に見られる単一の異常所見は存在しない。これは、統合失調症が明確に定義できる疾患単位というより、異種性を持ち、統合失調症型人格や気分障害などとの間に連続性がある病態であることによると考えられる。そこで本研究は、統合失調症の発病仮説に関連する各種の生物学的検査(換言すればエンドフェノタイプ)を同一患者に施行し、多次元的に病態を解明し、生物学的診断や類型化に役立つ診断システムを開発することを第一の目的とする。実際には、簡易認知機能テスト、感覚情報処理の異常を検出するプレパルスインヒビション、ストレスホルモン系を調べるデキサメサゾン(DEX)/CRH 負荷テスト、カテコ

ーラミンの前駆物質であるフェニルアラニン代謝をモニターする呼気ガス検査、MRI 脳構造画像、プロトン MRS を同一被験者に施行する。さらに、血液や脳脊髄液を採取し末梢血の遺伝子発現プロファイルや神経発達障害に関与するタンパク質(サイトカインなど)やモノアミン代謝産物の測定を行う。特に呼気ガス検査は、申請者の知る限り精神疾患に応用されたことは無く、極めて独創的である。各検査について、統合失調症と健常者や気分障害を最も効率よく識別する基準値を明らかにし、複数の検査を活用することによって中核的な統合失調症を100%近く正確に診断でき、機能性精神疾患を多次元生物学的診断システムで評価する方法を開発することを目的とする。

次に、これらの生物学的所見をエンドフェノタイプとして網羅的遺伝子解析などを用いた最先端の手法によって分子基盤について明らかにし、新しい治療薬を開発することを第二の目的とする。われわれは、既に統合失調症の全ゲノム遺伝子解析を終了しており、その基盤の上にさらにデータを収集し発展させる。注目される遺伝子については培養ニューロンを用いて細胞生物学的機能を明らかにする。また、鍵分子に作用する低分子化合物の抗精神病薬作用について、統合失調症動物モデルを用いた創薬研究を行う。

統合失調症の診断は今の所、発症後の症状を医師が面接に依って主観的に把握することによ

って行われており、脳科学的な客観的診断法が存在しない。本研究によって顕在発症前の早期発見（早期介入を可能にする）、生物学的所見に基づく類型化と科学的根拠に基づいた最適な治療法の選択なども可能になることが期待される。また、疾患の分子基盤を明らかにし、認知機能などを改善させる新しい治療薬を開発することを第二の目的とする。これに成功すれば、長期施設化からの脱却、就職率の向上につながることが期待される。統合失調症は1兆円規模の医療費（主に入院費）に加えて、生活保護や障害年金の受給者が非常に多いことから、国民の経済損失も多大である。社会復帰や就職率が向上すれば、患者だけでなく、国民全体の福祉に対する貢献は図り知れない。また、新たな診断・治療法の開発はわが国の知的財産の獲得や産業活性化にも寄与することが期待できる。

本研究全体図を図1に示す。

B. 研究方法

<多次元生物学的診断法の確立>

国立精神・神経医療研究センターにおいて、統合失調症患者、気分障害患者、健常者を対象にゲノムDNA、血液中のRNA、血漿サンプルを多数収集するとともに、詳細な認知機能テストバッテリー（知能検査WAIS-R、ウェックスラー記憶力検査、実行機能[WCST]など）、簡易認知機能テスト(BACS)、運動機能(pegboard、握力)、感覚情報処理の異常を検出するプレパ

ルスインヒビション、ストレスホルモン系を調べるデキサメサゾン(DEX)/CRH負荷テストや低用量デキサメサゾン抑制テスト、カテコラミンの前駆物質であるフェニルアラニンの代謝速度をみる呼気ガス検査、血液中のタンパク質（サイトカイン）、MRI脳構造画像、プロトンMRSを同一被験者に施行した。統合失調症患者は国立精神・神経センター急性期病棟において、気分障害患者は国立精神・神経センターうつ病外来において系統的に（原則として全患者に）研究への参加協力を要請した。また、今年度までに、統合失調症患者、気分障害患者、健常者およそ300名からの脳脊髄液を収集した。精神症状は陽性・陰性症状評価尺度(PANSS)やハミルトンうつ病評価尺度(GRID-HAMD-21)を用いた。健常者において、精神疾患の既往の有無については、精神疾患簡易構造化面接法(M.I.N.I.)を用いてスクリーニングした。

