

- 8) Hansson MJ, Mattiasson G, Mansson R, et al (2004) The nonimmunosuppressive cyclosporin analogs NIM811 and UNIL025 display nanomolar potencies on permeability transition in brain-derived mitochondria. *J Bioenerg Biomembr*, 36 : 407-413.
- 9) Herman JP, Adams D, Prewitt C (1995) Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology*, 61 : 180-190.
- 10) 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.
- 11) Kato T, Ishiwata M, Mori K, et al (2003) Mechanisms of altered Ca^{2+} signalling in transformed lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 6 : 379-389.
- 12) Kitraki E, Karandrea D, Kittas C (1999) Long-lasting effects of stress on glucocorticoid receptor gene expression in the rat brain. *Neuroendocrinology*, 69 : 331-338.
- 13) Korde AS, Pettigrew LC, Craddock SD, et al (2007) Protective effects of NIM811 in transient focal cerebral ischemia suggest involvement of the mitochondrial permeability transition. *J Neurotrauma*, 24 : 895-908.
- 14) Kusumi I, Koyama T, Yamashita I (1994) Serotonin-induced platelet intracellular calcium mobilization in depressed patients. *Psychopharmacology*, 113 : 322-327.
- 15) Le-Niculescu H, McFarland MJ, Ogden CA, et al (2008) Phenomic, convergent functional genomic, and biomarker studies in a stress-reactive genetic animal model of bipolar disorder and co-morbid alcoholism. *Am J Med Genet Part B, Neuropsychiatric Genetics*, 147B : 134-166.
- 16) Nakatani N, Hattori E, Ohnishi T, et al (2006) Genome-wide expression analysis detects eight genes with robust alterations specific to bipolar I disorder : relevance to neuronal network perturbation. *Hum Mol Genet*, 15 : 1949-1962.
- 17) Nonaka S, Hough CJ, Chuang DM (1998) Chronic lithium treatment robustly protects neurons in the central nervous system against excitotoxicity by inhibiting N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium influx. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95 : 2642-2647.
- 18) Waldmeier PC, Feldtrauer JJ, Qian T, et al (2002) Inhibition of the mitochondrial permeability transition by the nonimmunosuppressive cyclosporin derivative NIM811. *Mol Pharmacol*, 62 : 22-29.
- 19) Waldmeier PC, Zimmermann K, Qian T, et al (2003) Cyclophilin D as a drug target. *Curr Med Chem*, 10 : 1485-1506.
- 20) 加藤忠史 (2006) ミトコンドリア DNA と双極性障害. *脳と精神の医学*, 17 : 197-205.
- 21) 笠原和起, 加藤忠史 (2008) 双極性障害におけるミトコンドリア機能障害. *脳と精神の医学*, 19 : 107-115.

■ ABSTRACT

Availability of neuron-specific mutant *Polg1* transgenic mice as animal model of bipolar disorder

Mie Kubota, Tadafumi Kato

Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders RIKEN Brain Science Institute

We hypothesized that dysfunction of mitochondria in the brain is involved in the pathophysiology of bipolar disorder (BD). We previously reported that neuron-specific mutant *Polg1* (mitochondria DNA polymerase) transgenic (Tg) mice exhibited BD-like phenotypes and proposed that the Tg mice would be an animal model of bipolar disorder. We examined gene expression profiles in the brains of the Tg mice using DNA microarray analysis and the obtained data were compared with the data in the postmortem brains of patients with bipolar disorder. We found that *PPIF* showed similar changes. *PPIF* encodes cyclophilin D (CypD), a component of the mitochondrial permeability transition pore. A CypD inhibitor, NIM811, significantly improved the abnormal behavior of the Tg mice. These findings suggest that CypD is a promising target for a new drug for BD and our model mouse is useful for the development of new mood stabilizers.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 22 (2) : 109-116, 2011)

特集1 気分障害研究 UP TO DATE

4. 双極性障害におけるミトコンドリアDNAポリメラーゼ遺伝子のまれな点変異の網羅的解析

笠原 和起*, 加藤 忠史*

抄録：双極性障害の発症には大きな遺伝的要因が存在する。しかし、単一の遺伝子変異によって規定される単純な遺伝病とは異なり、複数の遺伝的要因が関与していると考えられる。このようなありふれた複雑疾患について、ありふれた変異が発症に関わっているという仮説と、まれな変異が関わっているという2つの仮説が提案されている。これまで前者の仮説に基づく研究が盛んに行われてきたが、大きな成功は得られていない。DNAシーケンシングの技術の発達とともに、後者の仮説に基づく研究が可能になってきた。我々は、*POLG1* 遺伝子（ミトコンドリアDNA合成酵素をコード）に注目し、変異を検索した。そこで見出した変異の中から、生化学的な解析法や、他の疾患の臨床情報、およびコンピューターの予測プログラムを用いて、疾患の原因になりうる有害な変異を洗い出そうとしている。本稿では、我々のまれな変異に関する研究戦略と現在得られている結果を解説するとともに、本解析の過程で気が付いた重要な問題点を提起したい。

日本生物学的精神医学会誌 22 (2) : 97-102, 2011

Key words : rare variant, bipolar disorder, *POLG1*, dominant mutation

はじめに

我々は、双極性障害の発症にまれな変異 (rare variant) が関わっている可能性を考え、候補遺伝子における変異を検索し、そこで見出した中から、疾患の原因になりうる変異を洗い出そうとしている。これまでに、日本人サンプルを中心に、*POLG1* 遺伝子（ミトコンドリアDNA合成酵素をコード）のすべてのエクソン領域をシーケンシングし、多数のまれな変異を見出した。また、これらのすべての変異について生化学的な活性を測定し、有害な変異 (deleterious variant) を同定した。現在、さらにサンプル数を増やして解析中のため、本稿では、研究の具体的な結果について記述するというよりは、まれな変異に関する解析の過程で気が付いた重要な問題点を提起し、議論する。まずは、双極性障害のような複雑疾患における、ありふれた変異 (common variant) とまれな変異の役割に関する仮説と、我々の研究戦略を概説したい。

1. ありふれた変異とまれな変異

双極性障害を含めた多くの精神疾患には、その程度の差はあれ、その発症に遺伝的な負因が存在する。しかし、メンデル型の遺伝様式を示す単純な遺伝病とは異なり、数多くの変異が複雑に関わっていると考えられている。このような複雑疾患で、かつ、ありふれた疾患の場合、疾患に関与するゲノム変異の有り様として2種類の仮説が提案されている。ひとつが、ありふれた変異 (群) が病気に関わっているという「common disease-common variant (CDCV) 仮説」で、もうひとつが、まれな変異 (群) が病気に関わっているという「common disease-rare variant (CDRV) 仮説」である^{1, 10)}。実験技術の容易さもあり、CDCV仮説に基づく研究がこれまで主に行われてきた。特にここ数年、数千人以上の多数のサンプルを用い、高密度のSNPアレイを利用した全ゲノム関連研究 (GWAS) が報告されるようになり¹⁰⁾、複雑疾患のゲノム研究の一里塚となった。なお、

Comprehensive analysis of rare variants of mitochondrial DNA polymerase gene (*POLG1*) identified in patients with bipolar disorder

*理化学研究所 脳科学総合研究センター 精神疾患動態研究チーム (〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1) Takaoki Kasahara, Tadafumi Kato : Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, RIKEN Brain Science Institute, 2-1, Hirosawa, Wako-Shi, Saitama, 351-0198 Japan

【笠原 和起 E-mail : casa@brain.riken.jp】

「ありふれた」や「まれな」の定義であるが、すなわち、変異を有するアレルの存在頻度 (minor allele frequency : MAF) がどれほどであれば「ありふれた」とするか、厳密な定義はないものの一般的にはおおよそ表1に示したような区分けがされている。

2. CDCV 仮説とそれに基づく結果

CDCV 仮説は、「common disease-common variant-common origin」仮説とも言われてきたように、ありふれた変異は、ヒトがアフリカで誕生して世界各地に広がっていく過程で、ある1人に生じた変異であり、それが人類の間に広がったものである。つまり、ありふれた古い変異は、表現型に現れにくく、選択や淘汰されにくいことを意味している。このようなありふれた変異を対象とする CDCV 仮説では、エフェクトサイズや浸透率 (penetrance) が小さいありふれた変異の集まりによって疾患の発症要因が規定されると想定する。

この CDCV 仮説に基づく研究手法である GWAS では、ヒトゲノム上に点在する数十万個の SNP (ありふれた変異) の遺伝子型を調べ、疾患の発症要因 (保護的な作用の場合もある) と関連しているかどうかを解析する。双極性障害に関しては、数千人オーダーの多数の DNA サンプルを用いた GWAS が6つ報告されている (一部、サンプルの重複がある)。最も再現性があり、また最も P 値が小さい SNP は、*ANKK1* 遺伝子のイントロンに存在していた ($P=9.1 \times 10^{-9}$; オッズ比=1.45)³⁾。この SNP (rs10994336) は、日本人ではありふれた変異であり、日本人の約半数がリスクアレルを持っていると考えられる。GWAS が検出するシグナル (SNP) は、そのものが疾患と関連している場合もあれば、その SNP に近接した (連鎖不平衡にある) 変異が関連

