

図4 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

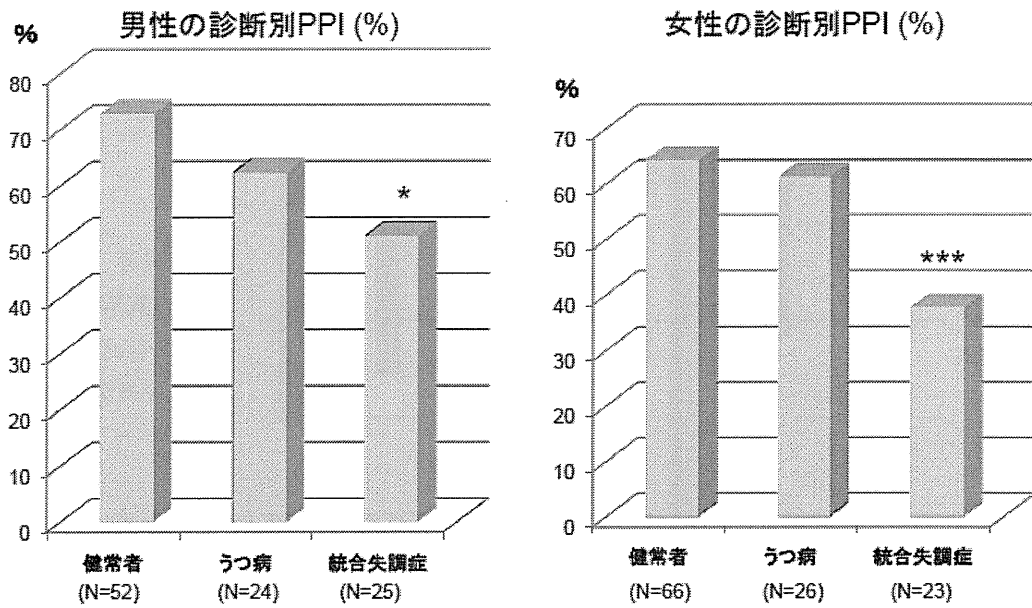


図5 プレパルスインヒビションとグルタミン濃度 (MRS) との逆相関

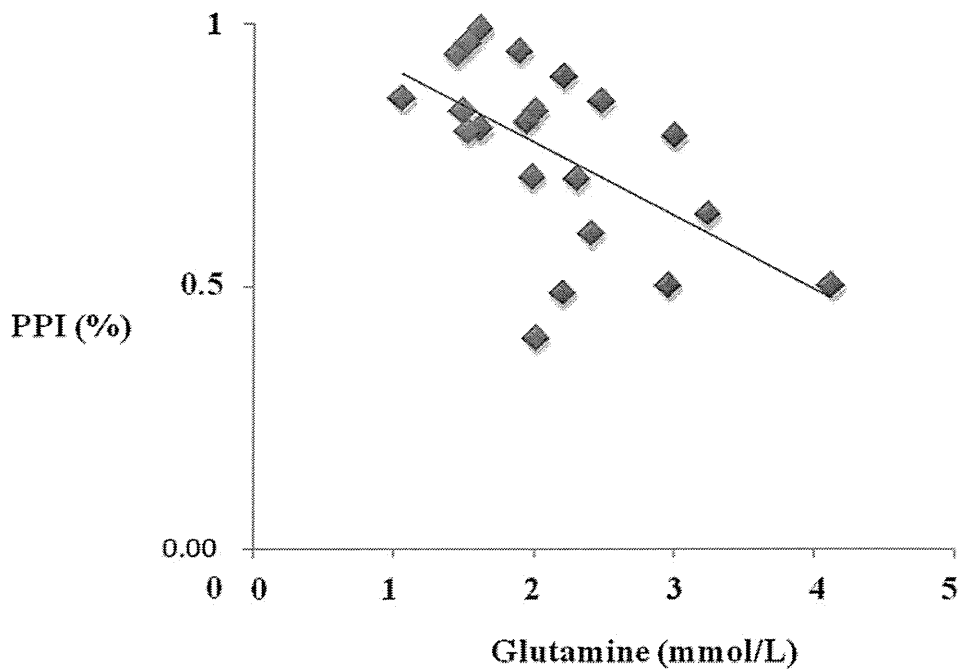
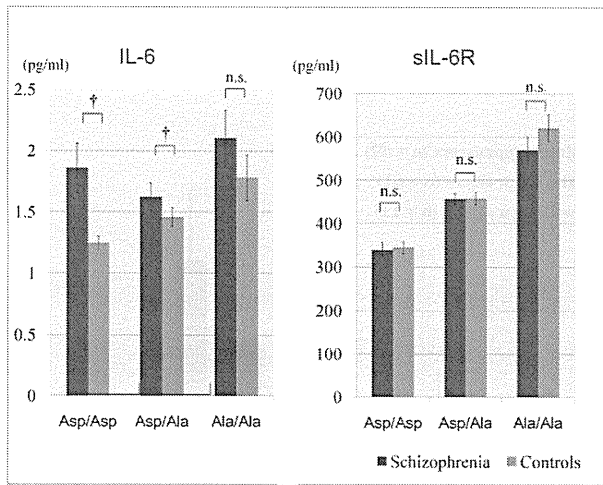


図6 統合失調症健常者における IL-6R 遺伝子多型と IL-6、可溶性 IL-6 濃度との関連 (左)



統合失調症、うつ病、健常者における 脳脊髄液中、血中の IL-6 濃度 (右)