統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版(BACS-J：兼田ら、2008)と感覚情報処理をみるプレパルスインヒビション(PPI)は、臨床心理士が行い、PPIは申請者らによる既報に基づいて行った。遺伝子解析は、研究協力者の篠山大明がインターロイキン1Bを候補遺伝子として、藤井崇がABCA1を候補遺伝子として解析した。サイトカインの役割に注目し、血中や脳脊髄液中のIL-6については、研究協力者の篠山や若林千里が中心に解析した。視床下部—下垂体—副

腎系の機能検査であるDEX/CRHテストは申請者らが提唱した方法(Kunugi et al, 2006)により、研究協力者堀弘明（精神科医）が担当して行った。呼気ガス検査は安定同位体 ^{13}C で標識したフェニルアラニン100mgを投与し、その後2時間、15分間隔で呼気中に排出される $^{13}\text{CO}_2$ を採取することでカテコラミン産生量を推定した（研究協力者寺石俊也、精神科医）。MRIは1.5テスラの装置で撮像し、SPMによる脳構造体積測定や拡散テンソル画像による神経ネットワーク異常に関する解析を行った。今年度は、統合失調症とうつ病とを判別する方法を開発した。MRIと同時にプロトンMRSの撮影を行い、N-acetylaspartate（NAA）、choline-containing compounds（Cho）、creatine、lactate、glutamine、GABAについて関心領域ごとに測定した。MRIは分担研究者の佐藤、石川と研究協力者太田深秀（精神科医）が行った。

<分子基盤の解明と創薬標的の探索>

研究代表者らは、これまでに統合失調症の鍵分子として、脳由来神経栄養因子(BDNF)が重要であることを明らかにしおり、22年度までの研究に引き続き、統合失調症症状を惹起することで知られるフェンサイクリジンの培養ニューロンシナプス減少作用におけるBDNFの役割について検討した（分担研究者沼川）。

さらに、グルタミン酸が重要であることが古くから指摘されており、グルタミン酸誘導体であり、緑茶の旨味成分であるテアニンが、新たな抗精神病薬として有望である前臨床的結果を得たが、ヒト健常者の感覚情報処理に与える影響について検討を始めている。

分担研究者の尾崎は、NMDAR複合体の構成分子である neuropilin and toll-like 1 と統合失調症との関連について詳細な検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究の主要部分は、精神疾患患者、健常対照群を対象とした遺伝子解析研究や臨床研究である。遺伝子解析研究では、試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、倫理審査委員会において承認を受けた上で研究を行っている。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報の厳重な管理（匿名化）などを徹底している。また、脳画像、認知機能検査、生理機能検査などのデータ収集に際しては、「臨床研究に関する倫理指針」に準拠した研究計画によって、倫理審査委員会での承認を受けて行っている。動物実験についても研究機関の

倫理委員会の審査を経て行っており、苦痛を最小限にするなどの必要な処置を講じている。

C. D. 研究結果、考察

<多次元生物学的診断法の確立>

1) 高次脳機能異常を用いた診断法の確立と病態解明

①日本語版統合失調症認知機能簡易評価尺度 (BACS-J) の有用性 (図2)

およそ 40 分間で認知機能障害を簡便に包括的にテストすることができる日本語版統合失調症認知機能簡易評価尺度 (BACS-J) の有用性について、統合失調症 90 名、うつ病 107 名 (寛解 72、非寛解、35)、健常者 211 名を対象に詳細に検討した。これは、当教室の松尾淳子らが主に行った。既報の健常者データから z 得点を算出し、年齢を考慮した上で共分散分析を行った結果、ほぼ全ての低位検査で統合失調症患者の得点は健常者やうつ病患者と比較して著明に低下していた。このことから、統合失調症は広汎性認知機能障害であるという考え方が支持される。 z スコアを用いたカットオフ値による解析を行ったところ、統合失調症患者の感度は 75%以上、特異度は 85%以上の値が得られた。従って、BACS は認知機能評価に有用であるだけでなく、診断にも有用であることが示唆された。また、うつ病患者は、病相期にある者は寛解者と比較して低下していた。特にワーキングメモリと遂行機能において、差が大きか

った。以上から、うつ病相では可逆性の認知機能障害があることが示唆された。

②WAIS-R を用いた統合失調症の診断法の開発 (図3)

統合失調症では、IQ が低下することが知られており、知能検査として汎用されている WAIS-R を用いて、統合失調症を気分障害や健常者と判別する方法を開発した。なお、現在は臨床での知能検査には WAIS-III が主に用いられるようになってきているが、以前からのデータ集積が豊富であることから本研究では WAIS-R を用いた。統合失調症 171 名、うつ病 113 名、健常者 488 名を対象に WAIS-R を測定した結果について詳細に検討した。高機能群 (HF-SZ) と低機能群 (LF-SZ) に分け、双極性障害 (BP) や大うつ病 (MDD) と WAIS-R の低位項目テストについて比較した。