している場合もありえる。rs10994336 周辺をシーケンシングして、重要な変異を見つけようという試みが行われているだろうが、他の疾患では GWAS の結果からその次に進むこの段階でつまづいている場合がほとんどである⁴⁾。

GWAS を行う過程で、まれな変異であるゲノムの微小欠失や重複 (copy number variation : CNV) を検出し、これらのまれな CNV と疾患との関連を調べた研究もある。双極性障害では CNV の寄与は否定的であるが⁵⁾、統合失調症や自閉症では、まれな CNV が発症に高いリスクを付与することが示唆されている。

また最近、通常の GWAS でもまれな変異の寄与を検出できるのではないかと報告されている⁶⁾。つまり、CDRV 仮説も GWAS によって調べることがある程度は可能かもしれない。エフェクトサイズの大きなまれな変異が特定の遺伝子に存在し、このような変異が複数個、サンプルの中に含まれている場合、その近くのありふれた変異がシグナルとして検出できる可能性がある。この現象は合成的な相関 (synthetic association) と呼ばれるが、これまでの GWAS で得られたシグナルのうち、ありふれた変異と疾患との相関に由来する場合 (当初のねらい) がどれぐらいであり、合成的な相関に由来する場合がどれほどなのかは不明である。

3. CDRV 仮説

もう一つの仮説である CDRV に基づく研究では、まれな変異を調べるために、最終的には各サンプルを DNA シーケンシングする必要があるが、時間も研究費もかかる。そのため、候補遺伝子に注目してまれな変異を検索する手法がとられている。しかし、次世代シーケンサーの解析価格が低下したことにより、海外ではすでに、全ゲノムシーケンシングあ

表1 存在頻度による変異の分類

変異の種類	変異の頻度 (MAF)	変異の同定法について
ありふれた変異 (common)	5%以上	SNP チップを用いた現在の WGAS の対象となる
比較的まれな変異 (uncommon, less common)	1~5%	1000ゲノムプロジェクトにおいて調べることが可能
まれな変異 (rare)	1%以下	エフェクトサイズまたは浸透率が大きければ、リシーケンシングによって調べることが可能
プライベート変異 (private)	特定の家系のみ	浸透率が大きければ、連鎖解析や共分離解析によって調べることが可能

(Cirulli ET, Goldstein DB (2010) Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing. Nat Rev Genet, 11 : 415-425.) より引用・改変)

るいは全エクソン（エクソーム）シーケンシングによってまれな変異の解析が進められている。

まれな変異を GWAS と同様な解析法で検出しようとするなら（例えば、 $MAF < 0.1\%$ 、 P 値 $< 5 \times 10^{-8}$ 、検出力 = 80%）、患者群、コントロール群各 10,000 人の大量のサンプルを用いても、オッズ比が 4.5 以上の変異しか見つからない。つまり、まれな変異の解析では、非常に影響力が強い変異が存在することを期待して、それを同定しようと努力することになる。数百人ほどのサンプル数における候補遺伝子の解析では、エフェクトサイズがさらに大きな原因変異を探していることになる。

4. 双極性障害におけるまれな変異の解析

双極性障害において、CDRV 仮説に基づいてまれな変異を検索した研究としては、G72 (DAOA) (BP 555 人、コントロール 564 人)⁹⁾、プリン受容体 (P2RX7) (BPI 687 人、MD 1,036 人、コントロール 1,204 人)⁴⁾、アリアルアルキルアミン *N*-アセチル基転移酵素 (AANAT) (BP 188 人、MD 257 人、コントロール 440 人)¹³⁾、インスリン様成長因子 1 (IGF1) (BP 506 人、コントロール 510 人)¹²⁾ などがある。我々は現在、15 番染色体長腕 q26 に存在する候補遺伝子 *POLG1* 遺伝子の変異を調べている。*POLG1* は 23 個のエクソンからなり、ミトコンドリア DNA (mtDNA) 合成酵素の触媒サブユニット (1,239 アミノ酸残基) をコードしている。我々は、双極性障害のミトコンドリア機能障害仮説を提唱し、その実証を行ってきたが（詳細は本誌の総説^{6, 8)}を参照していただきたい）、その仮説を支持する証拠の一つが、メンデル型遺伝性のミトコンドリア病である慢性進行性外眼筋麻痺 (chronic progressive external ophthalmoplegia : CPEO) の患者において気分障害が高頻度で見られることがある。これまでに、CPEO 患者における精神症状を包括的に調べた

研究はないが、気分障害を併発する CPEO 患者がいる家系が少なくとも 8 例報告されている⁷⁾。DSM にもとづいた診断が行われているのは 1 家系だけだが、その家系では、CPEO 罹患者 4 名全員が CPEO 発症以前に双極性障害と診断されている。

CPEO の原因遺伝子として、これまでに 5 つの遺伝子が同定されており¹¹⁾、いずれも mtDNA の合成や維持にかかわるタンパク質をコードしている。理由は不明であるが、この 5 遺伝子のうち、もっとも頻繁に変異が見つかる遺伝子が *POLG1* である。*POLG1* 変異による CPEO 患者は、単一遺伝子変異による優性遺伝の場合もあるが、多くの場合、まれな変異を 2 つ持つ複合ヘテロ接合体 (compound heterozygote) である。また、*POLG1* の変異は、CPEO とは異なる臨床症状のいくつかの疾患の原因にもなっており、これまでに、100 以上の *POLG1* の点変異が CPEO やその他の疾患に関連すると報告されている¹⁴⁾。このように、*POLG1* は、まれな変異に関して、これまでに非常によく研究されてきている遺伝子であるといえよう。さらに、*Polg1* 変異を持つトランスジェニックマウスが双極性障害に類似した行動異常を示すことを我々は明らかにしており⁷⁾、これらを考え合わせ、双極性障害においてまれな変異を調べる際の第一のターゲットとして *POLG1* が適していると推測した。

5. *POLG1* のまれな変異解析の実際

患者 466 人、コントロール 508 人の DNA サンプルから、*POLG1* のすべてのエクソンを PCR で増幅し、サンガー法でシーケンシングした。多数の点変異が見つかり、アミノ酸配列を変える変異 (非同義置換: nonsynonymous substitution) は、21 個含まれていた (表 2)。その中のほとんどは、それぞれ 1 人からしか見つからなかった。患者群とコントロール群で、非同義置換の変異の頻度に違いは無かった。

表 2 *POLG1* 遺伝子のまれな変異の解析結果

変異の種類	同定した変異の数	変異を有する人の数	
		患者群 ^{a)}	コントロール群 ^{b)}
非同義置換変異	21	18	19
予測プログラムで有害とされた変異 ^{c)}	8 ^{d)}	12 ^{d)}	2 ^{d)}
生化学的に有害とされた変異	7	13	9
CPEO 患者で見つかった変異	1	2	0

a) 双極性障害患者群 466 人中 (双極 I 型 343 人、双極 II 型 119 人、統合失調感情障害、双極型 4 人)

b) コントロール群 508 人中

c) 予測プログラムには PolyPhen を用いた

d) ナンセンス変異 (終止コドン変異) は PolyPhen では解析できないが、有害と推測されるため、その変異を集計に加えた

また、すべてのまれな変異は、ヘテロ接合の状態で見つかった。

まれな変異の研究では、ありふれた変異の研究とは異なり、同定したまれな変異そのものが疾患（の発症）に関わることを想定する。そのため、アミノ酸配列を変えない変異（同義置換）より、非同義置換の方が興味深い。さらに、非同義置換の中でも、POLG1の酵素活性や安定性に影響を与える有害な変異を洗い出したい。このスクリーニングの方法には、大きく分けて3種類あるだろう。①生化学的な手法で調べる方法 (*in vitro*)、②同じ変異を持つ動物モデルや患者を調べる方法 (*in vivo*)、そして③コンピューターの予測プログラムを用いて調べる方法 (*in silico*) である。実施の容易さは③>①>②であるが、③予測プログラムから得られるデータの確度はその中では低いと考えられる。

我々はまず、コンピュータープログラムによる予測を行ってみた。いくつもの予測プログラムがこれまでに発表されているが、その中で、最古参の一つであり、またweb上のサービスとして使用できるPolyPhen¹⁵⁾を用いた。その結果、8個の変異が「probably damaging」と予測された。それらの多くが患者群で見つかった変異で、統計学的に有意に患者に多かった ($P=0.005$; Fisher's exact probability test) (表2)。

