

201224051B

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

精神疾患の生物学的病態解明研究
— 最新の神経科学・分子遺伝学との融合 —

平成22年度～24年度 総合研究報告書

研究代表者 武田 雅俊

平成25（2013）年 5月

目 次

I. 総合研究報告

精神疾患の生物学的病態解明研究—最新の神経科学・分子遺伝学との融合— ----- 1

武田雅俊

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 47

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 61

精神疾患の生物学的病態解明研究-最新の神経化学・分子遺伝学との融合-
研究代表者 武田雅俊 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

精神疾患の診断は医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法は未だ確立しておらず、客観的・科学的診断法の開発が必要とされている。抗精神病薬や抗うつ薬は約半数については治療効果が不十分であり様々な副作用が起こる。よって有効性が高く副作用の少ない治療薬の開発が待ち望まれている。本研究では新たな診断法・治療法への応用を目指して、最新の神経科学と分子遺伝学融合させた手法を用いて統合失調症とうつ病の病態を解明することを第一の目的とする。その成果の普及啓発のための提言を行い、国民の精神疾患への神経科学的な理解を深めて精神疾患に対する誤解や偏見を打破することを第二の目的とする。

研究方法は、世界で最大規模となる三千以上のゲノムサンプルとそれに付随する数百以上の中間表現型データを最新の神経科学・遺伝学・分子生物学の手法を用いて解析する。サンプル収集を続けつつ、収集済みのサンプルにて神経科学的な中間表現型と関連する多型を見出し、統合失調症やうつ病のリスク遺伝子を同定する。

藤田保健衛生大学では、初年度に全ゲノムに位置する 50 万個の遺伝子多型を用いた統合失調症の遺伝子関連解析を行った。574 名のと 564 名の正常対照者を用いた全ゲノム関連研究 (GWAS) の結果、SULT6B1 や NOTCH4 といった遺伝子に有意な関連を得た。また、コピー数多型(CNV)も既報の領域 (1q21.1、NRXN1、16p13.1) で確認出来た。次年度には、覚醒剤使用障害患者の中で、精神病状態を発症する群とそうでない群が存在することに着目し、覚醒剤の副作用としての「精神病状態」を検討する薬理遺伝学的研究を行った。また、過去に行った統合失調症の全ゲノム関連研究のデータと比較することで、「覚醒剤により精神病となるリスク SNP」は、統合失調症の患者に多く見られることを同定した。最終年度には、藤田保健衛生大学では、代表的な第 2 世代抗精神病薬であるリスペリドンの治療反応性に対する薬理遺伝学的解析を行い、初年度に行った統合失調症感受性のゲノムワイド関連研究の結果との比較を行った。その結果、抗精神病薬反応性と関連すると思われる多くの遺伝子多型は、正常対照者に比べ、統合失調症患者に有意に多く存在することが判明した。

名古屋大学では、初年度に日本人大規模サンプル(N=4353)により統合失調症のリスク遺伝子型であると示唆された MAGI2 遺伝子の 2 つの SNP(SNP1:p=0.043, SNP2: p=0.0038)について、SNP1 の遺伝子型は統合失調症患者の注意力と関連し、SNP2 の遺伝子型は統合失調症患者の前頭葉遂行機能との関連が示唆された。次年度には、Ptpra^{-/-}マウスにおいて統合失調症様の行動異常 (メタンフェタミン誘発性過活動、感覚運動ゲート機構の異常、驚愕反応への馴化欠如) と統合失調症患者死後脳で報告されたミエリン関連遺伝子の発現低下を確認し、PTPRA の SNP が本疾患と遺伝統計学的に関連し、患者死後脳の背外側前頭前野で PTPRA mRNA の発現低下していることを見出し、統合失調症の新たなリスク遺伝子とモデル動物を見出した。最終年度には、日本人統合失調症の GWAS (JPN_GWAS) でトップの関連シグナルの 1 つを 1p13.3 の VAV3 遺伝子 (VAV3) 領域 (rs1410403) で同定した。JPN_GWAS の所見を補完するため、VAV3 の rs1410403 と脳構造の関連を健常者群と統合失調症患者群で検討した。さらに VAV3 のエキソン・リシーケンシングを実施して稀な変異の関与を検討した。本研究の結果、JPN_GWAS で見出された rs1410403 は左上側頭回、左中側頭回の灰白質体積に影響を与え、VAV3 の稀なミスセンス変異の 1 つ Glu741Gly が本疾患との有意な関連を示した。

大阪大学では、神経免疫に関与する転写因子である NF- κ B 複合体の構成タンパクの一つである RELA と統合失調症が関連することを見出した。さらに、プロモーター領域にある統合失調症のリスク多型を持つ統合失調症患者では、神経生理学的な中間表現型であるプレパルス抑制の低下が持たない患者と比較して認められることを明らかとした。次年度には、中間表現型付きのゲノムサンプルの全ゲノムタイピングを行い、統合失調症の認知機能障害に関与する遺伝子を見出し、この手法が非常に有用であることを示唆するデータを得た。最終年度には、見出した統合失調症の認知機能障害に関与する遺伝子について、海外の共同研究者のサンプルを用いて再現性の検討を行い、最も強い関連が認められた DEGS2 遺伝子の SNP に関連が認められることを見出した。この SNP は、ミスセンス変異であるため、機能解析が比較的容易であり、この分子に基づいた創薬に期待が持てる知見である。

国立精神・神経医療研究センターでは、初年度において、うつ病において年齢によらず共通して脳血流の低下する部位を見出し、眼窩前頭皮質、前部帯状回、背外側前頭前野などの左側優位の両側前頭前野、左側頭葉、左優位の両側後頭葉などの特定部位での脳血流の低下がうつ病の中間表現型となりうる可能性を示唆した。さらに、治療抵抗性うつ病において左前頭前野の血流低下所見が軽いほどリチウムで寛解しやすく、この所見がリチウムの効果予測の指標となる可能性があることが示された。次年度から分担研究者が異動により交代し、NIRSの検討を行った。大うつ病性障害患者においては、HAMD-21総得点と右背外側前頭前野の賦活に負の相関が認められ、双極性障害においては、YMRSの気分高揚項目と右側頭部の賦活に正の相関が認められた。最終年度には、NIRSの有用性および、限界、今後の課題について検討した。NIRSにおいて大うつ病性障害、統合失調症パターンは6~7割の確率、典型的パターンにおいては、7~8割の確率で診断と一致した。しかし、双極性障害パターンにおいては全体、典型的パターンともに40%の一致率に留まっており、大うつ病性障害の患者がNIRSで双極性障害パターンを示した場合は、真の診断は双極性障害となるか、気分安定薬が有効な大うつ病性障害となるか、いずれかの可能性が示唆された。

これらの研究成果は、統合失調症やうつ病をはじめとする精神疾患の新たな診断法・治療法の開発に役立つものと考えられる。このように本研究において、新たな診断・治療法のシーズとなるものを見出すことに成功した。中間表現型に基づく客観的診断法の確立と新たな治療薬の開発は、医療行政上、大変有意義であり、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。

分担研究者

岩田仲生	藤田保健衛生大学医学部 教授
尾崎紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科 教授
橋本亮太	大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学、千葉大学、福井大学 連合小児発達学研究科附属子どものこころの分子統御研究センター 准教授
岡本長久	国立精神・神経医療研究センター病院 精神科医長 (22年度)
野田隆政	国立精神・神経医療研究センター武蔵病院 精神科医長 (23-24年度)

A. 研究目的

精神疾患の診断は、医師が症状を診ることによりなされており、客観的な検査等による診断法はいまだ確立したとはいえない。現在、DSM-IVやICD-10による操作的診断法が汎用されるようになってきているが、従来の外因、内因、心因の原因を想定した診断法が実際の臨床場面では有用な場合が少なくない。そこで客観的・科学的診断法の開発が、待ち望まれている。

現在、汎用されている精神疾患の診断基準は症候論的な診断基準であり、「特定の病態を持った疾患を包含する」という妥当性に関して十分とは言えない。したがって、病態解明を目指す研究遂行上、以下の問題点が生じる。1. 精神疾患の診断には生物学的に複数の病態が混在し、ひとつの病態仮説に関して統合失調症全体で検証したのでは夾雑物によって検証力が弱まる(遺伝統計学的有意差を導くには大規模サンプルが必須)。2. ある症状の有無というcategoricalな診断基準が採用されているが、妥当性が低い診断基準の場合、連続的(dimensional)な指標を用いることが適当と考えられる。3. 遺伝型と表現型との関連を遺伝統計学的に検討した後、その遺伝型がどのようなメカニズムで表現型に影響を与えるかを生物学的に確認することが必要だが、症候論的表現型(例:幻聴の有無)は、「生物学的意味」を細胞生物学や遺伝子改変動物を使って検証することが困難である。