その結果、WAIS-R の低位検査項目のプロフィールを比較すると、統合失調症高機能群とうつ病とでは大きく異なることが明らかになった ($p < 0.0001$: 数唱、算数、理解、絵画完成、絵画列、組み合わせ)。これは、統合失調症では知識などの結晶性知能は比較的保たれているが、臨機応変な対応を必要とする流動性知能 (新たな問題を解決し、未知のパターンを認識することにかかわる能力全般) が低下しているという指摘と一致している。両疾患を判別するモデルを作成したところ、感受性 80.3%、特異性 78.8%であり、うつ

病との鑑別に有用である（論文準備中）。

③統合失調症の情報処理障害の指標となる PPI の有用性（図 4、図 5）

プレパルス抑制検査（PPI）は、大きな音刺激に対する驚愕反応が、同じ音刺激を与える直前に弱い音刺激（プレパルス）を与えることによって減弱することをみる検査であり、統合失調症などにおける感覚情報のフィルター機能をみる検査である。われわれは、2004 年より継続的にこの検査の有用性を検討してきており、既に 1100 人を超える被験者のデータを蓄積した。2009 年 6 月から行っている短時間検査プロトコール（およそ 15 分で終了する）による結果は、図 4 のようになり、PPI が統合失調症の診断、うつ病との鑑別に有用であることが示唆された。

また、PPI の低下に関する脳基盤について明らかにするために MRS との関連をみたところ、健常女性における下頭頂葉領域のグルタミン濃度は、PPI と逆相関することが明らかになった（図 5）。統合失調症患者でも同様の結果が得られた。これはグルタミン酸放出による興奮毒性が PPI 低下に関与している可能性を示唆する。

2) 統合失調症の生化学的指標

①統合失調症の血中、脳脊髄液中における IL-6 高値（図 6）

IL-6 は炎症性サイトカインの 1 つであり、統合失調症やうつ病で高値を示すことが報告されている。しかし、結果は必ずしも一致せず、わが国での検討も殆どない。また、IL-6 の受容体(IL-6R)の遺伝子には Asp358Ala のアミノ酸置換を伴う遺伝子多型があり、これによって健常者の可溶性 IL-6R 濃度や IL-6 濃度が規定されていることが知られている。

そこで、われわれは、104 人の統合失調症患者および 112 人の健常者において血漿 IL-6 濃度、遺伝子型を、可溶性 IL-6R 濃度については、そのうちの 53 人の統合失調症患者および 49 人の健常者について検討した。その結果、統合失調症患者では健常者と比較していずれの遺伝子型においても血漿 IL-6 濃度が有意に高かったが、可溶性 IL-6R 濃度は有意な差を認めなかった。また、健常者では血漿 IL-6 濃度と遺伝子型との間に相関がみられたが、統合失調症では相関がみられなかった(Sasayama et al, J Psychiatr Res, 2011)。（図 6 左）

さらに、脳脊髄液中の IL6 についても検討を行った。32 名の統合失調症患者、30 名の大うつ病患者、35 名の健常者について脳脊髄液中、および同時に採取された血漿中の IL-6 について検討したところ、統合失調症も大うつ病でも健常者と比較して脳脊髄液中 IL-6 濃度が増加しており（統合失調症: $P = 0.0027$; 大うつ病: $P = 0.012$ ）、興味深いことに、IL-6 濃度は血漿中濃度より有意に高い結果であり、両者には有意な

相関が無かった（図 6 右； Sasayama et al, 論文投稿中）。

さらに、上記の IL-6 受容体遺伝子多型 Asp358Ala と認知機能との関連を調べるために、健常成人 576 名に対しウェクスラー成人知能検査を施行した。Asp/Asp 遺伝子型の対象者は Ala アレル保有者と比較して言語性 IQ が高く ($P = 0.005$)、とくに、長期記憶を必要とする言語性の下位検査で有意な差がみられた。Ala アレル保有者では IL-6 および可溶性 IL-6 受容体濃度が高いことが知られており、過剰の IL-6 シグナルが長期記憶を必要とする言語性認知能力の獲得に悪影響を及ぼしている可能性が示唆された (Sasayama et al, *J Neural Transm*, 2012)。

以上から、IL-6 はうつ病との鑑別などの診断マーカーとしての有用性は乏しいものの、これらの精神疾患の病態を反映している分子であることが明らかになった。特に、脳脊髄液中での IL-6 濃度の方が血漿中濃度より高く、脳内で IL-6 を産生する細胞が精神疾患の病態に関与している可能性が示唆される。