そこで、生化学的な手法を用いて変異体の酵素活性を調べ、疾患との関連を検討した。同定したすべての非同義置換変異について、変異体のタンパク質を培養細胞で発現させて抽出・精製し、POLG1の酵素活性を測定した。具体的には、POLG1は、DNA合成活性と、合成の際に誤った塩基を取り込んだときにそれを削り出すエクソヌクレアーゼ活性を持っているので、その両活性をすべてのPOLG1変異体について解析した。どちらかの活性をほとんど失わせる変異を有害とした。また、培養細胞で発現させたときに、ほとんど発現しない変異体も複数あり、これらも有害な変異と見なした。合計で7個の有害な変異が生化学的な解析から同定できたが、それらが患者群で有意に多く見られるわけではなかった (表2)。

また、見出したまれな変異の中に、すでにCPEO患者で見ついている変異がないか調べたところ、1つの変異が見つかった。この変異は、上記の生化学的な解析では、発現しにくかった。この変異を有する人は、CPEO患者で2人、Alpers病 (mtDNA減少による全身性の疾患で進行性脳灰白質ジストロフィーや肝障害を伴う) の患者で1人これまでに報

告されているが、いずれもPOLG1の複合ヘテロ接合体で、精神症状に関する報告はない。今回の変異は双極性障害の2患者から見つかったが、コントロール群からは見つからなかった (表2)。

6. ドミナント変異

生化学的な解析方法とコンピューターの予測プログラムは、それぞれの変異が有害かどうかを調べる。言い換えれば、変異がホモ接合体の状態のときに有害かどうかを調べることを意味している。一方、上述したように、今回、すべてのまれな変異はヘテロ接合の状態で見つかった。ヘテロ接合性の変異が疾患の発症に大きくかかわるには、優性遺伝の変異と同様の影響力を持つ必要がある。このような変異をドミナント変異 (dominant variant) といい、大きく分けて3つのパターンがある (表3)。生化学的な解析において、変異タンパク質と正常なタンパク質を等量混合して酵素活性を測れば、ドミナント変異であるかどうかをある程度はスクリーニングすることができるのではないかと考えた。実際に調べてみると (ただし、発現しにくい変異について実験できなかったが)、等量の正常POLG1の共存によってすべての変異体の活性が補償され、ドミナント変異は見つからなかった。

7. まれな変異の研究の未来

今回我々は、双極性障害の発症にPOLG1遺伝子のまれな有害変異が関わっているかどうかを調べたが、統計学的には有意な関連を見出せなかった。現在、サンプル数をさらに増やして解析中であるが、気が付いた重要な点を最後に整理したい。一つは、まれな変異は多くの場合、ヘテロ接合性状態で見つかるため、その条件下で有害かどうか (ドミナント変異であるかどうか) を見極めることが肝要である。もう一つ、コンピューターの予測プログラムの結果は、生化学的解析の結果と大きな違いがあった。この点は、今後、まれな変異の研究が、多数のサンプルを用いて全ゲノムシーケンシングを行うようになった場合、問題になるだろう。膨大な数の変異が同定されるようになったとき、それらの変異が有害かどうかをスクリーニングする現実的な方法は予測プログラムのみである。予測プログラムのさらなる改良が望まれる。その際に、ドミナント変異であるかどうかも予測できるようになるとすばらしいが、容易なことではないだろう。

表3 ドミナント変異の分類

変異の種類	特性	変異の例
Haplo-insufficient 変異	正常なアリルが1コピーでは量的に不十分な遺伝子の機能喪失変異	酵素をコードしている遺伝子ではこの種の変異は珍しく、細胞骨格や接着に関わる遺伝子や転写因子の遺伝子で見つかることが多い。ヘテロノックアウトマウスで表現型が見られる遺伝子も haplo-insufficient であると言える。
Gain-of-function 変異 (neomorph 変異)	本来の機能とは異なる機能を付与する変異	最も研究されているのは、がん原遺伝子の変異だろう。受容体やキナーゼの遺伝子に見られる恒常的活性型の変異や、タンパク質の安定性を変える変異。プロモーター領域の変異では、発現量や発現する組織や時期を変えたりする場合もある。
Dominant negative-like 効果を持つ変異	正常なアリルからの遺伝子産物の機能までも抑制してしまう変異	多量体を形成するタンパク質をコードする遺伝子で見つかる場合が多い。最も有名な変異は、アジア人でのみ見られるアセトアルデヒド脱水素酵素 (ALDH2) の E504K 変異だろう。四量体で機能するため、ヘテロ接合体でも活性は正常ホモの 1/16 しかない。

まれな変異の研究は、エフェクトサイズが大きなまれな変異を前提としているが、双極性障害においてはそのような変異は存在しないことも覚悟しなくてはいけないかもしれない。エフェクトサイズが小さいまれな変異となると、現在の技術とサンプルサイズではお手上げである。エフェクトサイズが大きな変異を探すことは、メンデル型の遺伝様式を示す家系を探すこととほとんど同じである。ただし、かつて歩んだ道、すなわち1980年代に行われた連鎖解析に立ち戻るわけではない。全ゲノムやエクソームのシーケンシングによって家系内の罹患者たちが共有する変異をつまびらかにでき、生化学的手法や予測プログラムによって変異の特徴付けができる。この情報と、家系内で変異と疾患が共分離 (co-segregation) するかという遺伝学的な情報を組み合わせれば、浸透率が完全でなくても疾患に関与する変異を同定できる可能性は強まる。まれな変異の研究が注目されるようになった今日、被験者のサンプリングの重要性がより高まっている。

文 献

- 1) Cirulli ET, Goldstein DB (2010) Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing. *Nat Rev Genet*, 11 : 415-425.
- 2) Dickson SP, Wang K, Krantz I, et al (2010) Rare variants create synthetic genome-wide associations. *PLoS Biol*, 8 : e1000294.
- 3) Ferreira MA, O'Donovan MC, Meng YA, et al (2008) Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet*, 40 : 1056-1058.
- 4) Green EK, Grozeva D, Raybould R, et al (2009) P2RX7 : A bipolar and unipolar disorder candidate susceptibility gene? *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B : 1063-1069.
- 5) Grozeva D, Kirov G, Ivanov D, et al (2010) Rare copy number variants : a point of rarity in genetic risk for bipolar disorder and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 67 : 318-327.
- 6) 笠原和起, 加藤忠史 (2008) ミトコンドリアDNAと双極性障害. *脳と精神の医学*, 19 : 107-115.
- 7) Kasahara T, Kubota M, Miyauchi T, et al (2006) Mice with neuron-specific accumulation of mitochondrial DNA mutations show mood disorder-like phenotypes. *Mol Psychiatry*, 11 : 577-593.
- 8) 加藤忠史 (2006) ミトコンドリアDNAと双極性障害. *脳と精神の医学*, 17 : 197-205.
- 9) Maheshwari M, Shi J, Badner JA, et al (2009) Common and rare variants of DAOA in bipolar disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 150B : 960-966.
- 10) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 461 : 747-753.
- 11) MIM ID #157640 [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/157640>]
- 12) Pereira AC, McQuillin A, Puri V, et al (2011) Genetic association and sequencing of the insulin-like growth factor 1 gene in bipolar affective disorder.

- der. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 156 : 177-187.
- 13) Soria V, Martínez-Amorós E, Escaramís G, et al (2010) Resequencing and association analysis of arylalkylamine *N*-acetyltransferase (*AANAT*) gene and its contribution to major depression susceptibility. *J Pineal Res*, 49 : 35-44.
- 14) Stumpf JD, Copeland WC (2011) Mitochondrial DNA replication and disease : insights from DNA polymerase γ mutations. *Cell Mol Life Sci*, 68 : 219-233. [<http://tools.niehs.nih.gov/polg/>]
- 15) Sunyaev S, Ramensky V, Koch I, et al (2001) Prediction of deleterious human alleles. *Hum Mol Genet*, 10 : 591-597. [<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>]
- 16) Wellcome Trust Case Control Consortium (2007) Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447 : 661-678.