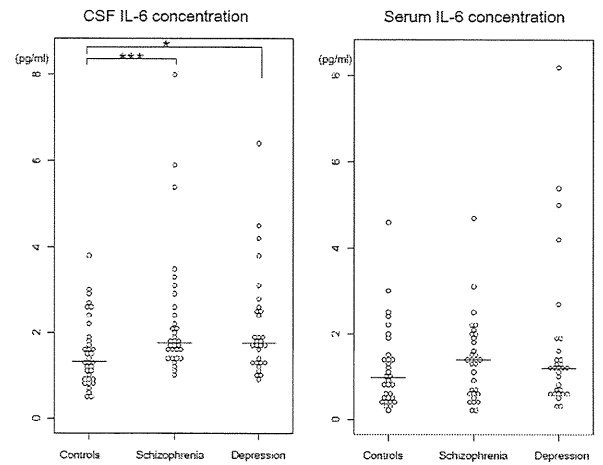


図4

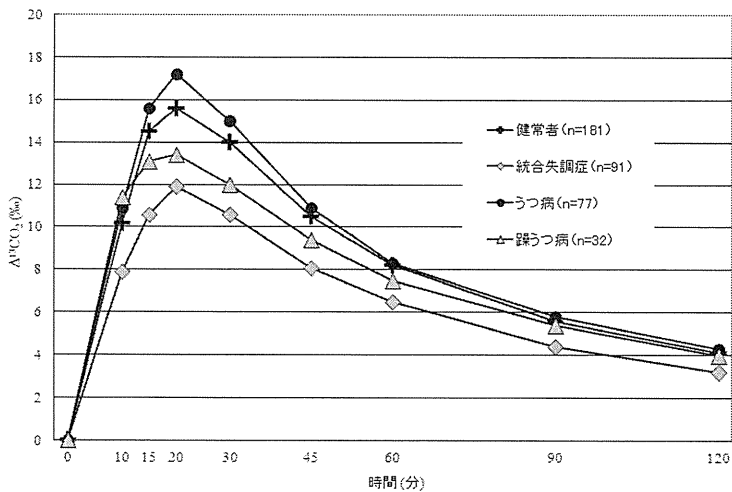


図2

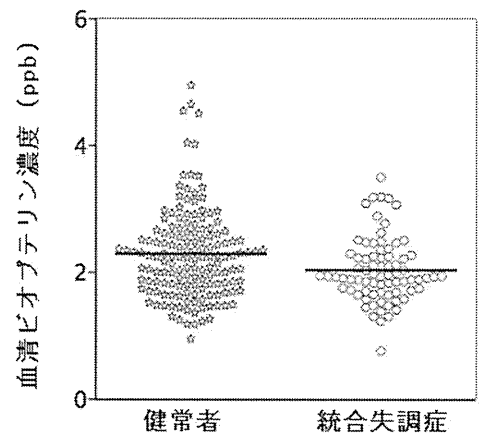


図8 統合失調症型人格傾向と DEX/CRH テストとの関連

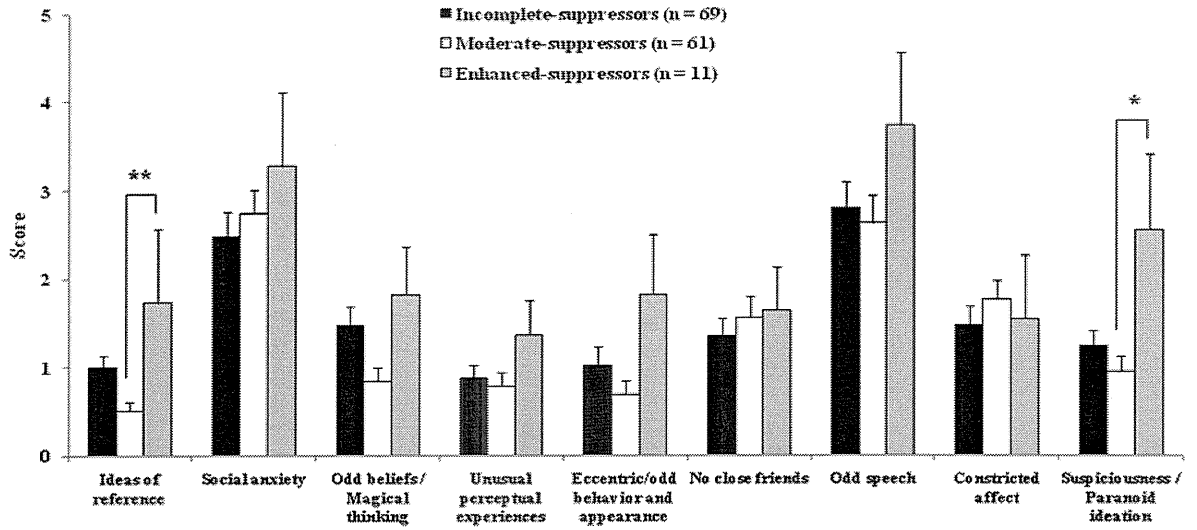


図9 統合失調症患者（急性期）では、健常者と比較して、低用量デキサメサゾンテスト後の
 コルチゾール値 ($p < 0.05$) とコルチゾール/DHEAS 比 ($p < 0.01$) が上昇していた。