②安定同位体で標識した ^{13}C フェニルアラニンの呼気ガス検査（図 7）

独創的な試みとして、安定同位体で標識した ^{13}C フェニルアラニンの呼気ガス検査の臨床的有用性について検討した。統合失調症患者 91 名の呼気ガス中の $^{13}\text{CO}_2$ 排出量は健常者 181 名に

比較して有意に低下していた ($p=0.0005$ 、図 7 左)。本研究は安定同位体を用いた精神疾患を対象とした検査としては世界でも最先端の試みであり、画期的な成果である。さらに、フェニルアラニン代謝に必要な補酵素であるテトラヒドロビオプテリン (BH4) の血中濃度を測定した結果、統合失調症では BH4 が低下していることが明らかになった（図 7 右）。以上の結果は、統合失調症の病態にフェニルアラニンの低下や BH4 の低下があり、フェニルアラニンはノルアドレナリンやドーパミンなどの神経伝達物質の前駆物質であることから、BH4 の低下による神経伝達物質産生の異常が統合失調症の病態に関与している可能性を示唆する。

3) 統合失調症の神経内分泌的検討

①DEX/CRH テストと統合失調症型人格傾向との関連（図 8）

統合失調症型人格傾向は統合失調症の中間表現型であることから、その生物学的基盤を検討することは、統合失調症の病態や脆弱性を解明するうえで有用である。特に、健常者における統合失調症型人格傾向を検討することは、薬物療法などの影響を受けない利点がある。われわれは、統合失調症型人格調査票 Schizotypal Personality Questionnaire (SPQ) によって調査した 141 人について DEX/CRH テストによる HPA 系異常との関連をみた（当教室の研究協力者堀弘明が主に行った）。その結果、CRH

負荷 1 時間後のコルチゾールが $5 \mu\text{g/dl}$ に抑制されている者を過剰抑制と定義した場合、「関係念慮」「猜疑的／妄想的観念」「認知—知覚要因」が過剰抑制と関連することが明らかになった (図 8) (Hori et al, Neuropsychobiology, 2011)。これは世界に先駆けて見出した極めて興味深い結果であり、統合失調症の病態発生における神経内分泌的役割を示唆する。

②低用量 DST を用いた統合失調症患者 (急性期) の HPA 系の評価 (図 9)

低用量 DST (0.5mg デキサメソゾン負荷) によって解析した結果、統合失調症患者では、DST で測定したコルチゾール値とコルチゾール/DHEAS 比が健常者より有意に高かった (Hori et al, The Open Neuropsychopharmacol J, 2011)。これは、統合失調症の急性期において、グルココルチコイド過剰による脳の傷害作用が働いている可能性を示唆する。これは、上記の統合失調型人格において過剰に抑制されていることと矛盾するように思えるが、統合失調症型人格障害では、慢性的なストレス状態が続き、代償的な変化が生じているが、急性期の統合失調症では、それを凌駕するような急性ストレス状態に置かれることにより、脳が障害されて発症する可能性のかもしれない。

4) 統合失調症のリスク遺伝子研究

①セマフォリン 3D 遺伝子と統合失調症との関連 (図 10)

統合失調症のリスク遺伝子の候補として、軸索進展を制御しているプレキシンやセマフォリンが注目される。そこで、これらの分子について検討した結果、セマフォリン 3D 遺伝子の間アミノ酸置換を伴う遺伝子変異やそれを含むハプロタイプが統合失調症のリスクと関連することを見出した (Fujii et al, J Psychiatr Res, 2011)。これは、統合失調症の神経発達障害において、セマフォリン 3D 遺伝子多型が関与することを示唆する。

②ABCA1 遺伝子と統合失調症リスクや脳構造異常との関連 (図 11)

中枢神経系においてコレステロール輸送を司る ABCA1 をコードする遺伝子多型の 1 つ (rs2230808) が男性において統合失調症リスクと関連し (556 名の男性患者と 594 名の男性健常者のサンプルで検討)、MRI で測定した灰白質体積の減少と関連することを初めて報告した (Ota et al, Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2011)。

③インターロイキン 1β と統合失調症との関連

炎症性サイトカインと統合失調症との関連が指摘されており、IL-6 については、上記のごとく

の検討を行ったが、IL-1 β については、遺伝子関連研究を行った。533人の統合失調症と1136人の健常者について5つのタグSNPsについて遺伝子型を決定し、関連をみた。その結果、rs1143633が統合失調症リスクと関連しており(p=0.0089)、特に女性において関連が強かった(Sasayama et al, Behav Brain Func, 2011)。