■ ABSTRACT

Comprehensive analysis of rare variants of mitochondrial DNA polymerase gene (*POLG1*) identified in patients with bipolar disorder

Takaoki Kasahara, Tadafumi Kato

Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, RIKEN Brain Science Institute

The role of genetic factors in bipolar disorder has been established. Recently, genome-wide association studies, relying on the common disease-common variant hypothesis, showed the association of several SNPs with bipolar disorder but the P-values and odds ratios were very low. With the development of DNA sequencing technology, an alternative hypothesis, common disease-rare variant hypothesis, becomes testable. We focused on the *POLG1* gene and searched for rare variants in 505 patients with bipolar disorder and 550 controls obtained from multi-center collaborative study in Japan. *POLG1* encodes mitochondrial DNA polymerase and is one of causative genes for chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO), which is a mitochondrial disease and occasionally accompanied by mood disorders. We identified dozens of non-synonymous variants of *POLG1*. We are now screening them for deleterious variants by using several methods : biochemical experiments (*in vitro*), referring to clinical data of CPEO patients with *POLG1* variants (*in vivo*), and computer prediction tools (*in silico*). In this article, we also discuss important issues with rare variant studies, which were noticed in the course of our study.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 22 (2) : 97-102, 2011)



気分障害の生物学的研究の最新動向—DSM, ICD 改訂に向けて*

気分障害の分子神経生物学**

加藤忠史¹⁾

Key words

Mood disorder, Depression, Bipolar disorder, Molecular neurobiology

はじめに

国民の社会生活障害の大きな要因となっているうつ病の患者数は、近年急速に増加し、社会問題となっている。抗うつ薬によく反応するメランコリー型に加え、抗うつ薬により悪化する双極スペクトラム、抗うつ薬が奏効しにくく心理療法も重要となる非定型うつ病、難治化しやすい血管性うつ病など、治療抵抗性のうつ病が増加し、うつ病診療は混沌とした状況にある。一方、抗うつ薬により、攻撃性、衝動性が高まる、「賦活症候群」が引き起こされるのではないかと懸念が繰り返し報道され、一部には精神医療パッシング的な動きさえ見受けられる。抗うつ薬による悪化を防ぐためには、双極性障害における初発の大うつ病エピソードを、その生物学的基盤に基づいて診断できるようにすることが必要であるが、面接による現在の診断法には限界があり、今後、分子神経生物学的な病態に基づいて、気分障害の疾患概念

と亜型分類を確立し、生物学的な診断分類に基づいて治療を最適化する必要がある。

気分障害の分類

気分障害には、大うつ病および双極性障害の他、気分変調症、気分循環性障害、一般身体疾患による気分障害、物質誘発性気分障害などがある。一般身体疾患による気分障害としては、神経疾患によるもの、内分泌疾患によるものが多い。物質誘発性気分障害は、治療薬で起きる場合と、依存性薬物による場合がある。

うつ病

1. うつ病の類型

うつ病の発症に関与する危険因子としては、遺伝、養育、ライフイベントや社会的環境などによるストレス、加齢、身体因、薬剤、性別など、多くの要因がある。これらの危険因子の関与の程度は、うつ病の亜型によっても異なる。大うつ病の分類法は確立していないが、代表的な類型としては、以下のようなものが考えられよう。

①メランコリー型うつ病(内因性うつ病)

②非定型うつ病

③季節性うつ病

④血管性うつ病

⑤双極スペクトラムうつ病

メランコリー型うつ病では、伝統的に、執着性

2010年4月14日受稿, 2010年9月17日受理

* 第38回精神研シンポジウム(2009年12月より)

** Molecular Neurobiology of Mood Disorders

1) 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム(☎351-0198 和光市広沢2-1), KATO Tadafumi: Laboratory for Molecular Dynamics of Mental Disorders, RIKEN Brain Science Institute, Wakou, Japan

0488-1281/11/¥500/論文/JCOPY

格あるいはメランコリー親和型性格、状況因と呼ばれる、性格特異的に作用するストレスが重視されてきた。メランコリー型は、抗うつ薬療法、特に三環系抗うつ薬の有効性を示唆する指標といえる。

非定型うつ病は、昨今増加しており、特に問題となっている。この診断が増加した背景には、DSMが採用している併発症 (comorbidity) の考え方によって、不安障害やパーソナリティ障害を基盤として大うつ病エピソードを発症した場合でも、大うつ病性障害という診断名が併記されるようになったことが挙げられる。通常、医学では、多彩な症状を呈する患者に遭遇した場合、すべて説明できる診断を検討しようとするわけであるが、DSMは、疾患概念自体を洗練させていく研究にも用いることが意図されていたため、このような形となった。非定型の特徴は、元々モノアミン酸化酵素阻害薬に反応する患者の特徴として抽出されたが、逆にいえば、三環系抗うつ薬に反応しにくい群であるといえる。

季節性うつ病は、高緯度地方に多く、冬季の過眠・過食を伴う非定型なうつ状態を特徴とする。ケースによっては、春に軽躁状態を伴い、双極Ⅱ型障害、季節型と診断される場合もある。光療法が有効である。進化的には、氷河期への人類の適応の結果などと解釈されている。

血管性うつ病は、DSM-IVにも、DSM-5ドラフトにもないが、潜在性脳梗塞を伴う高齢者のうつ病である。高齢発症のうつ病患者では、多くで潜在性脳梗塞がみられるが、このような場合、抗うつ薬の効果が乏しく、大うつ病の回復が遅く、軽度の認知障害や意欲低下といった症状を一部残す場合があるなど、予後に特徴がある。

双極スペクトラムうつ病は、大うつ病と診断されている患者の一部は、潜在的な双極性障害である、という考えに基づく。実際、大うつ病と診断された後、長期経過の中で、躁状態ないし軽躁状態を呈し、双極性障害へと診断が変更されるケースは少なくない。双極性障害の家族歴、抗うつ薬誘発性の躁・軽躁状態、若年 (25歳未満) 発症、

精神病症状 (妄想や幻覚) などが双極スペクトラムの指標として挙げられている。

2. うつ病の病型と危険因子

メランコリー型の危険因子としては、性格 (およびその基盤となる遺伝要因、および養育要因) およびライフイベントが重要である。

非定型うつ病の危険因子としては、虐待などの不適切な養育が重要と考えられる。

季節性うつ病では、季節および日照時間が最大の要因である。

血管性うつ病には、脳血管系の危険因子が関係すると推測される。

双極性障害の主要な危険因子は、遺伝子である。

このように、気分障害は多様な危険因子の組み合わせによって発症するため、気分障害の分子神経生物学的研究は、さまざまな角度から進めていく必要がある。

うつ病が単一の「疾患」でないことは明らかであり、今後、気分障害研究を発展させ、生物学的な基盤のある気分障害の分類に基づいた科学的な診療を実現するためには、気分障害の下位分類を視野に入れた生物学的研究を進める必要がある。

3. ストレス

うつ病は、ストレスフルなライフイベントを誘因として発症することが多い。ストレスという言葉は、本来、ストレッサーに対する生体の適応的な反応のことをいうが、ストレッサーのことをストレスということも多い。ストレスの生体に対する影響は、ストレス脆弱性 (あるいは回復力 [レジリエンス]) とストレッサー (ストレス) の相互作用により決定される。性格とストレスの相互作用や、ストレスが脳に与える影響などについて、盛んに研究が行われている。

ストレス反応には、交感神経系の緊張という早い反応と、少し遅れて生じる視床下部-下垂体-副腎皮質 (HPA) 系の反応がある。前者はストレッサーに対する警告反応、後者はストレスに対する適応反応を反映すると考えると、理解しやすい。これら2つのストレス反応系は、相互作用しな

がらストレス反応に関与する。

交感神経の緊張は、闘争・逃走と呼ばれるような、二律背反的な行動の選択を促すような生理学的な変化(頻脈, 頻呼吸, 瞳孔開大など)と情動の変化を伴う。

一方, HPA系の反応は, 視床下部からのCRH放出, CRHによる下垂体からのACTH分泌, ACTHによる副腎皮質からのコルチゾール(齧歯類ではコルチコステロン)放出という, 一連の反応である。このように, ストレス反応の起点は視床下部より放出されるCRHであり, CRHアゴニストがストレス関連行動を促進し, CRH阻害薬がストレス関連行動を抑制することなどからも, CRHのストレス反応に果たす役割は明らかである。

コルチゾールは, グルココルチコイド受容体を介して最終的にこの系を抑制する。うつ病患者は, このネガティブフィードバック機構を調べる検査である, デキサメサゾン抑制試験で, 非抑制のパターンを示すことが1968年に報告された⁴⁾。その後, この所見は多くの研究により確認されている。当初より, 「内因性うつ病」のみで非抑制パターンを示すと報告されており⁴⁴⁾, 非定型うつ病では, メランコリー型と逆に過抑制がみられる場合もある。

最近では, より感度の高いデキサメサゾン-CRHテストが用いられている¹⁹⁾。

合成副腎皮質ホルモン剤であるデキサメサゾンによるネガティブフィードバックの障害は, おそらくグルココルチコイド受容体(GR)の機能低下によると考えられている。そして, GR機能低下の要因としては, 養育歴と遺伝要因などが考えられる。

4. ストレスと神経細胞の形態学的変化

ラットに拘束ストレスを21日間与えると, 海馬CA3の錐体細胞の近位樹状突起の萎縮が生じた⁵³⁾。また, 3週間の拘束ストレスにより, 前頭前野の樹状突起スパインが減少することが示されている⁴¹⁾。一方, 扁桃体では, 慢性拘束ストレスで, 逆にスパイン密度が増加すると報告されてお