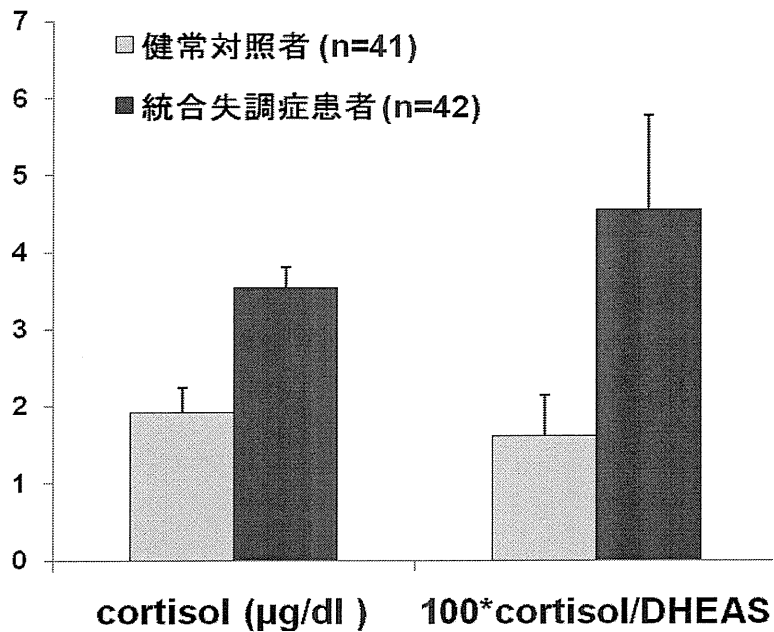


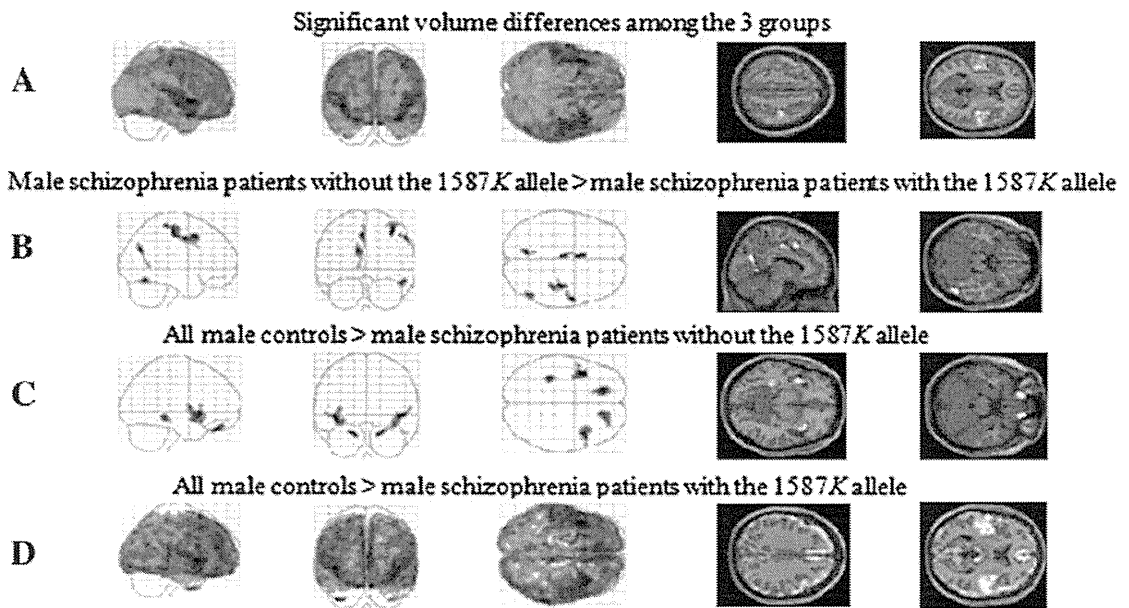
図 10 統合失調症とセマフォリン 3 D (*SEMA3d*) 遺伝子上の SNP との関連

Table 2
Associations with schizophrenia of the 9 SNPs and haplotypes in *SEMA3D*.

SNP No.	dbSNP ID	Allele model	Hap							
		p value	2 locus	3 locus	4 locus	5 locus	6 locus	7 locus	8 locus	9 locus
SNP1	rs2190208	0.59	0.019							
SNP2	rs1029564	0.011	0.029	0.10	0.00001					
SNP3	rs17159514	0.96	0.0004	0.00002	0.0003	0.00005				
SNP4	rs12176601	0.021	0.035	0.0010	0.0006	0.0001	0.00007		0.0003	
SNP5	rs5995472	0.0075	0.023	0.033	0.008	0.0004	0.0016	0.0007	0.0001	0.0007
SNP6	rs17559978	0.025	0.030	0.022	0.008	0.051	0.0001		0.0004	0.0001
SNP7	rs17159577	0.60	0.042	0.054	0.025	0.034	0.076			
SNP8	rs17159556	0.042	0.020	0.028	0.051					
SNP9	rs7800072	0.0069								

^a global p value.

図 11 統合失調症脳構造体積と ABCA1 遺伝子多型



A: 統合失調症と健常者の脳構造体積の差がある領域

B~D: リスク遺伝子をもたない者では、統合失調症における皮質体積の変化は目立たないが、リスク遺伝子をもつ統合失調症者は健常者と比べて大脳皮質の広範な体積減少を認めた。

図 12 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)