中間表現型(intermediate phenotype)は、神経生物学的な表現型で精神疾患のリスクに関連するものであり、高次認知機能障害、脳MRIにて測定する脳構造異常、神経生理学的な指標であるプレパルス抑制テスト、近赤外分光法、脳磁図等における異常などがある。中間表現型としては、精神疾患で異常が報告されている中枢神経系の連続的な指標のうち、遺伝性が高く、病前から存在し、状態像による変化が少ないものが相応しいといわれている。中間表現型は客観的・科学的診断技法の候補であると考えられるが、単独では感度・特異度の点で十分ではない。しかし、これらの中間表現型は神経生物学的なメカニズムが異なると考えられることから、組み合わせることによって、精神疾患における客観的・科学的診断技法を確立することが期待される。よって、医療行政上、大変有意義であると考えられる。

抗精神病薬や抗うつ薬は過半数の患者において

は有効であり寛解するが、一方、残りにおいては治療効果がないまたは治療反応性に乏しく残遺症状や社会的機能障害が長期にわたって認められる。副作用として、錐体外路症状、体重増加・糖脂質代謝異常、抗コリン作用、性機能障害などがあり、さらに重大なものとして致死性の悪性症候群が起こることがある。よって有効性が高く、副作用の少ない治療薬の開発が待ち望まれている。

中間表現型と遺伝子多型の関連を検討することにより、新たな脆弱異性遺伝子を見出すことが期待される。これらの脆弱性遺伝子の機能解析から統合失調症とうつ病の新規の治療ターゲット分子を同定することができると考えられる。統合失調症では、現在用いられているドパミン仮説に基づく抗精神病薬と異なる機序による治療薬の開発に必要な知見が得られることが予測される。新たな治療薬の開発に成功すれば、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。このように本研究では、統合失調症およびうつ病の脆弱性遺伝子と中間表現型という成因理論に基づく診断法・治療法を開発を行うことを目的とする。

そのためには、統合失調症、気分障害、健常者において、脳MRI画像や認知機能検査データなどの中間表現型と遺伝子解析に用いるゲノムサンプルを同一被験者において収集する必要がある。また、脳MRI画像などの中間表現型と遺伝子解析を組み合わせた解析を行うため200例以上の多数の症例を必要とすることから十分な検討を行うための精神疾患のリサーチリソース・データベースを構築することも目的とする。

精神疾患の主要な疾患である統合失調症は、1%の有病率といわれており、決して稀な疾患ではない。加えて遺伝疫学的研究から、発症には、遺伝的要因がかなりの割合で関与することがわかっている。従って、遺伝子レベルから病態生理にアプローチする意義を裏付けている。現在までに、この遺伝的リスクを検討するべく、候補遺伝子アプローチをはじめとした多くの研究がなされてきたが、確定的な結論には至っていない。最近では、ゲノム科学の進展により、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全ゲノム関連解析(GWAS)が主流となってきた。この方法論の基盤となるのは、統合失調症のような「ありふれた疾患(common disease)」は、個々の遺伝子変

異が寄与するリスクは低い、頻度の高い多型 (common variant) の関与により引き起こされる」という仮説 (common disease-common variant 仮説) のもとに行われる。しかし、他の“ありふれた疾患”、例えば糖尿病やクローン病などは、この仮説に合致する確度の高いリスク遺伝子変異が同定されつつあるが、統合失調症の場合は確定的といえる遺伝子多型は非常に少数である。

一方「稀ではあるが、リスクの高い変異がある」とする仮説 (common disease-rare variant 仮説) も想定されている。その主要な要素として近年注目されているのが、コピー数多型 (CNV) であり、多くの報告で effect size が大きい CNV が同定されつつある。

また、薬剤の反応性や副作用は、個人によってばらつきが大きく、試行錯誤でのみ個人に適した薬剤選択が可能となっている。この薬剤反応性などは、遺伝的要因で規定されているとの遺伝疫学的研究が報告されており、遺伝子多型を用いた治療反応性予測を目的とする薬理遺伝学 (Pharmacogenomics: PGx) は今後の発展が期待される分野である。特に精神疾患の病態生理解明は上述のように非常に困難であることを鑑みると、薬剤反応性が遺伝子多型で事前に予測できるとすると、病態生理をスキップした形で臨床応用が可能となる。その期待される背景には、薬剤反応性と関連する遺伝的要因 (関連遺伝子) は、疾患感受性に比し、effect size が大きいことが想定されていることが挙げられる。言い換えると、薬剤という環境要因は、人類にとって初めての経験であり、自然選択がかかっていないことから解釈される。

藤田保健衛生大学では、1) 統合失調症感受性リスクを同定する、ことに加え、2) 覚醒剤精神病 (覚醒剤による副作用という観点からは PGx となりうる)、3) 代表的第2世代抗精神病薬であるリスペリドンの治療反応性を対象に、全ゲノムの DNA チップを用いることで、網羅的な検討を行った。

名古屋大学では、藤田保健衛生大学で行った日本人統合失調症の全ゲノム関連解析 (JPN_GWAS) で有望であった MAGI2、PTPRA、VAV3 遺伝子を候補遺伝子として、JPN_GWAS のフォローアップ解析と中間表現型解析を実施した。

大阪大学では、神経免疫に関与する転写因子である NF- κ B 複合体の構成タンパクの中から、日本人の連鎖解析において統合失調症との連鎖が示唆さ

れている 11q13 に存在する RELA (*v-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A*) を候補遺伝子として、統合失調症との関連、そして中間表現型との関連を検討した。さらに、197例の統合失調症患者と324例の健常者について、全ゲノムにわたるジェノタイピングを行い、その解析を開始し、特に統合失調症の認知機能障害との関連についての検討を行った。

国立精神・神経医療研究センターでは、主に気分障害についての検討を行った。

従来うつ病は、抗うつ薬で良く治る病気として捉えられてきたが、近年米国で行われた大規模臨床試験 STAR*D 研究 (Systematic Treatment Alternatives to Relieve Depression; 4段階に分けたアルゴリズムに沿って各治療を比較した臨床試験) では、最終段階までの累積寛解率は67%で、4段階の薬物治療戦略を試みても寛解に至らないうつ病症例が全体の3分の1以上も存在することが示され治療抵抗性うつ病に対する治療戦略が注目されている。

わが国での治療抵抗性うつ病に対する薬物治療の選択肢としては、抗うつ薬に、リチウム、甲状腺ホルモン、非定型抗精神病薬、ドパミンアゴニストなどを併用する増強療法や修正型電気けいれん療法などが臨床使用されているが、その効果に関しての薬理学的作用や効果予測因子に関してエビデンスに基づき治療を標準化するための十分な数の臨床研究はまだない。

一方、うつ病の脳画像研究において、うつ病では脳画像所見に器質的あるいは機能的な異常があることが示唆されるようになってきた。頭部 CT 所見では側脳室の拡大が、脳 MRI では特に皮質下白質の異常が指摘されている。また脳血流 SPECT では左半球の前頭葉や帯状回、側頭葉での血流低下とうつ状態との関連が示唆されている。今までに、うつ病において年齢によらず共通して脳血流の低下する部位を見出し、眼窩前頭皮質、前部帯状回、背外側前頭前野などの左側優位の両側前頭前野、左側頭葉、左優位の両側後頭葉などの特定部位での脳血流の低下がうつ病の中間表現型となりうる可能性を示した。初年度は、リチウムの治療反応性に関与する部位についての検討を行った。

次年度からは、分担研究者が交代し、近赤外線光トポグラフィー (near-infrared spectroscopy: NIRS) を用いた検討を行った。精神科で NIRS を用いた最初の研究は、1994年に Okada らによって統合失

調症の報告である。その後、Sutoら、Kameyama¹⁾によって言語流暢性課題 (verbal fluency task: VFT) 中の前頭部において、うつ病、躁うつ病、統合失調症でそれぞれ異なる課題反応賦活パターンが得られるという報告がされ、鑑別診断補助としての有用性が評価されて2009年4月に先進医療に「光トポグラフィ検査を用いたうつ症状の鑑別診断補助」として承認された。NIRSは近赤外光を用いているため、非侵襲性、低拘束性という特徴があり、精神疾患患者への心理的負担を少なくできる。また、他の脳機能画像検査よりも簡便である点は今後普及しやすい検査であると言える。

本研究では#1 うつ病の病状とNIRSとの関連、#2 躁うつ病の躁症状とNIRSとの関連を明らかにすること、#3当センター病院で先進医療を行った患者800名の臨床的特徴、鑑別診断補助としての有用性および、限界、今後の課題について検討した。

B. 研究方法

大阪大学医学部附属病院、名古屋大学医学部附属病院、藤田保健衛生大学付属病院、国立精神・神経医療研究センター病院にて統合失調症、躁うつ病、うつ病等の患者をリクルートした。健常者の研究参加に関しては、各施設の関連スタッフや近隣のボランティアの協力を得て行った。被験者については、文書による説明と同意をいただいた上で、原則的にMRI撮像(3D構造画像)と認知機能検査バッテリー(知能指数:WAIS-IIIまたはWAIS-R:Wechsler Adult Intelligence Scale-IIIまたはRevised、推定病前知能検査:JART:Japanese Adult Reading Test、記憶検査:WMS-R:Wechsler Memory Scale-Revised、AVLT:The Auditory-Verbal Learning Test、前頭葉機能検査:WCST:Wisconsin Card Sorting Test、注意・集中力検査:Continuous performance test:CPT、言語流暢性:WF:Word Fluency)、神経生理機能検査(プレパルス抑制テスト、近赤外分光法:NIRS、脳波)、性格検査(TCI:Temperament and Character Inventory、SPQ:Schizotypal personality Questionnaire)を行ったうえで、採血を行いDNA、RNAを抽出し、リンパ芽球化を行った。臨床的評価としては、SCID(Structural Clinical Interview for DSM-IV)にて診断を行い、統合失調症においては、PANSS(Positive and Negative Syndrome Scale:陽性・陰性症状評価尺度)による症状評価と