り³⁶⁾, 部位によっても異なる可能性がある。

成体の脳でも, 海馬歯状回, 脳室下帯, 嗅球では新たな神経細胞が新生されており, 海馬における神経新生はヒト死後脳でも確認されている⁹⁾。神経新生は, 心理社会的ストレスにより抑制され¹³⁾, 抗うつ薬により神経新生が増加することが判明した。

これらの研究を契機として, ストレスが神経細胞の形態学的変化を引き起こすことが, 多くの研究により示されてきた。

5. うつ病患者死後脳における検討

うつ病患者死後脳におけるKi-67免疫組織化学により神経幹細胞を調べたところ, 海馬の神経新生に差はみられなかった⁴²⁾。その後, 神経新生の低下は, PTSD(post-traumatic stress disorder)様行動に関係していることや, 神経新生を阻害すると恐怖記憶が持続することから, 神経新生が恐怖記憶の消去に関与する可能性が示唆されたこと²⁶⁾などから, 神経新生の低下は, ストレスに対するPTSD的な反応に関係しており, 抗うつ薬の神経新生に対する効果⁴⁶⁾は, 抗うつ作用よりも抗不安作用に関係している可能性も考えられる。

うつ病患者と対照群の死後脳で, 海馬におけるアポトーシスを検討した研究^{30, 37)}では, 顕著なアポトーシスはみられず, CA4および歯状回に, わずかなアポトーシスを示唆する所見が, うつ病患者で有意に多くみられたという。ただし, 歯状回におけるアポトーシスは, 神経新生と同様に通常でも起きており, 慢性ストレスではむしろ抑制される¹⁸⁾。

うつ病患者で神経突起の形態を詳細に調べた研究はいまだ報告されていない。

このように, 動物実験で示唆された所見は, 必ずしも死後脳研究では支持されていないが, これはうつ病の多様性にもよるかもしれない, より詳細な検討が必要であろう。

6. 養育

小児期の虐待, 無視がうつ病のリスクを高めることは, 大規模なコホート研究で確認されてい

る⁵⁵⁾。養育の問題は、うつ病に限らず、不安障害やパーソナリティ障害の危険因子でもある。

母仔分離によって、不安、社会行動の異常などの行動変化が生じることは、サルや齧歯類の実験から明らかにされている。母仔分離下で育ったラットでは、海馬の神経新生が障害されるとの報告もある³⁵⁾。また、養育の影響によって、海馬グルココルチコイド受容体の発現量が変化し、HPA 系のフィードバック機能が変化することが見出されている³⁴⁾。

そのメカニズムとして、GR 遺伝子の DNA メチル化変化が関与するとの報告もあったが⁵⁴⁾、その後の研究では、母仔分離によるこうした変化はみられていない⁵⁾。また、虐待歴のある自殺者で、GR のメチル化が亢進していた、との報告もあるが、ラットで養育低下に伴うメチル化亢進がみられた GR プロモーターの NGFI-A 結合部位にはメチル化がみられず、上流の別の CpG サイトに差がみられたという報告であり、結果が一致しているとはいえない³³⁾。

7. 抗うつ薬の作用機序

最初の抗うつ薬は、1950 年代に偶然から見出された。抗結核薬 iproniazide (INH) で治療された結核患者が気分高揚を示すことに気づかれ、INH がモノアミン酸化酵素 (MAO) 阻害作用を持つことから、MAO 阻害薬が抗うつ薬として用いられるようになった。

一方、統合失調症の治療薬として開発された imipramine が、うつ状態に奏効することが見出され、この種の化合物が抗うつ薬 (三環系抗うつ薬) として用いられるようになった。

MAO 阻害薬は、セロトニン、ノルアドレナリン、ドーパミンの分解に関与する。Imipramine はノルアドレナリントランスポーターおよびセロトニントランスポーターの阻害作用を持ち、ノルアドレナリントランスポーターは前頭葉ではドーパミンの取り込みも行っている。そのため、両者の薬は、いずれもこれら 3 つのモノアミンを増加させる。

モノアミン神経系は、脳幹部に細胞体を持ち、

大脳皮質、辺縁系などに幅広く投射していることから、気分や意欲などの感情に関係する神経系であると考えられ、モノアミン神経伝達の低下がうつ病を引き起こすというモノアミン仮説が提唱された。

しかし、抗うつ薬投与後数時間で脳内のモノアミンは増えるのに、効果発現に 1~2 週間かかり、完治には数か月を要することは、モノアミン仮説では説明ができない。

その後、多くの抗うつ薬が、投与 3 週間後に BDNF (brain-derived neurotrophic factor) を増加させる効果が見出され³⁸⁾、抗うつ薬は、モノアミン神経伝達の促進および BDNF の上昇を介して、前述のような神経細胞の形態学的変化を改善させると考えられるようになった。

8. 遺伝子

うつ病では、遺伝要因によって説明できる部分は 3~4 割と考えられており、双極性障害に比べると遺伝子の関与は大きくない。

ゲノムワイド関連研究では、ゲノムワイドで有意な所見は得られていない⁴⁸⁾。

一時は、セロトニントランスポーター多型とストレスあるいは養育との相互作用が報告され、大変注目されたが、その後のメタ解析でこの関連はほぼ否定された⁴³⁾。

9. 潜在性脳梗塞

老年発症のうつ病患者では、潜在性脳梗塞を持つ者が多いことから¹²⁾、血管性うつ病 (vascular depression) の概念が提唱された^{1, 28)}。血管性うつ病は、寛解率が低く、残遺症状がみられ、抗うつ薬は副作用が出やすいなど、臨床的に治療が困難な一群である。

以前は、梗塞部位の左右差とうつ病の関係が強調されたが⁵⁰⁾、否定的な報告も多い³⁹⁾。また、コホート研究の結果では、うつ症状が脳梗塞の危険因子となることが判明しており、逆の関係である可能性もある⁴⁵⁾。

うつ病は、虚血性心疾患や癌による死亡率を上昇させることも知られており²⁹⁾、これにはさまざまなメカニズムが考えられる。

10. 脳画像

うつ病患者における脳形態画像では、脳梗塞や皮質下高信号領域が多いことや、海馬、大脳基底核、前頭前野などの体積低下が報告されている²³⁾。一方、MRIによる扁桃体体積のメタ解析では、抗うつ薬服用群では体積増加、未服薬群では体積減少がみられた¹⁵⁾。このように、うつ病に関する脳機能画像研究は膨大であるが、測定法、測定条件、対象患者群など、さまざまな要素が関与するため、その結果の解釈にも注意を要する。

脳機能画像研究では、安静時の前頭前野背外側部(DLPFC)の血流・代謝の低下などが報告されている。また、前頭葉賦活課題を用いた測定では、逆に血流増加を指摘するものもあり、これは、同じ課題を行うためには、うつ状態ではより努力を要することを反映しているかもしれない⁶⁾。

また、情動関連課題では、恐怖表情を見たときの扁桃体の血流増加が強いと報告されている⁴⁷⁾。

PETでは、視床におけるセロトニントランスポーター結合能増加などが報告されている⁴⁰⁾。

11. 認知パターン

認知療法では、うつ病に特徴的な認知パターンとして、「すべてが無か思考」や「過剰な一般化」が指摘されているが、こうした認知パターンは、外界の事物に対して、生物学的評価を行い、闘争-逃走という両極端な行動のいずれかを選択する機能である、情動の特徴といえる。うつ病では、皮質を介した認知の経路よりも、扁桃体を介した情動による情報処理が優勢になっていると考えられる。

ストレスは、前頭葉や海馬では神経細胞の萎縮やスパインの減少を引き起こす一方、扁桃体ではスパインの増加を引き起こすことを考え合わせると、ストレスによって、扁桃体を介した神経回路が優勢となることから、うつ病の病態の一部をなしていると考えられることもできよう²³⁾。

とはいえ、前述のMRIによる扁桃体の体積に関するデータは、むしろうつ病で体積が減少しており、抗うつ薬で体積が増加すると報告されてお

り¹⁵⁾、動物実験の分子・細胞レベルの研究とヒトにおける脳画像研究の間には、まだ大きなギャップがあり、統合的な理解のためには、情報不足と言わざるを得ない。

双極性障害

1. 臨床

双極性障害は、躁状態または軽躁状態とうつ状態を繰り返し、大きな社会生活の障害を来す疾患である。躁状態を伴う双極I型障害と、入院が不要な程度の軽躁状態のみを呈する双極II型障害とに分けられる。

治療には、リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリギンなどの気分安定薬や、オランザピン、クエチアピンなどの非定型抗精神病薬が用いられる。