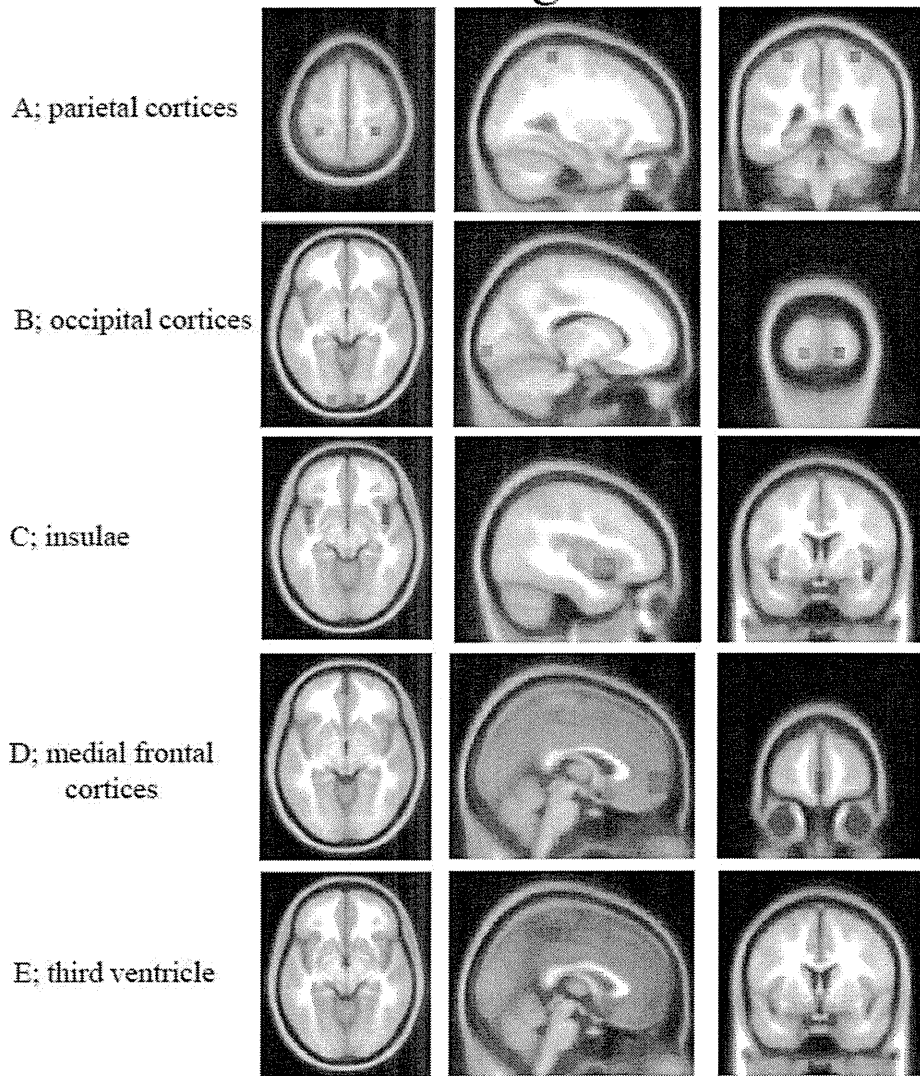
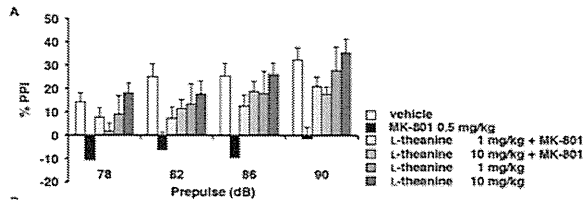
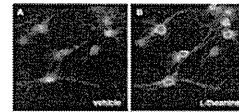


図 13 テアニンの向精神薬作用 (PPI 改善、意欲改善) と海馬の BDNF 発現増加作用、細胞内カルシウム増加作用

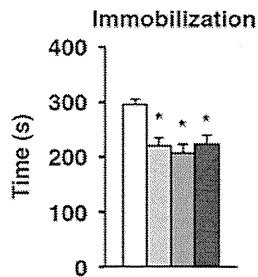
MK-801に誘発されたPPIの低下を改善



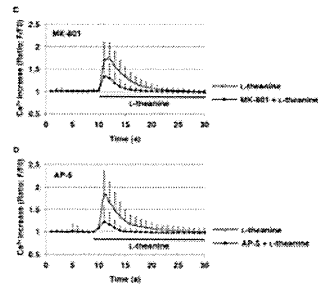
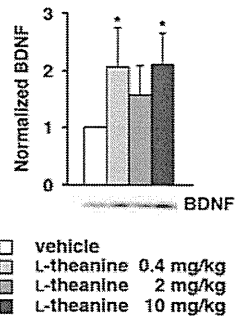
細胞内カルシウム増加作用



強制水泳の無動時間を減少



海馬BDNF発現増加



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

統合失調症における経時的変化やその負因などをmultimodal neuroimagingを用いて検証し、統合失調症の病態解明を行った。

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。このたび我々はMRIを用いて統合失調症の負因や前駆症状、経時的変化について検討することを目的とした。

具体的には、統合失調症における経時的変化、統合失調症前駆期における脳形態変化、また統合失調症の発症リスクと関連が示唆されているABCA1遺伝子の変異と脳形態についての検証を行った。

統合失調症患者9人、健常群10人を対象にMRIを撮影。このデータから3群の相違を検討した。

III ; ABCA1と統合失調症の関連

86人の統合失調症患者群と139人の健常群で頭部MRI画像とSNPの変異との関連を検討した。506人の統合失調症患者群と941人の健常群を対象にABCA1のSNPの変異を検証した。また、前述の参加者のうち86人の統合失調症患者群と139人の健常群で頭部MRI画像とSNPの変異との関連を検討した。

B. 研究方法

I ; 統合失調症における経時的変化

慢性期の高齢男性統合失調症患者16名を対象に疾患過程における脳変化を一年間縦断的に検討した。

II ; 統合失調症前駆期における脳形態変化

統合失調症のpre-onset群10人、初発統

(倫理面への配慮)

対象者には検査に関する説明を行い、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。

C. 研究結果

I ;統合失調症における経時的変化

T1-volume dataから、前部帯状回、左前頭前野皮質の萎縮が認められた。FA mapからは前部帯状回、脳梁膝部、両側側頭葉領域のFA低下、MD mapからは両側側頭葉領域、左島部のMD上昇が認められた。

II ;統合失調症前駆期における脳形態変化

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。

III ;ABCA1と統合失調症の関連

男性統合失調症患者のうち1587Arg アリルを持たない群では、健常群と比較して両側島、前頭葉眼窩面といった、従来統合失調症で脳変形が起こることが広く知られている領域での皮質容量の低値が確認された。一方1587Argをもつ男性統合失調症患者群では健常群と比較して大脳びまん性に皮質萎縮を認めた。

D. 考察

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ほか、統合失調

症の臨床症状の評価尺度として、画像情報が利用されるようになることが期待される。今後はこれまで積み重ねてきた方法論を、統合失調症患者に対する最適な治療法の選択に転用できないか、といったような治療面への応用方法を探索していく。

E. 結論

統合失調症では遺伝的要因による脳形態変化に加え、その前駆期においても脳形態に変化が認められる。また疾患の経過に伴い進行性の形態変化が加わることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 論文発表

I ;Ota M et al., Acta Neuropsychiatrica 2009

II ;Ota M et al., Acta Neuropsychiatrica 2011

III;Ota M et al., Prog

Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry.