以上の結果は、統合失調症の脳病態や病因解明に有用な知見である。

分担研究者の尾崎、岩田らによるリスク遺伝子研究については、各分担研究報告を参照されたい。

5) 脳画像解析

①MRIを用いた統合失調症の診断法の開発

(図12)

MRIによる統合失調症の脳構造物の体積変化についての研究は非常に多いが、それを診断や鑑別に用いようという試みはいまだに少ない。われわれは、voxel-based morphometry (VBM法)を用いて、統合失調症の診断に有用な方法の開発を行った(Ota et al, Psychiatry Clin Neurosci, in press)。モデル構築に用いた第1のサンプルは、女性統合失調症38名と105名の女性健常者である。皮質体積と脳脊髄液の体積を用いて統合失調症と健常者の判別に有用なモデルを構築した。その結果、島部、内側前頭皮質、第三脳室の3つを統合失調症における体積変化が大きい領域として、頭頂葉と後頭葉皮質を体積変化が殆どない領域として関心領域を設定

するのが適切であると考えられた。これに基づいて係数を決定し判別法を作成した結果、このサンプルでは、統合失調症における的中率0.76、健常者の的中率0.72という比較的良好な結果が得られた。次に、女性統合失調症23人、女性健常者23人の第二の独立なサンプルでこのモデルを検証したところ、統合失調症群での的中率0.74、健常者のそれが0.70となり、第一サンプルと同様の比較的良好な中率が得られた。

以上から、MRIのVBM法による脳構造体積を用いてわれわれが開発した方法は、統合失調症の診断に有用である可能性が示唆された。なお、この解析は、当研究室の太田が主に行った。

②MRI画像による統合失調症とうつ病の判別

次に、VBMと拡散テンソル画像(DTI)を用いて統合失調症とうつ病を判別する方法を開発した(Ota et al, 論文投稿中)。25名の女性統合失調症患者と同数の女性うつ病患者のMRI画像を用いて、視床、島、前部帯状回、脳梁をいくつかの領域に分けて解析し、体積や判別する方法とDTIの係数を用いて統合失調症とうつ病とを判別する方法を決定した。その結果を18名の女性統合失調症と16名の女性うつ病患者に当てはめて妥当性を検証した。

その結果、第一サンプルでは、統合失調症、うつ病をそれぞれ80%の正答率で判別する方法を見出した。それを第二サンプルに適用した

ところ、統合失調症で72%、うつ病で81%の正答率を得た。以上から、MRI 構造画像を用いて、統合失調症とうつ病を判別することが可能であることが示唆された。なお、この研究によって、統合失調症やうつ病に特徴的な脳構造変化が明らかになった。今後、男性についても症例数を増やして検討する予定である。

③MRS を用いた統合失調症の再発に関する研究

分担研究者の石川との共同研究によって、統合失調症再燃例と、慢性期統合失調症および健常人を対象に MRS によるグルタミン神経伝達系の変化を検討した。MRS による glutamine + glutamate 測定が統合失調症の再発と関連するバイオマーカーとなる可能性が示唆された (Ota et al, Acta Psychiatr Scand, 2012)。

<細胞生物学や動物モデルによる機能解析>

分担研究者の沼川は、統合失調症の病態の鍵分子である脳由来神経栄養因子 (BDNF) に注目し、統合失調症症状を惹起することで知られるフェンサイクリジン(PCP)の培養ニューロンシナプス減少作用における BDNF の役割について検討した。その結果、PCP は NMDA 型グルタミン酸受容体を介したカルシウムの流入を阻害することによって BDNF の分泌を抑制し、その結果シナプスを減少させることを見いだした。これは、統合失調症におけるミクロの形態学的異常を説明するメカニズムとして極

めて重要な知見である。

分担研究者の那波は、ニューレグリン1の新生児ラット投与モデルを統合失調症モデル動物として用い、その神経回路発達の変化、認知行動変化との対応、抗精神病薬の作用機序など、その病態機序の解明を行った。このモデルでは、前頭葉内側部への永続的なドーパミン神経支配を示すとともに、社会行動において顕著な認知行動異常を示した。昨年度までの上皮成長因子を用いたモデルと同様に、中脳ドーパミン神経の自発発火頻度、もしくはその頻度分布、反応性に異常が観察された。これらの事実は、統合失調症の関連認知行動変化にドーパミンが確かに関与していることを実証するもので、ドーパミン仮説の再検証と関連薬物の再評価を促すものである。

<創薬研究>

①緑茶成分テアニンの向精神薬作用の前臨床的検討 (図 13)