2. 生物学的研究

双極性障害に遺伝子が関与することは、双生児研究などから明らかである。連鎖解析、候補遺伝子の関連解析では、一定の結果が得られなかったが、最近のゲノムワイド関連研究で、ANK3およびCACNA1Cとの関連が確認された¹⁰⁾。CACNA1CはL型電位依存性カルシウムチャネルのサブユニットを、ANK3はイオンチャネルを細胞骨格につなぎ止める蛋白をコードしている。

脳画像研究では、脳室拡大、皮質下高信号²⁵⁾、および前部帯状回と島(insular)の体積減少⁸⁾などが比較的一致した所見であるが、リチウムが灰白質体積を増加させることが結果の解釈を困難にしている。

fMRIでは、さまざまな認知課題や情動課題に対する賦活の異常が、前頭葉、皮質下、およびいわゆる辺縁系などで報告されている。しかし、双極性障害では精神状態が多彩であり、認知、情動面のさまざまな課題が用いられていることもあって、これらの所見から双極性障害の病態を統一的にとらえることは困難である²³⁾。

一方、磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)による研究では、³¹P-MRSによるクレアチンリン酸の低下、細胞内pHの低下、¹H-MRSによる乳酸

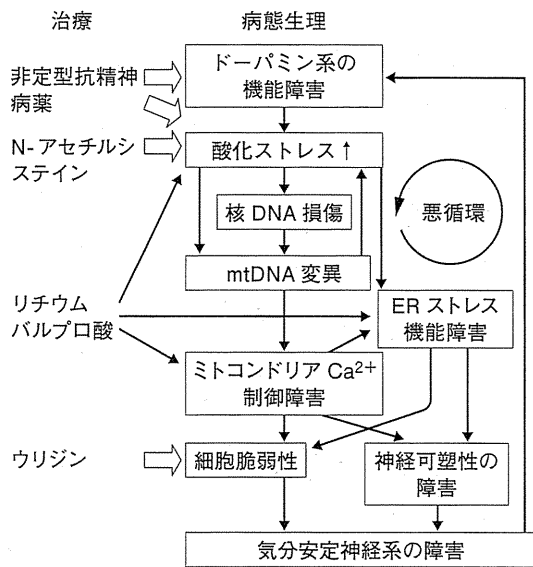


図 双極性障害の病態仮説
文献²⁴⁾より。一部改変。

の上昇など、ミトコンドリア機能障害を示唆する所見が報告されている⁵⁶⁾。

血液細胞における研究では、細胞内カルシウム濃度の上昇がよく一致した所見である⁵²⁾。生検嗅上皮を用いた研究でも、カルシウム反応の低下¹⁴⁾、細胞死の増加³²⁾が報告されている。

培養リンパ芽球の遺伝子発現解析で小胞体ストレス系²¹⁾の変化が示唆され、患者では小胞体ストレスによる *XBPI* 誘導が低下していた^{17,49)}。*XBPI* は、BDNF 刺激による蛋白合成促進に伴って誘導され、*XBPI* ノックアウトマウス由来ニューロンでは、BDNF による神経突起伸展が障害される¹⁶⁾。

死後脳における網羅的遺伝子発現解析では、ミトコンドリア関連遺伝子の発現低下が報告されている²⁷⁾。しかし、これには、服薬や死戦期の変化に伴う脳サンプル pH の低下も関与しているため、解釈には注意が必要である^{20,51)}。

海馬 CA2/3 あるいは CA1 から、錐体細胞層と介在ニューロン層をダイセクションした研究では、*GAD67* の低下などがみられた²⁾。

スタンレー脳バンクのサンプルを用いて行われ

た網羅的遺伝子発現解析の 12 セットのデータのメタ解析では⁷⁾、共通な遺伝子発現変化は見出されていないが、前述の通り、死後脳の遺伝子発現は pH により大きく影響されるため、さらなる検討が必要である。

死後脳における形態学的検討では、脳内各部位における神経細胞数やグリア細胞数の変化などの定量的な差異が報告されている²²⁾。

3. 薬理学的研究

双極性障害の主要な治療薬であるリチウムは、単純なアルカリ金属イオンであるため、多彩な薬理作用を持ち、どの作用が双極性障害において重要なのかを知ることが難しい。

イオン半径の似ているマグネシウムイオンに拮抗すると考えられるが¹¹⁾、マグネシウムを要求する蛋白質は多く、その標的が問題である。

分子レベルでは、イノシトール枯渇作用、GSK-3 β 阻害作用、BDNF 増加作用、Bcl-2 増加作用などが、リチウムとバルプロ酸に共通であると報告されており、細胞レベルでは、神経新生の促進、神経細胞保護作用、成長円錐の拡大作用などがある。このように、気分安定薬は、分子レベルではさまざまな作用を持つが、総体として、神経細胞保護作用、神経可塑的变化の促進作用を持つと考えられる³¹⁾。

ドーパミン D2 受容体阻害作用を持つ抗精神病薬が躁状態に有効なこと、メタンフェタミンやコカインなどのドーパミンを増加させる精神刺激薬が躁状態を引き起こすことなどから、躁状態においてはドーパミン系が亢進していると考えられ、躁状態、うつ状態に伴って、ドーパミンが増減している可能性が考えられる³⁾。

4. 双極性障害の病態理解

双極性障害でみられる、カルシウムチャネル遺伝子との関連、皮質下高信号領域の増加、血液細胞におけるカルシウム濃度の上昇、MRS でみられたミトコンドリア機能障害、小胞体ストレス反応系の障害、そして気分安定薬の神経保護作用などを総合すると、双極性障害は、神経細胞レベルでの、細胞ストレスに対する脆弱性あるいは神経

可塑性の異常を伴う疾患と考えることができよう。

双極性障害では、遺伝子の関与が明らかである一方、躁状態、うつ状態という二相性の病態を示すこと、および病相反復とともに病相間隔が短縮することが謎であった。これは、ドーパミン神経系の活動をコントロールし、環境への適応として生じるドーパミン系の活性変化が過剰にならないように安定化させる神経系、すなわち「気分安定神経系」が存在し、こうした神経系の可塑的变化が異常を来している、あるいはこうした神経系が進行性に変性する、といった可能性が考えられる。

この「気分安定神経系障害仮説」^{22, 24)} (図) については、今後、さらなる研究が必要であろう。

文献

- 1) Alexopoulos GS, Meyers BS, Young RC, et al : Clinically defined vascular depression. *Am J Psychiatry* 154 : 562-565, 1997
- 2) Benes FM, Lim B, Matzilevich D, et al : Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 : 10164-10169, 2007
- 3) Berk M, Dodd S, Kauer-Sant'anna M, et al : Dopamine dysregulation syndrome : Implications for a dopamine hypothesis of bipolar disorder. *Acta Psychiatr Scand Suppl* : 41-49, 2007
- 4) Carroll BJ, Martin FL, Davies B : Resistance to suppression by dexamethasone of plasma 11-O.H.C.S. levels in severe depressive illness. *Br Med J* 3 : 285-287, 1968
- 5) Daniels WM, Fairbairn LR, van Tilburg G, et al : Maternal separation alters nerve growth factor and corticosterone levels but not the DNA methylation status of the exon 1 (7) glucocorticoid receptor promoter region. *Metab Brain Dis* 24 : 615-627, 2009
- 6) Ebmeier K, Rose E, Steele D : Cognitive impairment and fMRI in major depression. *Neurotox Res* 10 : 87-92, 2006
- 7) Elashoff M, Higgs BW, Yolken RH, et al : Meta-analysis of 12 genomic studies in bipolar disorder. *J Mol Neurosci* 31 : 221-243, 2007
- 8) Ellison-Wright I, Bullmore E : Anatomy of bipolar disorder and schizophrenia : A meta-analysis. *Schizophr Res* 117 : 1-12, 2010
- 9) Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al : Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4 : 1313-1317, 1998
- 10) Ferreira MA, O'Donovan MC, Meng YA, et al : Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet* 40 : 1056-1058, 2008
- 11) Frausto da Silva JJ, Williams RJ : Possible mechanism for the biological action of lithium. *Nature* 263 : 237-239, 1976
- 12) Fujikawa T, Yamawaki S, Touhoda Y : Incidence of silent cerebral infarction in patients with major depression. *Stroke* 24 : 1631-1634, 1993
- 13) Gould E, McEwen BS, Tanapat, P et al : Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci* 17 : 2492-2498, 1997
- 14) Hahn CG, Gomez G, Restrepo D, et al : Aberrant intracellular calcium signaling in olfactory neurons from patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 162 : 616-618, 2005
- 15) Hamilton JP, Siemer M, Gotlib IH : Amygdala volume in major depressive disorder : A meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Mol Psychiatry* 13 : 993-1000, 2008
- 16) Hayashi A, Kasahara T, Iwamoto K, et al : The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF)-induced XBP1 splicing during brain development. *J Biol Chem* 282 : 34525-34534, 2007
- 17) Hayashi A, Kasahara T, Kametani M, et al : Aberrant endoplasmic reticulum stress response in lymphoblastoid cells from patients with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 12 : 33-43, 2009
- 18) Heine VM, Maslam S, Zareno J, et al : Suppressed proliferation and apoptotic changes in the rat dentate gyrus after acute and chronic stress are reversible. *Eur J Neurosci* 19 : 131-144, 2004
- 19) Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F : The combined dexamethasone/CRH test : A refined laboratory test for psychiatric disorders. *J Psychiatr Res* 28 : 341-356, 1994