2011.

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

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

MRI 装置を用いた morphometry、MRS、DTI、および認知神経心理テストバッテリーを施行した。その結果、MRI 検査による判別診断、重症度の判定、BACS-J による重症度の判定、および PANSS の抑うつ尺度と JSQLS による自己満足度の評価により治療アドヒアランスの判定が可能と考えられた。これらの生物学的指標により、これまでより客観的で均てん化された診断と治療が行えるものと考えられた。

A. 研究目的

統合失調症の診断はアメリカ精神医学会による精神障害の診断と統計の手引き（Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-IV-TR）や世界保健機関（WHO）によって公表された疾病及び関連保健問題の国際統計分類（International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, ICD-10）による操作的診断によってなされる。これらには臨床症状のみにより診断され、客観的な検査所見は利用されない。一方上記の診断基準で取り上げられている陽性症状、陰性症状以外に、神経心理

学的研究により、認知神経心理検査や画像検査、生理学的検査などにより様々なbiomarkerの候補が報告されてきた。

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ている。統合失調症の病期にあわせた脳形態変化や、内服に伴う大脳皮質容量変化、その他病初期における脳形態変化などを対象とした研究も広く行われている。また形態学的変化のみならず、MRSをもちいた生体内分子の種類、成分などを対象とした疾患研究でも統合失調症患者における特異な変化が認められている。このため我々はmultimodal neuroimaging

を用いて統合失調症の診断、予後について検討を行った。具体的にはneuroimagingによる疾患の判別分析および、統合失調症患者の臨床症状のマーカーとなるような生体内分子を探索した。

また認知機能障害は、患者の社会機能予後に対して陽性・陰性症状以上に大きな影響を及ぼすと考えられている。そこで、統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版 (BACS-J) を用いて、急性期統合失調症患者の認知機能を評価するとともに、治療に対するアドヒアランスを反映するといわれる自記式のQOL評価尺度であるSchizophrenia Quality of Life Scale (SQLS) と認知神経心理テストバッテリーとの関連を検討した。

B. 研究方法

①統合失調症患者と健常人との判別分析

当センターで統合失調症と診断を受けた女性38人 (平均年齢46.6歳) と年齢を適合させた健常女性105人 (平均年齢42.0歳) を対象に1.5TのMRIスキャナ(Magnetom Vision, Siemens)により3D-T1weighted imageを撮影、このデータから判別分析の説明因子と正準判別関数係数を特定した。

次に、上記対照群とは別に女性統合失調症患者27人 (平均年齢41.4歳)、年齢を適合させた健常女性27人 (平均年齢47.5歳) を対象に同様のMRI検査を行い、上記グループから得られた

正準判別関数係数をこの54人に対して適応し、判別分析の正確度を測定した。

②統合失調症患者と大うつ病性障害患者の判別分析

当センターで統合失調症と診断を受けた女性30人 (平均年齢41.1歳) と年齢を適合させた大うつ病性障害の女性31人 (平均年齢42.8歳) を対象に1.5TのMRIスキャナ(Magnetom Vision, Siemens)により3D-T1weighted imageとDTIを撮影。この画像データ、特に帯状回や島、視床といった辺縁系の下位領域のパラメータを用いて判別分析を行い、正確度を測定した。

③統合失調症患者における症状再燃とグルタミン酸系神経との関連

急性期病棟に入院となった統合失調症再燃例24名 (男性11名、平均年齢45.0歳)、症状が安定している慢性期統合失調症22名 (男性12名、平均年齢41.3歳)、および対象健常人27名 (男性13名、平均年齢42.8歳) を対象に1.5T Magnetom Visionを用いMRSを撮影した。解析ソフト (@LCModel) により定量化が可能であった Creatine, N-アスパラギン酸, glutamine+glutamate、inositolといった代謝物濃度が3群間でどのように異なっているかを、ANOVAを用いて検討した。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定した。

④ 統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版 (BACS-J) を用いた、急性増悪統合失調症患者の認知機能障害の検討

説明と同意が得られた健常対照者27名、外来通院中の統合失調症患者17名、国立精神・神経医療研究センター病院の急性期病棟に入院となった統合失調症患者20名を対象とした。いずれの群も男女をほぼ半数ずつとし、平均年齢は43歳前後、教育歴は14歳前後で有意差はなかった。統合失調症の外来、入院群は発症年齢、病期間をそれぞれ23.4 (7.8) vs. 27.2 (12)、20.0 (15.5) vs. 15.8 (9.6) とし、有意な差は認められていなかった。対象者に対し、統合失調症患者の主な認知機能障害（言語性記憶、作動記憶、運動機能、言語流暢性、注意、遂行機能）を評価するBACS-Jを施行し、頭部画像はSiemens社製1.5T Magnetom Visionを用いDTIおよび3D-T1weighted imageなどと比較検討した。