DIEPSS(Drug-Induced Extrapyrimal Symptoms Scale 薬原性錐体外路症状評価尺度)による副作用評価、そして、気分障害においては、HAMD(Hamilton Rating Scale for Depression:ハミルトン鬱病評価尺度)またはYMRS(Young Mania Rating Scale:ヤング躁病評価尺度日本語版)を用いて症状評価を行った。

藤田保健衛生大学における統合失調症 GWAS においては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(以後、SCZ GWASと呼ぶ)。また、追試サンプルの診断もGWASと同様であり、1511名の日本人統合失調症、497名の英国人統合失調症、1517名の日本人正常対照者、2938名の英国人正常対照者を用いた(replication1と呼ぶ)。また、有望なSNPと考えられたNOTCH4のrs2071287に関しては、さらなる追試を行った(統合失調症=4,414、正常対照者=10,483:replication2と呼ぶ)。他方、稀なCNVを同定するべく、chipにあるprobeのintensityデータから、CNVを推測し、統合失調症との関連を検討した。

覚醒剤精神病 GWAS ではICD-10により診断されたMETH使用障害患者とした。その中で、精神病状態を示したMETH-induced psychosis群が195名、精神病状態を認めない「without psychosis」群が43名であった(以後、METH-induced psychosis GWASと呼ぶ)。覚醒剤精神病と統合失調症の共通性を検討するために、polygenic component解析を使用した。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_1 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。

リスペリドン反応性のPGxでは、DSM-IVにより診断された初発統合失調症かつ抗精神病薬未投薬の患者107名を対象とした(以下PGxサンプルと呼ぶ。Ikeda et al. 2010, Biol Psychiatryのサンプルに8サンプル追加した)。その後、8週間のリスペリドン単剤治療を行い、初診時(0

週)と8週時におけるPANSSを評価し、その改善率をアウトカムとした。他方、統合失調症感受性GWASは、1)のSCZ GWASの結果を使用した(Ikeda et al. 2011, Biol Psychiatry)。両表現型の共通性を検討するために、2)で説明したpolygenic component解析を使用した。具体的には、discovery setとしてPGx結果を、target setとして1)のSCZ GWAS結果を用いた。

名古屋大学におけるMAGI2遺伝子の2つのSNP(SNP1:p=0.043, SNP2: p=0.0038)が、統合失調症患者と健常者の中間表現型である認知機能(CPT-IP: Continuous Performance Test identical pairs version, WCST: Wisconsin Card Sorting Test(Keio version))に与える影響を検討した。PTPRAについては、*Ptpra*^{-/-}マウスの行動解析や中枢神経系での遺伝子発現解析、PTPRAと統合失調症の遺伝子関連解析、そして患者死後脳でのPTPRA発現解析を行った。VAV3においては、本遺伝子のrs1410403とMRI脳構造の関連を健常者群と統合失調症患者群で検討した。さらにVAV3のエキソン・リシーケンシングを実施して稀な変異の関与を検討した。

大阪大学におけるRELA遺伝子多型の判定を行うに当たって、Applied BiosystemsのTaqMAN法を用いた。RELA遺伝子と統合失調症との関連、プレパルス抑制テストとの関連を検討した。全ゲノムにわたる遺伝子多型の判定を行うに当たって、Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いた。統合失調症の認知機能障害は、WAISからJARTを差し引くことで算出し、この認知機能障害と全ゲノムにわたる遺伝子多型の関連においては、PLINKを用いて解析した。

国立精神・神経医療研究センターにおけるリチウムの治療反応性に関する研究においては、入院患者でDSM-IVにて大うつ病性障害と診断され、作用機序の異なる2つ以上の抗うつ薬を十分量十分期間投与しても改善または寛解が得られていない患者のうち、投与開始前のHAM-Dスコア9点以上、同意取得時の年齢が20歳以上75歳以下、本人の自由意志により文書同意取得可能で重篤な身体疾患、脳血管障害、物質依存性障害の既往がない患者を対象とした。エントリー患者14名のうち、一過性心電図異常のため中止(1名)、一過性腎機能障害のため中止(2名)、同意撤回(1名)、プロトコル逸脱(1名)を除く9名を対象とし、リチウム投与前の

SPECTを有効群と無効群にわけてSPM2で群間比較を行った。また、有効群と無効群それぞれの投与前後のSPECTを群間比較した。

NIRS研究については、以下のとおりである。大うつ病性障害(major depressive disorder: MDD)、双極性障害(bipolar disorder: BP)患者、健常者(healthy control: HC)である。独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院へ入院もしくは外来通院している躁うつ病、うつ病患者を被験者としてリクルートした。健常者被験者の研究参加に関しては、ボランティアの協力を得て行った。#1 うつ病の病状とNIRSとの関連、#2 躁うつ病の躁症状とNIRSとの関連の被験者の人口統計学および臨床背景をそれぞれ表1、2に示す。

表1. 被験者の人口統計学的、臨床背景(#1)

	MDD群	HC群
人数(女:男)	30(16:14)	30(16:14)
年齢	36.7±11.6	36.2±10.4
(病前)推定知能	105.7±9.5	105.9±8.3
眠気	3.3±1.1	2.8±0.9
罹病期間(年)	5.8±4.1	
HAM-D21総得点	16.7±4.8	
VFT達成数	12.3±3.9	13.9±4.3

全項目P>0.05

表2. 被験者の人口統計学的、臨床背景(#2)

	BP群	BP躁症状+群
人数(女:男)	56(19:37)	17(6:11)
年齢	38.1±12.8	38.5±14.3
(病前)推定知能	105.0±10.0	106.2±9.5
HAM-D21総得点	13.7±8.4	12.0±8.6
YMRS総得点	2.3±3.0	6.0±3.1

被験者へは、文書による説明と同意を得た上でNIRS測定を行った。人口統計学的、臨床背景については年齢、性別、利き手(Edinburgh Handedness inventory)、眠気(Sleepiness was evaluated as the score on the Stanford Sleepiness Scale: SSS)、処方内容、処方量などの他に、診断は精神科構造化診断面接(Structural Clinical Interview for DSM-IV: SCID-I)を用いた。臨床評価として、推定病前知能検査(Japanese Adult Reading Test: JART)、ハミルトンうつ病評価尺度(Hamilton Rating Scale for Depression: HAM-D)、ヤング躁病評価尺度日本語版(Young Mania Rating Scale: YMRS)を用いた。

NIRS 検査については、52chNIRS 計測装置 (ETG-4000、日立メディコ社製) を用いた。NIRS は近赤外光を使用し、頭皮から 2-3cm の脳皮質における酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb)、脱酸素化 Hb (deoxy-Hb)、Hb 総計 (total-Hb) の変化量を計測した。計測課題は言語流暢性課題 (verbal fluency task: VFT) を用い、統制課題として「あ・い・う・え・お」を繰り返した。言語流暢性課題は 20 秒毎に語頭音を変化させた。測定時間は合計 160 秒間であった。計測データは加算平均化し、Matlab プログラムおよび統計解析ソフト SPSS18.0 を用いてアーチファクトやノイズを含んだ CH を除去した上で、統計解析を行った。#1 うつ病の病状と NIRS との関連においては一次線形補正後のデータ (integral mode) を用い、#2 躁うつ病の躁症状と NIRS との関連においては一次線形補正前の波形 (continuous mode) のデータを用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究を含む臨床研究である。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」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行った。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報への厳重な管理 (匿名化) などを徹底させた。また、遺伝子解析研究においては、各研究施設の倫理審査委員会において承認を受けている。

本研究の説明を行う過程や試料等提供の過程で、強制的な態度や同意の強要をしないことはいうまでもない。試料提供の依頼を拒否したからといって、診療行為等に不合理または不公平なことが行われることは全くない。また、同意はいつでも文書によって撤回することができ、その場合、試料等は廃棄される。治療中の患者様に関しては、試料提供を依頼することが主治医によって不適切であると判断された場合は、試料提供の依頼は行わない。