- 20) Iwamoto K, Bundo M, Kato T : Altered expression of mitochondria-related genes in postmortem brains of patients with bipolar disorder or schizophrenia, as revealed by large-scale DNA microarray analysis. *Hum Mol Genet* 14 : 241-253, 2005
- 21) Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M, et al : Impaired feedback regulation of XBP1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat Genet* 35 : 171-175, 2003
- 22) Kato T : Molecular neurobiology of bipolar disorder : A disease of 'mood-stabilizing neurons'? *Trends Neurosci* 31 : 495-503, 2008
- 23) 加藤忠史 : 脳と精神疾患. 朝倉書店, 2009
- 24) Kato T, Kapczinski F, Berk M : Bipolar Disorder : Clinical and Neurobiological Foundations. In : Yathan LN, Maj M, ed. Wiley-Blackwell, Chichester, 2010
- 25) Kempton MJ, Geddes JR, Ettinger U, et al : Meta-analysis, database, and meta-regression of 98 structural imaging studies in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 65 : 1017-1032, 2008
- 26) Kitamura T, Saitoh Y, Takashima N, et al : Adult neurogenesis modulates the hippocampus-dependent period of associative fear memory. *Cell* 139 : 814-827, 2009
- 27) Konradi C, Eaton M, MacDonald ML, et al : Molecular evidence for mitochondrial dysfunction in bipolar disorder. *Arch Gen Psychiatry* 61 : 300-308, 2004
- 28) Krishnan KR, Hays JC, Blazer DG : MRI-defined vascular depression. *Am J Psychiatry* 154 : 497-501, 1997
- 29) 久保千春 : うつ病は身体疾患の発症や予後を左右する. *医学のあゆみ* 219 : 1125-1128, 2006
- 30) Lucassen PJ, Muller MB, Holsboer F, et al : Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am J Pathol* 158 : 453-468, 2001
- 31) Manji HK, Duman RS : Impairments of neuroplasticity and cellular resilience in severe mood disorders : Implications for the development of novel therapeutics. *Psychopharmacol Bull* 35 : 5-49, 2001
- 32) McCurdy RD, Feron F, Perry C, et al : Cell cycle alterations in biopsied olfactory neuroepithelium in schizophrenia and bipolar I disorder using cell culture and gene expression analyses. *Schizophr Res* 82 : 163-173, 2006
- 33) McGowan PO, Sasaki A, D'Alessio AC, et al : Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci* 12 : 342-348, 2009
- 34) Meaney MJ : Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annu Rev Neurosci* 24 : 1161-1192, 2001
- 35) Mirescu C, Peters JD, Gould E : Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nat Neurosci* 7 : 841-846, 2004
- 36) Mitra R, Jadhav S, McEwen BS, et al : Stress duration modulates the spatiotemporal patterns of spine formation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102 : 9371-9376, 2005
- 37) Muller MB, Lucassen PJ, Yassouridis A, et al : Neither major depression nor glucocorticoid treatment affects the cellular integrity of the human hippocampus. *Eur J Neurosci* 14 : 1603-1612, 2001
- 38) Nibuya M, Morinobu S, Duman RS : Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J Neurosci* 15 : 7539-7547, 1995
- 39) Nys GM, van Zandvoort MJ, van der Worp HB, et al : Early depressive symptoms after stroke : Neuropsychological correlates and lesion characteristics. *J Neurol Sci* 228 : 27-33, 2005
- 40) 奥村正紀, 須原哲也 : うつ病の画像研究. *医学のあゆみ* 219 : 1051-1055, 2006
- 41) Radley JJ, Rocher AB, Miller M, et al : Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 16 : 313-320, 2006
- 42) Reif A, Fritzen S, Finger M, et al : Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 11 : 514-522, 2006
- 43) Risch N, Herrell R, Lehner T, et al : Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression : A meta-analysis. *JAMA* 301 : 2462-2471, 2009
- 44) Rush AJ, Giles DE, Schlessner MA, et al : The dexamethasone suppression test in

- patients with mood disorders. J Clin Psychiatry 57 : 470-484, 1996
- 45) Salaycik KJ, Kelly-Hayes M, Beiser A, et al : Depressive symptoms and risk of stroke : The Framingham Study. Stroke 38 : 16-21, 2007
- 46) Santarelli L, Saxe M, Gross C, et al : Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science 301 : 805-809, 2003
- 47) Sheline YI, Barch DM, Donnelly JM, et al : Increased amygdala response to masked emotional faces in depressed subjects resolves with antidepressant treatment : An fMRI study. Biol Psychiatry 50 : 651-658, 2001
- 48) Shyn SI, Shi J, Kraft JB, et al : Novel loci for major depression identified by genome-wide association study of Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression and meta-analysis of three studies. Mol Psychiatry 16 : 202-215, 2011
- 49) So J, Warsh JJ, Li PP : Impaired endoplasmic reticulum stress response in B-lymphoblasts from patients with bipolar-I disorder. Biol Psychiatry 62 : 141-147, 2007
- 50) Starkstein SE, Robinson RG : Affective disorders and cerebral vascular disease. Br J Psychiatry 154 : 170-182, 1989
- 51) Tomita H, Vawter MP, Walsh DM, et al : Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile : Quality control in microarray analyses of postmortem human brain. Biol Psychiatry 55 : 346-352, 2004
- 52) Warsh JJ, Andreopoulos S, Li PP : Role of intracellular calcium signaling in the pathophysiology and pharmacotherapy of bipolar disorder : Current status. Clinical Neuroscience Research 4 : 201-213, 2004
- 53) Watanabe Y, Gould E, McEwen BS : Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. Brain Res 588 : 341-345, 1992
- 54) Weaver IC, Cervoni N, Champagne FA, et al : Epigenetic programming by maternal behavior. Nat Neurosci 7 : 847-854, 2004
- 55) Widom CS, DuMont K, Czaja SJ : A prospective investigation of major depressive disorder and comorbidity in abused and neglected children grown up. Arch Gen Psychiatry 64 : 49-56, 2007
- 56) Yildiz A, Sachs GS, Dorer DJ, et al : 31P Nuclear magnetic resonance spectroscopy findings in bipolar illness : A meta-analysis. Psychiatry Res 106 : 181-191, 2001

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

ケアする人も楽になる 認知行動療法入門

伊藤絵美

【BOOK1】

この本は2つの目的のために書かれました。1つは、人をケアする職業人が、認知行動療法を使ってもっと楽にセルフケアができるようになること。もう1つは、読者が自分のために使いこなせるようになったら、患者さんのケアに認知行動療法を使ってもらうことです。

●A5 頁184 2011年 定価2,100円(本体2,000円+税5%)
[ISBN978-4-260-01245-4]

【BOOK2】

働いていれば、理不尽なことにも遭遇しますよね。この本では、無能な管理職にイライラ(怒り)。モラルハラスメントでしくしく(悲しみ)。パーソナリティ障害の人に巻き込まれグルグル(当惑)、そんな事例を取り上げて認知行動療法での解決方法を指南していきます。

●A5 頁232 2011年 定価2,310円(本体2,200円+税5%)
[ISBN978-4-260-01246-1]

認知行動療法トレーニングブック 統合失調症・双極性障害・難治性うつ病編 [DVD付]

Cognitive-Behavior Therapy for Severe Mental Illness An Illustrated Guide

著 Jesse H. Wright, Douglas Turkington,
David G. Kingdon, Monica Ramirez Basco

監訳 古川壽亮
訳 木下善弘・木下久慈

●A5 頁440 2010年
定価12,600円(本体12,000円+税5%)
[ISBN978-4-260-01081-8]

『認知行動療法トレーニングブック』シリーズ第2弾。本書では、統合失調症を中心に双極性障害、難治性うつ病も含む重症精神障害の治療に焦点が当てられている。妄想や幻聴への詳細かつ実践的なアプローチはもとより、陰性症状、認知機能障害や対人関係の問題などまで網羅した、重症精神障害のCBTの決定版テキスト。充実の18シーン、158分間の日本語字幕DVD付。英国医師会 Mental Health Book of the Year 2009 を受賞し、全世界が注目する本場の超一流技法を「読んで」「見て」身に付けられ、明日から実践できる。