⑤ 急性増悪統合失調症患者におけるSchizophrenia Quality of Life Scale(JSQLS)と認知機能障害の検討

説明と同意が得られた国立精神・神経医療研究センター病院の急性期病棟に入院となった統合失調症患者80名（男性35名、女性45名）

を対象とした。対象者に対し、PANSS、BACS-J、JSQLSを施行し、比較検討した。それぞれ有意水準5%未満を統計学的な変化とした。

（倫理面への配慮）

対象者からは書面を用いて説明し、署名にて同意を得た。なお本研究は当センター倫理委員会にて承認を得ている。

C. 研究結果

① 統合失調症患者と健常人との判別分析

両側島、内側前頭葉、第3側脳室、上頭頂葉、後頭葉といった領域の volume data を説明変数として step wise 法により判断分析を行った結果、正準判別関数係数は右島；-8.7、内側前頭葉；-10.3、第3側脳室；4.9、右頭頂葉；19.7 で感度 76.3%特異度 72.4%の検出力をえた。この結果をうけて、第二グループに対して同様の計算を行なったところお感度 78%、特異度 74%という結果であった。

② 統合失調症患者と大うつ病性障害患者の判別分析

脳梁を計6か所、視床を5か所、島を2か所、帯状回を4か所に分割し、それぞれの領域から得られる volume data, DTI metrics を説明変数として二群の判別分析を行ったところ、step wise 法において正確度 78.7%の検出力をえた。しかしこれには6つの説明変数が必要で

あったことから、独立変数の数を **manual** で変更していったところ、説明変数 4・5 つを用いることで正確度 77.0~82.0%と、6 つを必要とした **Step wise** 法の件出力とほぼ同様であった。

③統合失調症患者における症状再燃とグルタミン酸系神経との関連

統合失調症再燃例、安定している慢性期統合失調症患者、および対象健常人間での大脳代謝物濃度の差を、ANOVA を用いて検証した結果、左頭頂葉皮質下白質領域の ROI から得られた **glutamine + glutamate** の濃度が健常人や安定した統合失調症患者と比較して統合失調症再燃例で上昇していることが確認された。一方、左前頭葉皮質下白質から得られる脳内代謝物の濃度は3群の間で明らかな違いを認めなかった。

④統合失調症認知機能簡易評価尺度日本語版 (BACS-J) を用いた、急性増悪統合失調症患者の認知機能障害の検討

健常者、入院統合失調症患者、外来統合失調症患者それぞれのBACS-J 各検査平均得点は、言語性記憶と学習、48.4 vs. 29.7 vs. 39.9 ; ワーキングメモリ、20.2 vs. 15.4 vs. 17.4 ; 運動機能、79.3 vs. 55.2 vs. 70.9 ; 意味流暢性、20.9 vs. 21.1 vs. 18.8 ; 言語流暢性、27.3 vs. 25.9 vs. 22.6 ; 注意、66.4 vs. 42.2 vs. 52.4 ; 遂行機能、16.9 vs. 14.4 vs. 14.7であった。

ANOVAより、言語性記憶やワーキングメモリ、運動機能において健常群と入院統合失調症患者の間に有意な差が認められた。注意では入院統合失調症患者と外来患者、外来統合失調症患者と健常者との間に有意な差が認められた。

3次元構成T1強調画像、DTIなどからは入院している重症統合失調症と外来経過の統合失調症患者との間に有意差は認められなかった。

⑤平均年齢、教育歴、抗精神病薬投与量 (クロルプロマジン換算)、PANSS のコンポジットスコアは性差による有意な変化は認められなかった (表 1)。JSQLS の各検査平均得点は心理社会関係 51.3、動機と活力 49.8、症状と副作用 41.8、総得点 142.9 であった。偏相関係数による PANSS と JSQLS の各スコア間の検討では、PANSS の「抑うつ」尺度は JSQLS のすべての尺度と相関を示した。その他、PANSS の陽性尺度と JSQLS の「症状と副作用」「JSQLS 総得点」、PANSS の「活動性」と JSQLS の「症状と副作用」が相関を示した。一方で、BACS と JSQLS では、BACS の「文字流暢性」と JSQLS の「動機と活力」のみが相関を示した。

表1

	Male	Female
number	35	45
Age	40±12.9	44±14.6
Education (years)	13.6±2.7	13.2±2.1
Chlorp. Equivalent (mg)	739.5±428.1	726.1±496.0
PANSS positive	16.8±6.2	15.7±2.1
PANSS negative	17.3±6.3	16.8±7.1
PANSS general	32.3±10.1	30.0±10.7

D. 考察

頭部画像検査の結果より、統合失調症や大うつ病性障害における特徴的な大脳の変化パターンは、疾患鑑別に有用であることが示唆された。また、統合失調症再発例において頭頂葉皮質下白質の glutamine+glutamate の上昇を認めており、統合失調症再発例における hyperglutamatergic な病態が示唆された。Myelination に必要な oligodendrocyte は hyperglutamatergic な状況において障害されやすいことが知られており、同部位における glutamate の放出量増加が下頭頂葉白質障害、陽性症状の再燃と関連していることが推測された。Glutamine 値と内服薬の間に関連はなく、このことから MRS による glutamine 測定が統合失調症の biomarker として有用である可能性が示唆された。

これまで我々のグループは統合失調症の前駆状態時における大脳形態変化を MRI、DTI によって皮質、白質領域の両側面から明らかにしている(Ota ら 2011)。今回の結果なども踏まえ、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のみならず、他疾患との診断鑑別も画像により可能になること、さらには統合失調症の臨床症状の評価尺度として、scalar である画像情報が利用されるようになることが期待される。