C. 研究結果

まず、本研究の基盤となる被験者のリクルートとサンプル収集・各種検査を全体で行った。以下、全体の保有サンプル・データ数というように表記して収集成果を示す。まずゲノムサンプルに関しては統合失調症 759 例、気分障害 153 例、健常者 662 例、その他の精神疾患 163 例を収集した。ゲノムサンプルとともに血漿サンプルもすべてのサンプルで収集している。血中の RNA サンプルについては、統合失調症 616 例、気分障害 150 例、健常者 662、その他の精神疾患 163 例を収集した。RNA サンプルは脳の病態を直接反映している可能性が高いとは言えないが、簡便に採取することが可能なため、生物学的マーカーとして期待される。そこで、治療の前後など複数回のサンプリングを行っているものが、統合失調症 172 例、気分障害 41 例である。また、この血液サンプルのうち、EB ウィルスを用いて株化し不死化したリンパ芽球を、統合失調症 455 例、気分障害 120 例、健常者 611 例、その他の精神疾患 142 例収集した。認知機能に関しては、知能指数 (WAIS-III または WAIS-R) を統合失調症 325 例、健常者 668 例、推定病前 IQ 検査 (JART) を統合失調症 292 例、健常者 696 例、記憶検査 (WMS-R) を統合失調症 328 例、健常者 656 例、記憶検査 (AVLT) を統合失調症 265 例、健常者 556 例、前頭葉機能検査 (WCST) を統合失調症 241 例、健常者 556 例、注意・集中力検査 (CPT) を統合失調症 285 例、健常者 556 例、言語流暢性 (WF) を統合失調症 303 例、健常者 556 例の検査を行った。

神経生理機能においては、脳機能画像法である近赤外線スペクトロスコピー (NIRS) を用いて、4 種類の前頭葉課題遂行時の局所脳血液量を、統合失調症 278 例、気分障害 66 例、健常者 566 例、その他の精神疾患 93 例において 2 チャンネルの NIRS にて測定した。また、驚愕反応テストとして、prepulse inhibition (PPI: 強い刺激の直前に微弱な刺激を先行させると驚愕反応が抑制される現象) と habituation (HAB: 馴化: 強い刺激を繰り返すことにより慣れが起こり次第に驚愕反応が弱くなる現象) を、統合失調症 282 例、気分障害 64 例、健常者 609 例、その他の精神疾患 99 例測定した。脳波については統合失調症 324 例、気分障害 71 例、健常者 57 例、その他の精神疾患 98 例の測定を行った。

性格検査として、TCI を統合失調症 426 例、気分障害 52 例、健常者 564 例に行った。

最後に脳画像検査として、脳MRI 画像撮像を行い、3D 構造画像のデータを得た。統合失調症 252 例、健常者 506 例、気分障害 15 例、その他の精神疾患 77 例であった。これらは遺伝子多型との関連を検討することができる準備が整っており、日本で最大の脳機能に關与する表現型のデータベースとそれに付随するバイオサンプルを併せ持ったリサーチリソースであり、国民の貴重な財産として、精神神経疾患の解明に役立てることができると考えられる。

<藤田保健衛生大学>

1) 全ゲノム関連研究 (GWAS)

GWAS 及び replication1 の解析では、GWAS における有意水準のベンチマークである genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) を超える SNP は同定できなかった。既報の GWAS の結果で注目される領域 (Chr6 MHC 領域、NRGN、TCF4) を個別に確認したところ、唯一、MHC 領域に位置する NOTCH4 (既報では、この遺伝子単体で Genome-wide significance を超えている: Steffanson et al, 2009, Nature) で有意な関連を認めた (rs2071286, $P = 3.3 \times 10^{-4}$)。統合失調症と NOTCH4 遺伝子に関する関連研究のさらなる文献検索を行ったところ、この近傍の SNP, rs2071297 で日本人統合失調症との関連が報告されていたため (Tochigi et al, 2007, Am J Med Genet)、Tochigi et al のサンプルを含めたメタ解析を行った。その結果、2011 年の時点での P 値は、 5.1×10^{-5} まで P 値が改善し、NOTCH4 が日本人統合失調症と関連する可能性が示唆された (Ikeda et al. 2011, Biol Psychiatry)。その後、この SNP の関連性に決着を付けるため、さらなるサンプル数拡大を測った (Replication2)。最終的には、症例対照を合わせると 2 万近くのサンプル数となり、でメタ解析を行ったところ、本 SNP は、 $P = 3.4 \times 10^{-8}$ と genome-wide significance を超える関連性を示した (Ikeda et al. 2012, Mol Psychiatry)

他方、CNV解析においては、多くの領域で統合失調症にのみ見られる CNV が認められたが、特に、複数の報告がなされている 1q21.1 と NRXN1 の del、16p13.1 の dup を日本人でも追試することが出来た (Ikeda et al. 2010, Biol Psychiatry)。

2) 覚醒剤精神病 GWAS

discovery set を METH-induced GWAS、target set を SCZ GWAS とした場合、統合失調症患者において、有意に多くの「METH-induced psychosis」のリスクとなりうるアレルが存在することが同定された (図 1)。

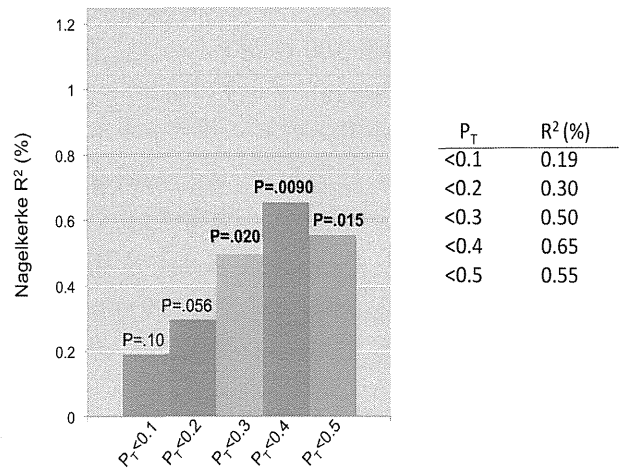


図 1 覚醒剤精神病サンプルの Polygenic component 解析

3) リスペリドンの PGx

PGxの関連因子はeffect sizeが大きいとされていることを鑑み、discovery setをリスペリドン反応性 PGx、target setをSCZ GWASとした方向性の解析を行った。この結果、統合失調症患者において、有意に多くの「薬剤反応性」に關連しうるアレルが存在することが同定された (図2)。

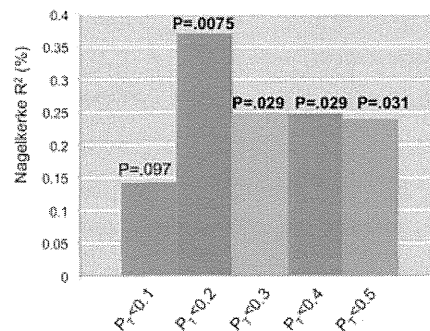


図 2 リスペリドン反応性サンプルの Polygenic component 解析

<名古屋大学>

MAGI2: SNP1 の遺伝子型は統合失調症患者のグループにおいて CPT-IP の総合的な得点指標である d' との関連が示唆され、同様に SNP2 の遺伝子型は統合失調症患者における WCST のネルソン型の保続性の誤りの指標 PEN との関連が示唆された。

PTPRA: 1) *Ptpra*^{-/-}マウスは統合失調症のエンドフェノタイプ (メタンフェタミン誘発性過活動、感覚運動ゲート機構の異常、驚愕反応への馴化欠如) を示した。2) 当該マウスは、患者死後脳で報告されたミエリン関連遺伝子の発現低下も確認した。3) *PTPRA* の1つの SNP が本疾患と遺伝統計学的に関連し、患者死後脳の背外側前頭前野で *PTPRA* mRNA の発現低下を見出した。

VAV3: VBM 解析では rs1410403 は左上側頭回と左中側頭回の灰白質体積に影響を与えることが明らかになった (各 $P=0.011$, $P=0.013$)。この領域は健常者と比較して患者群で体積減少が報告された領域である。*VAV3* の変異検索では4つの稀な新規ミスセンス変異を同定した。大規模な2つの独立サンプルで関連解析を行い、メタ解析で検討した結果、Glu741Gly が統合失調症と関連した ($P=0.02$)。

<大阪大学>

RELA 遺伝子の4つの一塩基多型 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) について統合失調症との関連を検討し (統合失調症患者 1224 名, 健常対象者 1663 名)、4つの SNPs [rs7119750 (SNP1), rs11568300 (SNP2), rs2306365 (SNP3), and rs11820062 (SNP4)] のうち3つについて関連が示された (SNP1: $p=0.0080$, SNP3: $p=0.0031$, SNP4: $p=0.00011$)。男女に分けて解析すると男性においてのみ関連が認められた。次にハプロタイプ解析を行うと、さらに強い関連が SNP3 と SNP4 の組み合わせにおいて認められた ($p=0.00006$)。これらの SNP は *in silico* でデータベース上の遺伝子発現と遺伝子多型の関連解析を行うと SNP1, SNP3, SNP4 についてはリスクアレルで発現レベルが低いことが示された。SNP4 のリスクアレルを持つと転写因子であるアンドロゲンレセプターの結合モチーフがなくなること *in silico* の解析で見出された。