統合失調症の病態においてグルタミン酸が重要であることが古くから指摘されている。そこで、グルタミン酸誘導体であり、緑茶の旨味成分であるテアニンの向精神薬作用についてマウスを用いた前臨床的検討を行った。その結果、テアニンの単回投与によって、NMDA受容体拮抗薬であるMK-801によって誘導されたPPIの低下が改善された。さらに、3週間の持続的投与を行ったところ、強制水泳テストの無動時間

を有意に減少させ、ベースラインのPPIを改善した。分子メカニズムでは、ウエスタンブロットによる解析から、持続投与によって海馬のBDNFが増加することが明らかになった。培養ニューロンによる解析では、テアニンの投与によって細胞内カルシウム濃度の上昇が誘起され、それらがNMDA受容体拮抗薬によって抑制されたことから、テアニンにはNMDA受容体のアゴニスト作用があり、この作用によるBDNFの発現上昇が、向精神薬作用に関与している可能性が示唆された (Wakabayashi et al, *Psychopharmacology*, 2012)。23年度から、ヒト投与試験を開始し、PPIの改善効果に関することを示唆する予備的結果を得ており、臨床的に有用であることをさらに示唆する結果を得た。

E. 結論

統合失調症における知能低下、記憶障害、実行機能などに重度の認知機能障害があることをさらに症例数を増やして明らかにし、BACS-Jによる簡便な評価法の有用性を確立し、診断法への応用法を開発した。さらに、WAIS-Rを統合失調症の診断に用いる方法を開発した。PPIの世界最大級のデータベースを構築し、診断的有用性について明らかにした。統合失調症の脳脊髄液、末梢血においてIL-6が高いことを明らかにした。また、安定同位体¹³Cで標識したフェニルアラニンの呼気ガス検査によって統合失調症

のフェニルアラニン代謝に異常があることを明らかにした。これも診断法に活用できる。遺伝子解析によって統合失調症リスク遺伝子に関する検討を行い、いくつかの有力なリスク遺伝子を同定した。細胞生物学的検討や動物モデルによってBDNFやニューレグリンの統合失調症の神経発達障害形成に関与するメカニズムについて極めて興味深い知見を得た。テアニンの抗精神病薬様作用について明らかにした。

以上のように、統合失調症の多次元生物学的診断法の確立、それに基づいた病態解明、創薬などの多くの成果が得られた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

研究代表者の研究発表を以下に記す。分担研究者による研究発表は、分担研究報告書に記載した。

1. 論文発表

- 1) 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 Research* 116(1):61-67, 2010.

- 2) 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 Letters* 468(3):300-302, 2010. Epub 2009 Nov 13.
- 3) 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. *Biolpsycal Psychiatry*. 67(10):974-982, 2010.
- 4) Numakawa T, Suzuki S, Kumamaru E, Adachi N, Richards M, Kunugi H: BDNF function and intracellular signaling in neurons. *Histology and Histopathology* 25 (2): 237-258, 2010.
- 5) Kawashima H, Numakawa T, Kumamaru E, Adachi N, Mizuno H, Ninomiya M, Kunugi H, Hashido K. Glucocorticoid attenuates brain-derived neurotrophic factor-dependent upregulation of glutamate receptors via the suppression of microRNA-132 expression. *Neuroscience* 165(4):1301-11, 2010. Epub 2009 Dec 1.
- 6) Kajiyama Y, Iijima Y, Chiba S, Furuta M, Ninomiya M, Izumi A, Shibata S, Kunugi H. Prednisolone causes anxiety- and depression-like behaviors and altered expression of apoptotic genes in mice hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biological Psychiatry* 34(1):159-165, 2010. Epub 2009 Oct 30.
- 7) Okahisa Y, Ujike H, Kunugi H, Ishihara T, Kodama M, Takaki M, Kotaka T, Kuroda S. Leukemia inhibitory factor gene is associated with schizophrenia and working memory function. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34(1):172-176, 2010. Epub 2009 Oct 30.
- 8) 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. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 153B(2):484-493, 2010.
- 9) Fukumoto N, Fujii T, Combarros O, Kamboh MI, Tsai SJ, Matsushita S, Nacmias B, Comings