また認知機能検査の一つである BACS-J は、およそ 40 分で施行できる簡便な検査であり、

他の認知機能検査との相関が高く、統合失調症患者における認知機能障害を検出する優れた検査法である。今回の結果から、統合失調症患者における認知機能障害、特に注意障害は統合失調症の臨床症状と関連することが明らかとなっており、今後 BACS-J は統合失調症の重症度判定にも有用である可能性が示唆された。

一方でこれまでも再発予防を目指すために患者のアドヒアランス向上の重要性が指摘されている。自記式の QOL 評価尺度は治療満足度と関連しているとされており、JSQLS はその中でも統合失調症の QOL の障害に焦点を当てているため、統合失調症患者の治療満足度とアドヒアランスをよく反映していると考えられている。今回の検討では認知機能障害よりも PANSS の抑うつ尺度はと強い関連が認められた。これらの結果より、再発予防を目指した尺度としては、認知機能障害より抑うつ状態の評価と自己満足度を経時的に評価することが重要と考えられた。

E. 結論

MRI 装置を用いた morphometry、MRS、DTI により統合失調症の診断と重症度の判定が可能と考えられた。また認知神経心理テストバッテリーの検討から BACS-J による認知機能検査にて重症度の判定と、PANSS の抑うつ尺度と JSQLS による自己満足度の評価により治療アドヒアランスの判定が可能と考えられた。これ

らの生物学的指標により、これまでの臨床症状による診断や重症度の判定と比較し、より客観的で均てん化された診断と治療が行えるものと考えられた。

参考文献

Ota M et al: *Acta Neuropsychiatrica* 23:125-131, 2011.

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Miho Ota et al. Neuroimaging study in subjects at high risk of psychosis revealed by the Rorschach test and first-episode schizophrenia. *Acta Neuropsychiatrica*. 23; 125-131, 2011
2. Miho Ota et al. A polymorphism of the ABCA1 gene confers susceptibility to schizophrenia and related brain changes *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 35; 1877-1883, 2011
3. Miho Ota et al. Discrimination of schizophrenic females from healthy women using multiple structural brain measures obtained with voxel-based morphometry obtained with voxel-based morphometry. *Psychiatry Clin Neurosci*. In press.
4. Miho Ota et al. Glutamatergic changes in the cerebral white matter associated with schizophrenic exacerbation. *Acta Psychiatr Scand*. In press

2. 学会発表

1. 太田深秀, 藤井崇, 根本清貴, 大西隆, 守口善也, 橋本亮太, 佐藤典子, 功刀浩: 「統合失調症発症リスクおよび疾患に伴う大脳形態変化と ABCA1 遺伝子多型との関連解析」 第 32 回日本生物学的精神医学会、小倉、10.8, 2010

2. 堀 弘明, 寺石 俊也, 篠山 大明, 石川 正憲, 功刀 浩: 統合失調症における視床下部 - 下垂体 - 副腎系機能: 低用量デキサメタゾン抑制テストによる検討. 第 32 回日本生物学的精神医学会, 2010

3. 藤井 崇, 内山 博文, 山本 宜子, 堀 弘明, 巽 雅彦, 有馬 邦正, 石川 正憲, 樋口 輝彦, 功刀 浩: 統合失調症とセマフォリン 3D 遺伝子 (SEMA3D) の関連解析. 第 33 回日本神経科学会, 2010

4. 松尾 淳子, 木下 裕紀子, 須藤 志保, 橋倉 都, 堀 弘明, 寺石 俊也, 尾関 祐二, 有馬邦正, 石川 正憲, 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日本語版統合失調症認知機能簡易評価尺度(BACS-J)による検討. 第105回日本精神神経学会学術総会, 2009

G. 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

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

これまで、幻覚剤であるフェンサイクリジン(PCP)が、人や動物において統合失調症に特異的な症状を引き起こすことはよく知られていたが、そのメカニズムには不明な点が多かった。本研究では、培養大脳皮質ニューロンを用いてシナプス関連蛋白質定量や、シナプス機能(神経伝達機能)に重要な神経栄養因子BDNFの動態を詳細に解析した。

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とする。ニューロンの質的変化を生化学的に解析した。

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の発現や機能変化について、シナプスの量的、質的変化に注目して解析を行った。

(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

培養大脳皮質ニューロンにおいて、PCPに投与による顕著なシナプス数の減少が観察された。同時に、細胞外へのBDNFの分泌阻害が生じていた。PCP投与と同時にBDNFを添加すると、シナプス蛋白質の減少や神経機能低下が抑制され、BDNFの分泌阻害は、培養細胞のみならず急性の大脳スライスでも確認できた。

D. 考察

PCPによる大脳皮質ニューロンでのシナプスや機能低下は、BDNFの細胞外放出が阻害された結

果である可能性がある。神経回路が正確に維持された大脳スライスにおいてもPCPによるBDNFの分泌阻害が生じたことから、BDNFの機能増強の観点から病気の予防などに重要と思われる。

E. 結論

幻覚剤であるPCPが誘導するシナプス機能への悪影響は、BDNFの細胞外放出抑制が原因である可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Adachi N, Numakawa T, Kumamaru E, Itami C, Chiba S, Iijima Y, Richards M, Katoh-Semba, R and Kunugi H, Phencyclidine-Induced Decrease of Synaptic Connectivity via Inhibition of BDNF Secretion in Cultured Cortical Neurons. *Cereb Cortex*. 2012, in press.
2. Wakabayashi C, Numakawa T, Ninomiya M, Chiba S, Kunugi H. Behavioral and molecular evidence for psychotropic effects in L-theanine. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012 219:1099-1109.
3. Numakawa T, Yamamoto N, Chiba S, Richards M, Ooshima Y, Kishi S, Hashido K, Adachi N, and

Kunugi H. Growth factors stimulate expression of neuronal and glial miR-132, *Neurosci. Lett*. 505:242-247. 2011

4. Kumamaru E, Numakawa T, Adachi N, Kunugi H. Glucocorticoid suppresses BDNF-stimulated MAPK/ERK pathway via inhibiting interaction of Shp2 with TrkB. *FEBS Lett*. 585:3224-3228, 2011
 5. Numakawa T, Richards M, Adachi N, Kishi S, Kunugi H, and Hashido K. MicroRNA function and neurotrophin BDNF. *Neurochem. Int*. 59:551-558, 2011
 6. Numakawa T, Matsumoto T, Numakawa Y, Richards M, Yamawaki S, and Kunugi H. Protective action of neurotrophic factors and estrogen against oxidative stress-mediated neurodegeneration. *J. Toxicol.*; 2011: 405194. 2011
 7. 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. など。
2. 学会発表
- 沼川忠広, 安達直樹, 功刀浩, Crosstalk between neurotrophin BDNF and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis.