最後に、神経生理学的な中間表現型であるプレパルス抑制テストにおいて、統合失調症患者では

SNP1, 3, 4 においてリスクアレルを持つとプレパルス抑制が障害されることが見出された。

統合失調症の認知機能障害を、病前推定知能である JART から現在の知能である WAIS を引くことにより求めた。統合失調症患者 166 名においてその平均値は 16 であり、約 1 標準偏差の認知機能低下が認められることがわかった。一方健常者においては、その平均値は -2 であることから、ほぼ変わらないと考えられる。この統合失調症患者の認知機能障害についてゲノムワイド関連解析を行ったところ、いわゆる 5.0×10^{-8} というゲノムワイド関連があると言われる SNP はなかったものの、DEGS2 遺伝子のミスセンス変異が 5.4×10^{-7} という値をとり、他にも CSMD1 という統合失調症の全ゲノム解析のメガ解析でポジティブであった遺伝子も3番目に低い p 値であった。

さらに、共同研究者の Daniel Weinberger から国立精神保険衛生研究所の臨床脳疾患研究部門 (Clinical brain disorder branch / National institute of mental health / National institute of health) のサンプルの統合失調症の認知機能障害の全ゲノム関連解析のデータを得て、TOP SNP である、DEGS2 遺伝子のミスセンス変異の代用となる SNP が関連していることを見出した。

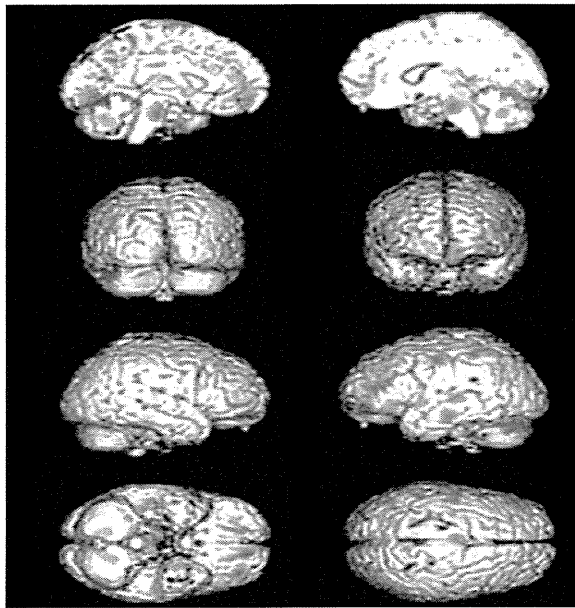
<国立精神・神経医療研究センター>

リチウムの治療反応性研究

リチウム有効群は 55% (N=5、男 3 名、年齢 52.1 歳 \pm 12.5 歳) でリチウム無効群は 45% (N=4、男 2 名、年齢 43.5 \pm 13.0 歳) であった。投与前のハミルトンうつ病評価尺度 17 項目は有効群 22 \pm 6.0 点、無効群 21.0 \pm 6.2 点で重症度に有意な差はなかった。

有効群と無効群での投与前の SPECT 所見の差異では、有効群の方が眼窩前頭皮質、前部帯状回、背外側前頭前野などの左側前頭前野、左側頭葉皮質、脳幹の血流が高く ($p < 0.05$)、特に左前頭前野では著明な差を認めた ($P < 0.01$) 【図 1】。

【図 1】リチウム有効群のほうが投与前の脳血流が高い部位

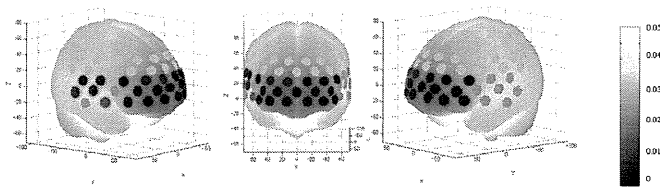


NIRS 研究

研究#1,2

1. うつ病の病状と NIRS との関連

MDD30 例、HC30 例の NIRS 測定を行った。被験者の人口統計学的、臨床背景については Table 1 に示す。両群ともに 52CH 中、頭頂部に近い CH1 から CH21 は体動や髪の毛によるアーチファクトが混在していたため、今回の解析からは除外した。まずは両群の VFT 中の oxy-Hb 変化量の平均値を t 検定で比較したところ、多重比較 (false discovery rate: FDR) の補正後に 31CH 中 22CH で MDD 群は HC 群よりも有意に oxy-Hb 変化量が小さいという結果であった (図 2)。



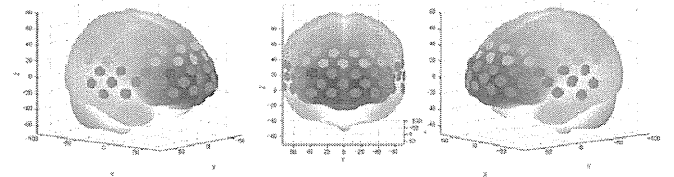
P-value

● P > 0.05 ● Excluded channels

図 2. P-value significance map of t-tests for oxy-Hb increases. MDD vs HC.

ついで HAM-D 得点との比較であるが、HAM-D21 総

得点と VFT 中の oxy-Hb 変化量の平均値との相関を Spearman の順位相関 (rho) を用いて行ったところ、FDR 補正後に CH25 において有意に負の相関を示した (図 3; rho = -0.56, P = 0.002)。



● P < 0.01 ● P > 0.05 ● Excluded channels

図 3. The 25CH showed a significant correlation between oxy-Hb changes and HAM-D21 total score after FDR correction.

2. 躁うつ病の躁症状と NIRS との関連

躁うつ病 56 例で YMRS の各項目の得点と 1 VFT 中の oxy-Hb 変化量の重心値、2 VFT 開始直後 5 秒間の oxy-Hb の増加量の傾き、3 VFT 終了後 oxy-Hb 平均値から VFT 前の oxy-Hb 平均値を引いた値 (post-pre) との相関をステップワイズ法による重回帰分析を行ったところ、post-pre は右側頭部において YMRS の気分高揚と有意に正の相関をしていた (表 2, 3, 4)。

表 2. (post-pre) の oxy-Hb と YMRS 細項目との重回帰分析結果 (BP56 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
気分高揚	-	.55 **	.66 **
会話	-	-	-.34 *
破壊的攻撃的行為	.29 *	-	-
R ²	.07 *	.28 **	.54 **

表 3. oxy-Hb の重心値と YMRS 細項目との重回帰分析結果 (BP56 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
思考障害	.28 *	-	.29 *
破壊的攻撃的行為	-	.28 *	.30 *
R ²	.06 *	.06 *	.14 **

表 4. oxy-Hb の傾きと YMRS 細項目との重回帰分析結果 (BP56 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
睡眠	.46 **	-	.29 *
R ²	.20 **	-	.07 **

一方で、YMRS の総得点を 3 点以上に限定すると、被験者数は 17 名と少なくなってしまうが、YMRS の各項目の得点と 1 VFT 中の oxy-Hb 変化量の重心値、2 VFT 開始直後 5 秒間の oxy-Hb の増加量の傾き、3 VFT 終了後 oxy-Hb 平均値から VFT 前の oxy-Hb 平均値を引いた値 (post-pre) との相関をステップワイズ法による重回帰分析を行ったところ、post-pre は左右側頭部において YMRS の気分高揚と有意に強く正の相関をしていた (表 5, 6, 7)。以上のように躁うつ病 56 例でみられた結果がより強調された結果が得られた。

表 5. (post-pre) の oxy-Hb と YMRS 細項目との重回帰分析結果 (躁症状+群 17 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
気分高揚	-	.94 *	.92 *
破壊的攻撃的行為	.64 **	-	-
R^2	.36 **	.84 *	.80 *

表 6. oxy-Hb の重心値と YMRS 細項目との重回帰分析結果 (躁症状+群 17 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
思考障害	-	-	.54
破壊的攻撃的行為	-	-	.50
R^2	-	-	.41 *

表 7. oxy-Hb の傾きと YMRS 細項目との重回帰分析結果 (躁症状+群 17 名)

	前頭部	左側頭部	右側頭部
睡眠	.68 **	.54 *	-
思考内容	.53 **	-	.53 *
身なり	.38 **	-	-
R^2	.76 **	.25 *	.24 *

研究#3

全800名の内訳は平均年齢が39.3±13.5歳、女性が346名、男性が454名と男性がやや多かった。年代別には30代、40代が多く (図4)、紹介元の臨床診断としては大うつ病性障害、双極性障害、統合失調症の順であった (図5)。全例抑うつ症状を合併しており、F2、F3を強く疑う病状であった。