双極性障害の分子生物学の最近の進歩

高田 篤^{1,2)} 加藤 忠史¹⁾

Key Words

全ゲノム関連解析 (GWAS), 次世代シーケンサー, イノシトール枯渇仮説, GSK3 (glycogen synthase kinase-3), β -arrestin 2

1 双極性障害の分子生物学研究の現状

双極性障害の分子生物学的研究のアプローチとしては、血液由来のゲノムDNAを用いた研究、治療薬の薬理学的研究、死後脳研究、患者由来細胞を用いた研究、そして動物モデル研究などがある。

血液由来DNAを用いたゲノム研究においては、当初、大家系における連鎖解析が盛んに行われ、一時は原因遺伝子の存在する染色体上の位置が特定されると報告されたが、これらの研究の結果は一致せず、結局原因遺伝子特定には至らなかった。

その後、候補遺伝子の関連研究が盛んとなり、多くの有力な候補遺伝子 (*COMT* [Catechol-O-methyltransferase], *SLC6A4* [serotonin transporter], *BDNF* [brain-derived neurotrophic factor] など) との関連が報告されたが、こうした所見には再現性がなく、多くの報告は擬陽性であると考えられた。このように、ジェットコー

スターのような歴史をたどった双極性障害であるが、最近、ゲノムワイド関連研究の出現により、新しい方向がみえてきた。

一方、治療薬の薬理学的研究では、リチウムの作用機序に関する研究、リチウムとバルプロ酸に共通の作用などについての研究が盛んに行われている。

死後脳研究では、2000年代前半には、DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析が前頭葉などのサンプルを用いて盛んに行われたが、一致した結果は得られなかった。これは、死後脳の遺伝子発現には、生前の状態や服薬の影響などが大きく影響するため、疾患の影響を見いだすことが困難である可能性、双極性障害の原因脳部位を調べないとはっきりした結果が得られない可能性などが考えられる。そのため、動物モデルにおける変化との共通点などに着目して、遺伝子を絞り込む試みが行われ、両者に共通な遺伝子であったシクロフィリンDが創薬の候補分子として同定された²²⁾。

最近では、死後脳におけるDNAメチル化解

Recent progress in the molecular biology of bipolar disorder

¹⁾ TAKATA Atsushi and KATO Tadafumi 理化学研究所 脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム (〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1)

²⁾ 九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野

析が盛んとなってきた。DNAメチル解析でも、候補遺伝子の解析が行われる場合があるが、遺伝子関連研究と同様、こうした解析では擬陽性所見の可能性があり、遺伝子関連研究と同じ轍を踏まないためにも、今後、ゲノムワイドでの解析の進展が期待される。しかし、これまでに報告されたDNAメチル化の網羅的解析では、有力なDNAメチル化変化は見いだされていない²⁶⁾。

また、DNAメチル化状態は、細胞の種類によって異なると考えられており、普通に脳からDNAを抽出した場合、主にグリア細胞のDNAメチル化状態を反映していると考えられる。したがって、神経細胞のDNAメチル化を調べたい場合には、何らかの方法で神経細胞のみを集めて、DNAメチル化解析を行う必要がある。

患者由来細胞の研究では、これまでリンパ芽球のサンプルが多く用いられてきた。今後は、患者のiPS細胞由来神経細胞を用いた研究の進展も期待される。

動物モデル研究では、双極性障害は気分障害を反復するという特徴のある疾患であるにも関わらず、多動、あるいはうつであることだけを根拠にしたモデルも多く、これらは双極性障害のモデルとして妥当とはいえない。行動量の波を示す双極性障害モデル動物は少なく、最近の総説でも、われわれの変異ポリメラーゼ γ (*Polg1*)トランスジェニックマウスが紹介されているのみである¹²⁾。今後、ゲノム解析の進歩と共に、新たな動物モデルの進展が期待される。

本稿では、最近特に進歩の著しい、ゲノム研究と薬理学的研究を中心に述べる。

2 双極性障害のゲノム研究

1. 全ゲノム関連解析 (genome-wide association study ; GWAS)

前述のように、双極性障害を対象とした連鎖解析、候補遺伝子の関連解析では、一致した結果を得ることができなかった。そんな中2005

年頃から、双極性障害に関しては2007年頃から報告されだした、新たな手法による研究が、全ゲノム関連解析 (genome-wide association study ; GWAS) である。ゲノムには個体差がある部位が多数存在し、そのうち一塩基だけ配列が異なる部分を、一塩基多型 (single nucleotide polymorphism ; SNP) と呼ぶ。GWASは、ゲノム全体に散在するSNPのうち、主に頻度が高い (集団の5%以上が異なる配列をもつ) のものを網羅的に調べあげ、患者群と健常対照群との間でアリル (対立遺伝子) 頻度に有意な差があるものを検索する、という研究手法である。

GWASは、双極性障害のみならず、さまざまな複雑疾患や、遺伝の影響を受ける形質 (身長、BMI、眼の色など) の研究に応用され、これまでに知られていなかった、形質との強い関連を認めるSNPが次々と同定されている。これらの結果は、A Catalog of Genome-Wide Association Studiesにまとめられている¹⁹⁾。

その中で、双極性障害を対象としたものについての結果を、表1に示すが、これをみると、P値が 1×10^6 を下回るような、GWAS以前の関連解析の常識でいえば、非常に強い関連を示したSNPがいくつも同定されていることがわかる。しかし一方で、強い関連を示したSNPが存在する遺伝子は、各研究で一致していない。この結果を適切に解釈するには、GWASでは通常、何十万ものSNPを一度に調べるため、偶然に強い関連を認める、すなわち偽陽性を示すSNPが必ず検出されることを考慮する必要がある。

こういった問題を解決するために登場したのが、「ゲノムワイドな有意水準」という概念である。これは、網羅的なハプロタイプ地図の作成によって同定された、それぞれが連鎖不平衡になく独立して伝達されるSNPの数から計算された基準で、2008年の報告では $P = 5 \times 10^{-8}$ とされている¹⁴⁾。この基準を下回るような、非常に強い関連を認めるもののみを真の関連と考えることによって、偽陽性を避けようというわけである。この基準に沿って、表1の双極性障害

表1 これまでに行われた双極性障害のGWAS (P値が 1×10^{-6} 未満で関連するSNPを同定した研究のみ抜粋)

筆頭著者	報告年度	最初の研究のサンプル数		確認研究のサンプル数		染色体上の位置	SNPを含むもしくは近傍の遺伝子	SNPのIDとリスクアレル	P値	健常群のリスクアレル頻度	オッズ比 [95%信頼区間]	備考
		疾患群	健常群	疾患群	健常群							
Baum ⁹⁾	2007	461	563	772	876	13q14.11	<i>DGKH</i>	rs1012053-A	2×10^{-8}	0.84	1.59 [1.35-1.87]	最初の研究はDNAプーリング法によるSklarと重複あり
WTCCC ³⁶⁾	2007	1,868	2,938	1,868	2,938	16p12.1	<i>PALB2</i> , <i>NDUFAB1</i> , <i>DCTN5</i>	rs420259-A	6×10^{-8}	0.72	2.08 [1.60-2.71]	P値, オッズ比は遺伝子型頻度による解析で算出されたもの
Sklar ³²⁾	2008	1,461	2,008	365+256 家系, 409 人のトリオ サンプル	351	18q21.1	<i>MYO5B</i>	rs4939921-G	2×10^{-7}	0.08	1.51	Baumと重複あり
						12q21.1	<i>TSPAN8</i>	rs1705236-T	6×10^{-7}	0.93	0.58	
Ferreira ¹⁶⁾	2008	4,387	6,209	なし	なし	10q21.2	<i>ANK3</i>	rs10994336-T	9×10^{-9}	0.05	1.45	WTCCC, Sklarを含むメタ解析
						12p13.33	<i>CACNA1C</i>	rs1006737-A	7×10^{-7}	0.32	1.18	
						15q14	<i>C15orf53</i> , <i>RASGRP1</i>	rs12899449-A	4×10^{-7}	0.72	1.2	
Scott ³⁰⁾	2009	3,683	14,507	なし	なし	5q15	<i>MCTP1</i>	rs17418283-C	1×10^{-7}	0.28	1.21 [1.13-1.30]	WTCCCを含み, Baum, Sklarと重複するメタ解析
						1p32.1	<i>NF1A</i>	rs472913-C	2×10^{-7}	0.5	1.18 [1.11-1.25]	
						3p21.1	<i>ITIH1</i> , <i>NEK4</i>	rs1042779-A	2×10^{-7}	0.63	1.19 [1.11-1.27]	
Lee ²³⁾	2010	1,000	1,000	409	1,000	7p21.1	<i>SP8</i>	rs2709736-G	5×10^{-7}	記載なし	1.44 [1.25-1.66]	P値, オッズ比は遺伝子型頻度による解析で算出されたもの

A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies⁴⁾を用いて作成