2011年9月27日日本神経化学会・日本生物
学的精神医学会合同シンポジウムなど多
数

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(H21~23年度)

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

目的: Common Disease Common Variant(CD-CV)仮説に則った統合失調症のゲノム解析を実施した。方法: 連鎖解析により有意所見のある 22q13 に位置する bromodomain-containing 1 (BRD1), ホモシステインの代謝系に関わるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR)、海馬依存性学習・記憶に関わり GWAS でも有意所見が得られた Neuropilin and tolloid-like 1(NETO1)を候補遺伝子として、統合失調症あるいはその中間表現型である認知機能との関連を検討した。

結果: BRD1, CRMP2, MTHFR, NETO1 上の common variant と統合失調症との関連は検出されなかった。NETO1 において meta-analysis(JGWAS と今回の sample 間で実施)において、3SNPS において有意が示唆されたので、認知機能である CPT, WCST との関連も調べたが、有意には至らなかった。

考察: CD-CV 仮説に則った関連解析では有意な所見が得られず、今後、統合失調症の missing heritability の解決には Common Disease Rare Variant(CD-RV)も考慮に入れた検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

統合失調症を含む頻度の高い疾患(common disease)は、発症に対する影響が弱い多数の頻度の高い遺伝子変異(common variant)によって発症に至るとする common disease common variant (CD-CV)仮説が提唱されている。CD-CV 仮説に則った統合失調症のゲノム解析を実施した。

その際、候補遺伝子の選択は、統合失調症の病態仮説に則った機能的観点ならびに全ゲノム連鎖解析や全ゲノム関連解析(GWAS)から得られた染色体の位置情報の双方を加味して選択した。

連鎖解析により有意所見のある 22q13 に位置する bromodomain-containing 1 (BRD1), ホモシステインの代謝系に関わるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) さらに我々が実施した GWAS により有意なシグナルが得られかつまた海馬依存性学習・記憶に関わる Neuropilin and tolloid-like 1(NETO1)を候補遺伝子として選択した。

さらに、関連解析に際しては、診断的表現型に加えて、Neto1 欠損マウスで LTP や空間学習・記憶の障害を認めたという報告を加味して、NETO1 は統合失調症の中間表現型である認知機

能 (CPT・WCST) との関連も解析した。

B. 研究方法

1: 対象

全ての被験者は日本人で本州在住である。診断は 2 名以上の精神科医が Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV)に基づいて行った。健常者は非構造化面接を用いて、中枢神経系疾患や精神症状を有する者を除外した。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。

1) *BRD1*

関連研究では 626 名の統合失調症患者、770 名の健常者を対象とした。発現解析では 29 名の統合失調症患者、30 名の健常者を対象とした。

2) *MTHFR*

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型に関しては、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。

3) *NETO1*

575 人の統合失調症患者、564 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型に関しては、関連解析データと、963 人の統合失調症患者、919 人の健常者から成る JGWAS データを用いてメタアナリシスを実施した。メタアナリシスで有意な関連が認められた多型に関しては、107 人の統合失調症患者・104 人の健常者において、認知機能解析を実施した。

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) > 0.05 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、ハプロタイプ解析には UNPHASED software v3.04 を用いた。

3. リンパ芽球様細胞株の樹立とリアルタイム PCR を用いた定量解析

被験者の末梢血からリンパ球を標準的なプロトコールで分離し、20%ウシ胎児血清、ペニシリン、ストレプトマイシンを含んだ RPMI-1460 medium で培養した。その後、Epstein-Barr virus に感染させ、不死化させた。コロニーが形成された後、細胞株は週 3 回継代された。樹立されたリンパ芽球様細胞株から RNeasy Plus Mini kit を用いて total RNA を抽出した。High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits を用いて、total RNA から cDNA を合成した。TaqMan 遺伝子発現アッセイにてリアルタイム定量的 PCR を行った。*BRD1* の相対的な発現量は modified $\Delta\Delta$ cycle threshold method で算出した。Normalization factor は *YWHAZ*, *B2M*, *UBC* の 3 つの遺伝子の幾何平均とした。発現比の 95% 信頼区間を算出するために bootstrapping 法を用いた。

4. 認知機能解析

Continuous Performance Test Identical Pairs Version Release 4.0 (CPT) と Wisconsin Card Sorting Test Keio Version (WCST) を用いた。両者ともコンピュータ版である。

C. 研究結果

1) *BRD1*

11 個の tagging SNP のうち、rs4468 は本研究では多型性を確認できなかったため、その後の解析から除外した。残り 10 個の SNP の関連解析では、アレル頻度、遺伝子型頻度、ハプロタイプ頻度で統合失調症との関連を示すものはなかった。しかし、先行研究で関連が示された rs138880 は本研究でも同様の trend を示した。先行研究と本研究での rs138880 のオッズ比はそれぞれ 1.73、1.14 であった。Fixed model でメタアナリシスを行った結果、