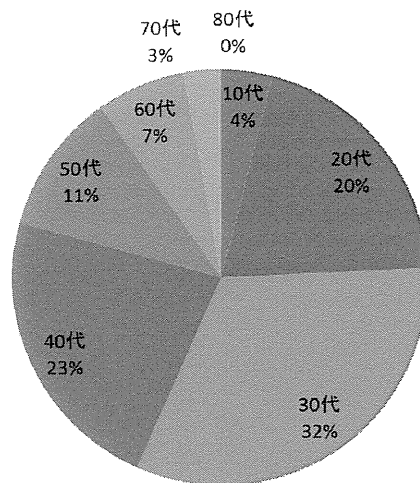


図4. 先進医療を実施した患者の年齢

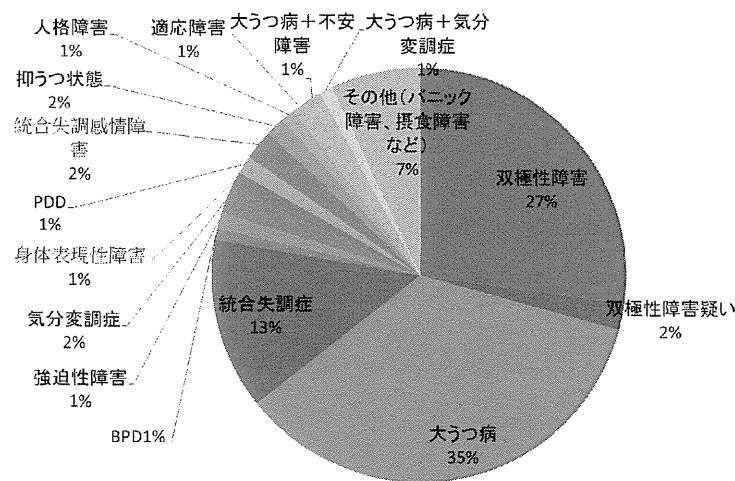


図5. 先進医療を実施した患者の紹介元の臨床診断

先進医療の目的は患者毎に鑑別診断補助として役立てることにあるため、今回はNIRSによるパターン毎に実際の診断の内訳を示す。

NIRSで大うつ病性障害に類似したパターンとなった191名のうち診断が大うつ病性障害 (不安障害の合併含む)、気分変調性障害となったのは61%であった (図6)。そのうち、NIRSにおいて典型的な大うつ病性障害パターンを示した96名のうち、診断が大うつ病性障害 (不安障害の合併含む)、気分変調性障害となったのは69%であった (図7)。

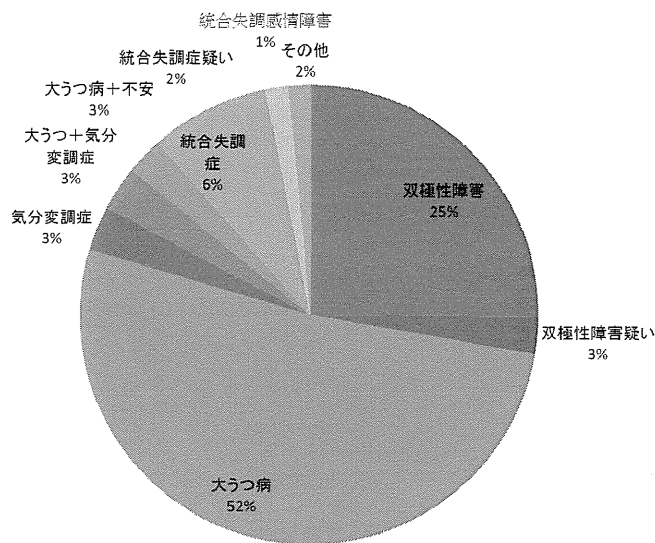


図6. NIRSで大うつ病性障害に類似したパターンを示した患者（191名）のSCID-I診断

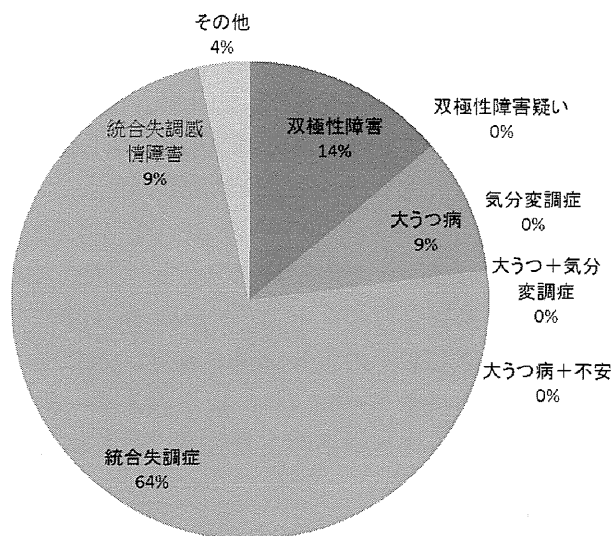


図8. NIRSで統合失調症に類似したパターンを示した患者（87名）のSCID-I診断

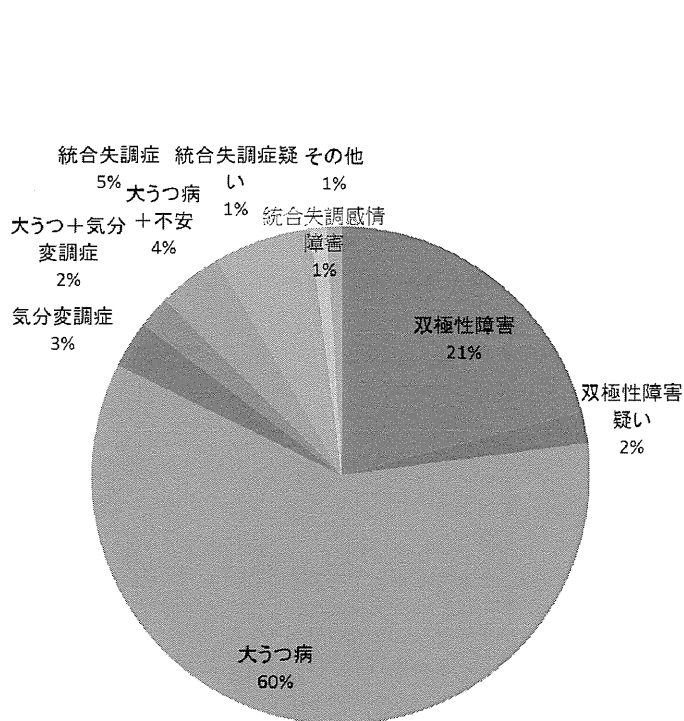


図7. NIRSで典型的な大うつ病性障害パターンを示した患者（96名）のSCID-I診断

NIRSで統合失調症に類似したパターンとなった87名のうち診断が統合失調症、統合失調感情障害となったのは73%であった（図8）。そのうち、NIRSにおいて典型的な統合失調症パターンを示した28名のうち、診断が統合失調症、統合失調感情障害となったのは85%であった（図9）

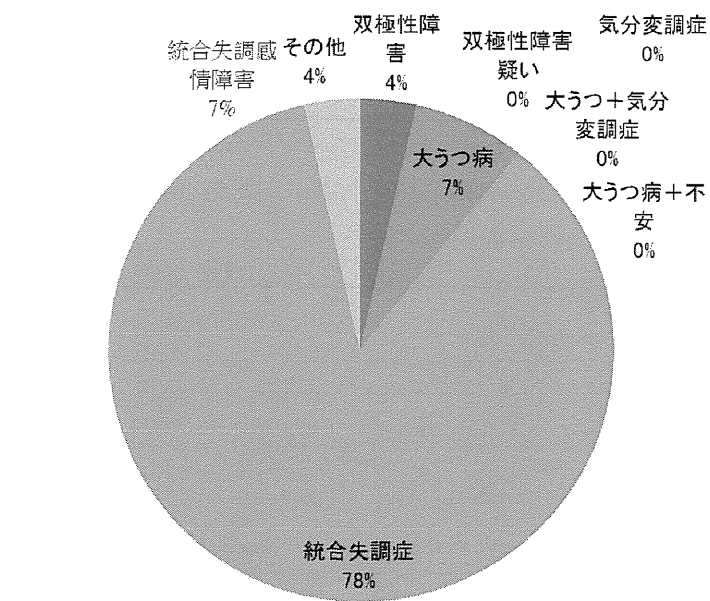


図9. NIRSで典型的な統合失調症パターンを示した患者（28名）のSCID-I診断

また、NIRSで双極性障害に類似したパターンとなった422名のうち診断が双極性障害および双極性障害疑いとなったのは40%であった（図10）。そのうち、NIRSにおいて典型的な双極性障害パターンを示した167名のうち、診断が双極性障害および双極性障害疑いとなったのは40%と変わらなかった（図11）。