- DE, Arboleda H, Ingelsson M, Hyman BT, Akatsu H, Grupe A, Nishimura AL, Zatz M, Mattila KM, Rinne J, Goto Y, Asada T, Nakamura S, Kunugi H. Sexually dimorphic effect of the Val66Met polymorphism of BDNF on susceptibility to Alzheimer's disease: New data and meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 153B(1): 235-242, 2010.
- 10) 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 Journal of Biological Psychiatry* 11(2 Pt2): 431-438, 2010.
- 11) 功刀浩：近年注目されている統合失調症の仮説について。こころの臨床 à la carte (印刷中)
- 12) 堀弘明、功刀浩：ストレス反応・うつとニューロペプチド。(特集ニューロペプチド) *Hormone Frontier in Gynecology* 17 (1): 31-37, 2010.
- 13) 功刀浩：統合失調症の病因。(連載：心理臨床家のための脳科学講義 4) *臨床心理学* 10 (1): 100-108, 2010.
- 14) 功刀浩：統合失調症の発病過程—金閣寺炎上僧を通じて—。(連載：心理臨床家のための脳科学講義 5) *臨床心理学* 10 (2) : 282-290, 2010.
- 15) 功刀浩：ドーパミンとその統合失調症における役割。(連載：心理臨床家のための脳科学講義 6) *臨床心理学* 10 (3) : 429-434, 2010.
- 16) 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 Journal of Biological Psychiatry*. 2009 Apr 7:1-8. [Epub ahead of print]
- 17) Hashimoto R, Noguchi H, Hori H, Ohi K, Yasuda Y, Takeda M, Kunugi H. Association between the dysbindin gene (DTNBP1) and cognitive functions in Japanese subjects. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 2009 63(4):550-556, 2009. Epub 2009 May 22.
- 18) Hashimoto R, Mori T, Nemoto K, Moriguchi Y, Noguchi H, Nakabayashi T, Hori H, Harada S, Kunugi H, Saitoh O, Ohnishi T. Abnormal microstructures of the basal ganglia in schizophrenia revealed by diffusion tensor imaging. *World Journal of Biological Psychiatry* 2009;10(1):65-9.
- 19) Hashimoto R, Ohi K, Okada T, Yasuda Y,

- Yamamori H, Hori H, Hikita T, Taya S, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kaibuchi K, Takeda M, Kunugi H. Association analysis between schizophrenia and the AP-3 complex genes. *Neuroscience Research* 65(1): 113-115, 2009. Epub 2009 May 27.
- 20) Hattori E, Toyota T, Ishitsuka Y, Iwayama Y, Yamada K, Ujike H, Morita Y, Kodama M, Nakata K, Minabe Y, Nakamura K, Iwata Y, Takei N, Mori N, Naitoh H, Yamanouchi Y, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Nishikawa T, Kashiwa A, Suzuki M, Shioe K, Shinohara M, Hirano M, Nanko S, Akahane A, Ueno M, Kaneko N, Watanabe Y, Someya T, Hashimoto K, Iyo M, Itokawa M, Arai M, Nankai M, Inada T, Yoshida S, Kunugi H, Nakamura M, Iijima Y, Okazaki Y, Higuchi T, Yoshikawa T. Preliminary genome-wide association study of bipolar disorder in the Japanese population. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 150B(8): 1110-1117, 2009.
- 21) Kazuno AA, Munakata K, Mori K, Nanko S, Kunugi H, Nakamura K, Mori N, Yamada K, Yoshikawa T, Kato N, Kato T. Mitochondrial DNA haplogroup analysis in patients with bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 150B(2):243-247, 2009.
- 22) Kawashima K, Ikeda M, Kishi T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Okochi T, Aleksic B, Tomita M, Okada T, Kunugi H, Inada T, Ozaki N, Iwata N. BDNF is not associated with schizophrenia: data from a Japanese population study and meta-analysis. *Schizophrenia Research* 112(1-3): 72-79, 2009. Epub 2009 Apr 29.
- 23) Koga M, Ishiguro H, Yazaki S, Horiuchi 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, Muchardt C, Yaniv M, Arinami T. Involvement of SMARCA2/BRM in the SWI/SNF chromatin-remodeling complex in schizophrenia. *Human Molecular Genetics* 18(13): 2483-2494, 2009. Epub 2009 Apr 10.
- 24) Kubota K, Inoue K, Hashimoto R, Kumamoto N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Kunugi H, Iwata N, Ozaki N, Takeda M, Tohyama M. Tumor necrosis factor receptor-associated protein 1 regulates cell adhesion and synaptic morphology via modulation of N-cadherin expression. *Journal of Neurochemistry* 110(2): 496-508, 2009. Epub 2009 Apr 20.
- 25) Numata S, Iga J, Nakataki M, Tayoshi S, Taniguchi K, Sumitani S, Tomotake M,

- Tanahashi T, Itakura M, Kamegaya Y, Tatsumi M, Sano A, Asada T, Kunugi H, Ueno S, Ohmori T. Gene expression and association analyses of the phosphodiesterase 4B (PDE4B) gene in major depressive disorder in the Japanese population. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics* 150B(4): 527-534, 2009.
- 26) 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 Research* 116: 61-67, 2009
- 27) Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Yamamori H, Hori H, Saitoh O, Tatsumi M, Takeda M, Iwata N, Ozaki N, Kamijima K, Kunugi H. No association between the Bcl2-interacting killer (BIK) gene and schizophrenia. *Neuroscience Letters* 463(1):60-63, 2009. Epub 2009 Jul 24.
- 28) Watanabe Y, Nunokawa A, Kaneko N, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Itokawa M, Otowa T, Ozaki N, Someya T. A two-stage case-control association study of PADI2 with schizophrenia. *Journal of Human Genetics* 54(7): 430-432, 2009. Epub 2009 May 29.
- 29) 沼川忠広、功刀浩：脳由来神経栄養因子 (BDNF)の機能を抑制するストレスホルモン。 *医学のあゆみ* 231 (10): 1015-1018, 2009.
- 30) 功刀浩：統合失調症は認知症か？（連載：心理臨床家のための脳科学講義 1） *臨床心理学* 9 (4): 543-549, 2009.
- 31) 功刀浩：統合失調症は広汎性非特異的高次脳機能障害である。（連載：心理臨床家のための脳科学講義 2） *臨床心理学* 9 (5): 669-676, 2009.
- 32) 功刀浩：統合失調症の脳形態異常—マクロとミクロから見えてくること—。（連載：心理臨床家のための脳科学講義 3） *臨床心理学* 9 (6): 801-807, 2009.
- 33) Numakawa T, Yokomaku D, Richards M, Hori H, Adachi N, Kunugi H. Functional interactions between steroid hormones and neurotrophin BDNF. *World J Biol Chem.* 2010 May 26;1(5):133-43.
- 34) Hori H, Teraishi T, Sasayama D, Ozeki Y, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Hattori K, Higuchi T, Kunugi H. Poor sleep is associated with exaggerated cortisol response to the combined dexamethasone/CRH test in a non-clinical population. *J Psychiatr Res.* 2011 Sep;45(9):1257-63. Epub 2011 May 6.
- 35) Hori H, Teraishi T, Ozeki Y, Hattori K, Sasayama D, Matsuo J, Kawamoto Y,

- Kinoshita Y, Higuchi T, Kunugi H. Schizotypal personality in healthy adults is related to blunted cortisol responses to the combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test. *Neuropsychobiology* 2011;63(4):232-41.
- 36) Sasayama D, Hori H, Teraishi T, Hattori K, Ota M, Matsuo J, Kawamoto Y, Kinoshita Y, Hashikura M, Koga N, Okamoto N, Sakamoto K, Higuchi T, Amano N, Kunugi H. Difference in Temperament and Character Inventory scores between depressed patients with bipolar II and unipolar major depressive disorders. *J Affect Disord.* 2011 Aug;132(3):319-24. Epub 2011 Mar 24.
- 37) Kishi T, Fukuo Y, Kitajima T, Okochi T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ujike H, Ozaki N, Iwata N. SIRT1 gene, schizophrenia and bipolar disorder in the Japanese population: an association study. *Genes Brain Behav.* 2011 Apr;10(3):257-63.
- 38) Ozeki Y, Pickard BS, Kano S, Malloy MP, Zeledon M, Sun DQ, Fujii K, Wakui K, Shirayama Y, Fukushima Y, Kunugi H, Hashimoto K, Muir WJ, Blackwood DH, Sawa A. A novel balanced chromosomal translocation found in subjects with schizophrenia and schizotypal personality disorder: altered l-serine level associated with disruption of PSAT1 gene expression. *Neurosci Res.* 2011 Feb;69(2):154-60.
- 39) Hori H, Richards M, Kawamoto Y, Kunugi H. Attitudes toward schizophrenia in the general population, psychiatric staff, physicians, and psychiatrists: a web-based survey in Japan. *Psychiatry Res.* 2011 Apr 30;186(2-3):183-9.
- 40) 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. *J Psychiatr Res.* 2011 Jan;45(1):47-53.
- 41) Kishi T, Okochi T, Tsunoka T, Okumura T, Kitajima T, Kawashima K, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Naitoh H, Inada T, Kunugi H, Kato T, Yoshikawa T, Ujike H, Ozaki N, Iwata N. Serotonin 1A receptor gene, schizophrenia and bipolar disorder: an association study and meta-analysis. *Psychiatry Res.* 2011 Jan 30;185(1-2):20-6.
- 42) Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Yoon HS, Kunugi H. Cabergoline, a dopamine receptor agonist, has an antidepressant-like property and enhances brain-derived neurotrophic factor signaling. *Psychopharmacology (Berl).* 2010 Aug;211(3):291-301.
- 43) Hori H, Ozeki Y, Teraishi T, Matsuo J,