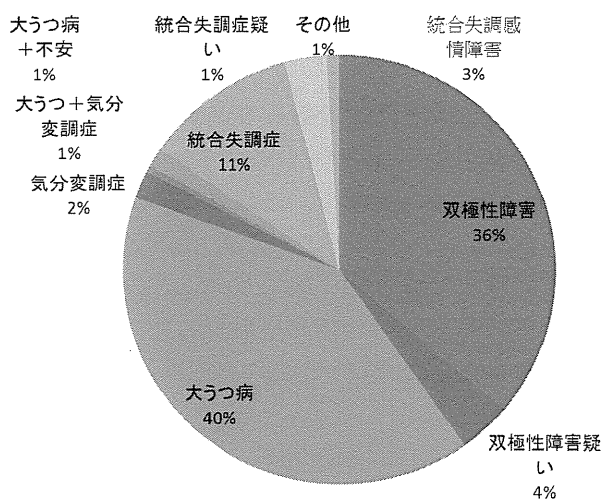


図10. NIRSで双極性障害に類似したパターンを示した患者 (422名) のSCID-I診断

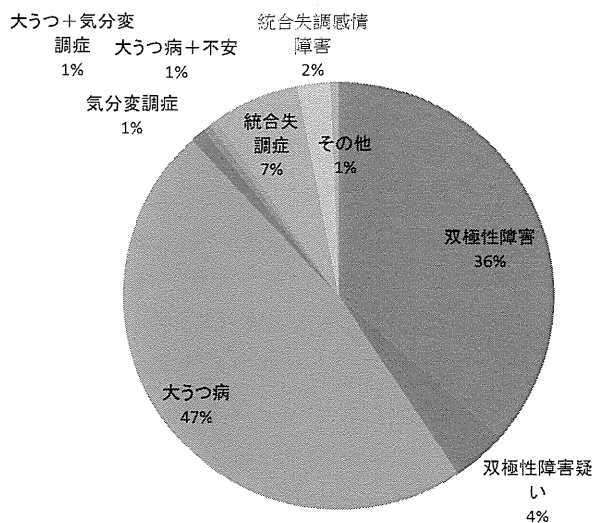


図11. NIRSで典型的な双極性障害パターンを示した患者 (167名) のSCID-I診断

SCID-Iにおいて大うつ病性障害であるが、NIRSにおいて双極性障害に類似したパターンを示した患者169名のうち、追跡調査が可能であったのは60名であった。60名中28名が典型的な双極性障害パターン、32名が典型的ではないが経験的に双極性障害パターンであった。60名中37名が気分安定薬を、27名(重複あり)が抗精神病薬を経過中に併用されていた。8名(典型的パターン4名、経験的パターン4名)が経過中に軽躁エピソードを示し、躁転していた。追跡期間が短いため今後追跡していくことで更に躁転する患者が増えることが予想される。

D. 考察

我々は、統合失調症の中間表現型として、MRI撮

像(3D構造画像、拡散テンソル画像)と認知機能検査バッテリー(知能指数:WAIS-III:Wechsler Adult Intelligence Scale-III、推定病前知能検査:JART:Japanese Adult Reading Test、記憶検査:WMS-R:Wechsler Memory Scale-Revised、前頭葉機能検査:WCST:Wisconsin Card Sorting Test、注意・集中力検査:Continuous performance test:CPT、言語流暢性:WF:Word Fluency)、神経生理機能検査(プレパルス抑制テスト、近赤外分光法:NIRS、脳波、脳磁図)、性格検査(TCI:Temperament and Character Inventory、SPQ:Schizotypal personality Questionnaire)を行ってきた。その同じ被験者において、ゲノムサンプル、血漿、血中RNA、リンパ芽球を収集し、中間表現型と遺伝子との関連を検討した。多数のサンプルを収集できたことは非常に大きな成果であったと考えられる。

藤田保健衛生大学の成果からは、本GWAS単独の結果では、関連の可能性が極めて高いGenome-wide significanceを示すSNPを同定することは出来なかったが、その後の大規模サンプルを用いた追試により、NOTCH4が日本人統合失調症と関連がすることが示唆された。しかし、NOTCH4は、連鎖不平衡が長いことで知られるMHC領域に位置し、その周辺にClass IIのHLAが存在するため、この有意がどこまでの範囲をtagしているのかを確認する必要がある。また、覚醒剤精神病サンプル、あるいはリスペリドン治療反応性を用いたPGxを行い、それぞれの表現型と関連する多数のSNPsが、統合失調症患者に有意に多く存在することを示した。精神医学的には想定される結果であるが、分子遺伝学的手法を用いた結果としては、初めてのものであり、過去の仮説を裏付けるものである。

名古屋大学の成果からは、MAGI2において中間表現型の候補として選択した認知機能検査バッテリーの結果を用いて、統合失調症のリスク遺伝子型が認知機能障害に与える影響について検討を行った。MAGI2の遺伝子型が遺伝率の高い認知機能検査であるCPT-IP、WCSTの主要な指標に影響を与えることが示唆された。さらに、PTPRAが統合失調症の発症脆弱性に関与することが、ヒトゲノム、遺伝子改変動物、死後脳解析から明らかになった。Ptpra^{-/-}マウスを用いた検討によって、本疾患の病態解明がさらに進展すると期待される。最後に、日本人統合失調症の全ゲノム関連解析で見出されたVAV3の

rs1410403 は左上側頭回、左中側頭回の灰白質体積に影響を与え、*VAV3* の稀なミスセンス変異の 1 つ Glu741Gly が本疾患との有意な関連を示した。*VAV3* は統合失調症の発症脆弱性遺伝子の 1 つといえる。

大阪大学では、同じ被験者において、ゲノムサンプル、血漿、血中 RNA、リンパ芽球を収集し、神経科学的な中間表現型と遺伝子との関連を検討した。候補遺伝子解析により、神経免疫や神経可塑性に重要な役割を果たす *RELA* 遺伝子が統合失調症と関連することを、日本人の大きなサンプルサイズで見出した。その関連は男性のみで認められ、プロモーター領域の SNP である SNP4 のリスク多型は転写因子であるアンドロゲンレセプターの結合モチーフを消失させるため、機能的にも非常に興味深い結果である。さらに、この SNP4 が統合失調症患者のプレパルス抑制の障害に関連しているというデータが得られた。統合失調症の PCP モデルマウスでプレパルス抑制障害と $\text{NF-}\kappa\text{B}$ シグナルの異常が認められる報告があるため、 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ シグナルが統合失調症の病態メカニズムに関与している可能性が強く示唆される。

また、全ゲノム関連解析においては、たった 166 サンプルという少ない数で、今までに見出されてきた遺伝子である *CSMD1* が非常に高いランクに位置することが判明した。*CSMD1* を見出した GWAS 研究は数万対数万のサンプルサイズで行なっており、世界中の精神医学者からサンプルを集めてコンソーシアムを作って行なっており、リプリケーションを行うことも難しい状況にある。我々は、中間表現型を用いることにより非常に少ないサンプルサイズで同様の結果を得ており、中間表現型を用いた解析が効率のよい方法であることは間違い無いと思われる。さらに、これらの SNP の中で、TOP にある *DEGS2* 遺伝子が関連することが他のサンプルで再現されたことは、非常に貴重なデータであり、今後、この遺伝子に着目して、統合失調症の認知機能障害に対する創薬に結び付けたいと考えている。

国立精神・神経医療研究センターの SPECT 解析においては、療抵抗性うつ病において左前頭前野の血流低下所見が軽いほどリチウムで寛解しやすく、上記所見がリチウムの効果予測の指標となる可能性があることが示された。一年間のみでの分担研究で、予備的な検討にとどまり、結論に至るまで研究を継続できなかったことが残念である。

一方、NIRS 研究においては、以下のように考えら

れる。

研究#1,2

MDD ではうつ病評価尺度である HAM-D 得点と VFT 中の oxy-Hb 平均値との関連を検討した。BP では、躁症状と oxy-Hb との関連を、これまでの先行研究で通常使われている VFT 中の oxy-Hb 平均値ではなく、重心値、傾き、線形補正前の (post-pre) といった他のパラメーターとの関連を検討した。そこで、興味深い所見が得られた。

1. うつ病の病状と NIRS との関連

まずは、MDD 群と HC 群との比較であるが、MDD 群は HC 群よりも VFT 中の oxy-Hb 変化量が有意に小さいという結果が得られた。この結果は先行研究と同様の結果であり、その後の病状評価へ解析を進めることができる。さて、HAM-D21 総得点と oxy-Hb 平均値との関連であるが、CH25 において FDR 補正後に有意に負の相関を示した。すなわち、HAM-D21 総得点が高いほど VFT 中の oxy-Hb 平均値は小さくなるという結果であり、重症度を反映していると考えられる。CH25 は概ね右背外側前頭前野 (dorsolateral prefrontal cortex: DLPFC) に相当する。Bench らや Mayberg らは DLPFC の血流が病状を反映しているという報告をしており、我々の結果を支持する先行研究である。今回の結果は、サンプル数は十分ではないが、MDD においては病状の評価ツールとしての NIRS 測定に一定の道筋が立ったと考えられる。

2. 躁うつ病の躁症状と NIRS との関連

躁うつ病 56 例を対象として躁症状評価スケールである YMRS と oxy-Hb 変化量との関係をステップワイズ法による重回帰分析を行ったところ、(post-pre) の条件において右側頭部が YMRS の気分高揚項目と有意に正の相関を示した (相関係数 0.66)。躁症状のなかでも気分高揚は中核的な症状のひとつであり、右側頭部が正の相関を示したことは興味深い所見である。56 例の臨床背景は HAM-D21 総得点が 13.7 ± 8.4 点、YMRS 総得点が 2.3 ± 3.0 点と抑うつ状態が中心の病態であった。今回のデータの妥当性を確かめるべく躁状態に限定して統計解析を行うべきであるが、症例数が足りず、探索的に YMRS3 点以上に限定して解析を試みた。その結果、17 名の BP 被験者が解析対象となった。その結果、(post-pre) の条件において左右側頭部が気分高揚項目と有意に大変強い相関を示した (相関係数: 左

0.94、右0.92)。サンプルサイズの限界はあるものの、今回の結果は躁症状、とくに気分高揚という躁状態の中核的症状のひとつと強く相関しており、躁症状の評価としてのNIRS検査の可能性が示された。しかしながら、軽躁状態とは言えず、混合状態も含まれており、サンプルの数、均一性について限界があると考えられる。今回のパイロット研究により、今後症例を積み重ねることで躁症状とNIRSとの関連が明らかになっていくことが期待される。

(post-pre)を用いた統計解析についてであるが、数多くのNIRS波形を検討すると、躁うつ病では少なからずcontinuous波形がドリフトしているパターンを経験した。その経験から通常のintegralのデータを用いた統計解析ではなく、continuousのデータを使って(post-pre)を用いた統計解析というヒントを得た。Continuousのデータを用いた統計解析は臨床的な疑問からヒントを得た解析であり、今後症例数を積み重ねることで躁うつ病の病状との関連が明らかになっていくことが期待できる。

研究#3

NIRSパターン分類をみると、大うつ病性障害パターンが191名、統合失調症パターンが86名、双極性障害パターンが422名と圧倒的に双極性障害パターンが多い結果となっている。先進医療に承認される前の研究段階では、概ね診断とNIRSパターンの割合は一致していた。滝沢と福田は大うつ病性障害と双極性障害の診断とNIRSパターンの一致率をそれぞれ68.6%、81.3%と報告しており、研究段階での典型的な症状の患者においては、鑑別診断補助が大変有効であった。先進医療を希望する患者は、診断に不満をもっていたり、抗うつ薬による治療をしても抑うつ症状が遷延するような患者が多い。さらに、大うつ病性障害パターンは典型的パターンであれば69%が診断と一致し、統合失調症パターンは典型的パターンであれば85%と高い一致率となっている。しかし、双極性障害パターンにおいては全体、典型的パターンともに40%の一致率に留まっており、典型的パターンにおいては、大うつ病性障害の患者が47%と約半数を占め、典型的パターンの方が占める割合が多くなっている。さらに、追跡調査可能な60名中8名が軽躁エピソードを示し、双極性障害へ診断変更され、37名が気分安定薬を併用している事実からも、大うつ病性障害の患者がNIRSで双極性障害パターンを示した場合は、真の診断は双極性

障害となるか、気分安定薬が有効な大うつ病性障害となるか、いずれかの可能性がある。躁状態や軽躁状態が顕在化していない潜在性の躁うつ病が大うつ病性障害と診断されていたり、患者が軽躁状態を正常と考え申告していない例もあると考えられ、他のパターンと比べて明らかに一致率が低いのは、真の診断に迫っている可能性が示唆される。今後追跡調査をすることで、真の診断との一致率が判明するものと考えられる。

E. 結論

我々は、最新の神経科学・分子遺伝学を融合させることにより精神疾患の生物学的病態解明を目指している。このために必要なリサーチリソース・データベースの構築に成功した。

中間表現型を用いた候補遺伝子解析により、新たなリスク遺伝子として、MAGI2、PTPRA、VAV3、RELA遺伝子を見出した。今後、本疾患の分子病態解明に向けた更なる検討が必要と考える。

様々な全ゲノム関連解析を行うことによって、統合失調症を始めとした精神疾患のリスクとなりうる遺伝子の同定を図っている。また、polygenic component解析を駆使することで、用いた「多くの遺伝子多型の集合」がそれぞれの表現型に共通することを示唆しているが、この解析はあくまで「推測」でしかなく、リスクとなりうる「分子」を行うためには、さらなるサンプル数が必須となると思われた。一方、中間表現型の全ゲノム関連解析を行うことによって、統合失調症の認知機能障害のリスク遺伝子を見出した。この知見は、本手法が有望であることを示し、海外の研究のような数に頼った方法論ではなく、中間表現型を用いた質による方法論の開発が今後期待される。

MDDおよびBPにおいて限定的ではあるが、NIRSが病状評価ツールとして有用であることが示されたことで、治療効果の判定や治療反応性の予測、再発予測といった精神科で期待されている客観的ツールとしての有用性の検討が可能となった。また、鑑別診断補助検査としてはNIRSが大うつ病性障害、統合失調症パターンを示した場合は高い確率で診断補助として有用であり、大うつ病性障害の患者が双極性障害パターンを示した場合は診断変更を念頭において躁転に注意して経過を追うことが有効であると考えられた。

これらの結果は、新たな診断・治療法のシーズと

考えられる。このように中間表現型に基づく客観的診断法の確立と新たな治療薬の開発は、医療行政上、大変有意義であり、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

【平成 22 年度】

- 1) Ikeda M, Aleksic B, Kinoshita Y, Okochi T, Kawashima K, Kushima I, Ito Y, Nakamura Y, Kishi T, Okumura T, Fukuo Y, Williams HJ, Hamshere ML, Ivanov D, Inada T, Suzuki M, Hashimoto R, Ujike H, Takeda M, Craddock N, Kaibuchi K, Owen MJ, Ozaki N, O'Donovan MC, Iwata N. Genome-Wide Association Study of Schizophrenia in a Japanese Population. *Biol Psychiatry*, 69(5):472-478, 2011. 3.
- 2) Nihonmatsu-Kikuchi N, Hashimoto R, Hattori S, Matsuzaki S, Shinozaki T, Miura H, Ohta S, Tohyama M, Takeda M, Tatebayashi Y. Reduced rate of neurogenesis in the hippocampus of adult dysbindin null (sandy) mouse. *PLoS One*, 18;6(1):e15886, 2011. 1
- 3) Takeda M, Martínez R, Kudo T, Tanaka T, Okochi M, Tagami S, Morihara T, Hashimoto R, Cacabelos R. Apolipoprotein E and central nervous system disorders: reviews of clinical findings. *Psychiatry Clin Neurosci*. 64(6):592-607, 2010. 12
- 4) Hashimoto R, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Iwase M, Iike N, Azechi M, Ikezawa K, Takaya M, Takahashi H, Yamamori H, Okochi T, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Kazui H, Iwata N, Takeda M. The Impact of a Genome-Wide Supported Psychosis Variant in the ZNF804A Gene on Memory Function in Schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatry Genet*, 153B(8):1459-1464, 2010. 12.
- 5) Delawary M, Tezuka T, Kiyama Y, Yokoyama K, Inoue T, Hattori S, Hashimoto R, Umemori H, Manabe T, Yamamoto T, Nakazawa T. NMDAR2B tyrosine phosphorylation regulates anxiety-like behavior and CRF expression in the amygdala. *Mol Brain*. 3(1):37, 2010. 11.
- 6) Hayashi N, Kazui H, Kamino K, Tokunaga H, Takaya M, Yokokoji M, Kimura R, Kito Y, Wada T, Nomura K, Sugiyama H, Yamamoto D, Yoshida T, Currais A, Soriano S, Hamasaki T, Yamamoto M, Yasuda Y, Hashimoto R, Tanimukai H, Tagami S, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Morihara T, Takeda M. KIBRA genetic polymorphism influences episodic memory in Alzheimer's disease, but does not show association with disease in a Japanese cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 30(4):302-308, 2010. 10.
- 7) Yasuda Y, Hashimoto R, Ohi K, Fukumoto M, Takamura H, Iike N, Kiribayashi M, Yoshida T, Hayashi N, Takahashi H, Yamamori H, Morihara T, Tagami S, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Kamino K, Ishii R, Iwase M, Kazui H, Takeda M. Association study of KIBRA gene with memory performance in a Japanese population. *World J Biol Psychiatry*, 11(7):852-8527. 2010. 10
- 8) Takebayashi M, Hashimoto R, Hisaoka K, Tsuchioka M, Kunugi H. Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in patients with major depressive disorders. *J Neural Transm*. 117(9):1119-1122. 2010. 9
- 9) Mori K, Okochi M, Tagami S, Nakayama T, Yanagida K, Kodama T, Tatsumi S, Fujii K, Tanimukai H, Hashimoto R, Morihara T, Tanaka T, Kudo T, Funamoto S, Ihara Y, Takeda M. The production ratios of AICD ϵ 51 and A β 42 by intramembrane proteolysis of β APP do not always change in parallel. *Psychogeriatrics*, 10(3):117-123, 2010. 9
- 10) Numata S, Nakataki M, Iga J, Tanahashi T, Nakadoi Y, Ohi K, Hashimoto R, Takeda M,

- Itakura M, Ueno S, Ohmori T. Association study between the pericentrin (PCNT) gene and schizophrenia. *Neuromolecular Med*, 12(3):243-247. 2010.9
- 11) Takahashi H, Iwase M, Canuet L, Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Iike N, Nakahachi T, Ikezawa K, Azechi M, Kurimoto R, Ishii R, Yoshida T, Kazui H, Hashimoto R, Takeda M. Relationship between prepulse inhibition of acoustic startle response and schizotypy in healthy Japanese subjects. *Psychophysiology*, 47(5):831-837. 2010.9
- 12) 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):469-472. 2010.7
- 13) Takeda M, Hashimoto R, Kudo T, Okochi M, Tagami S, Morihara T, Sadick G, Tanaka T. Laughter and humor as complementary and alternative medicines to dementia patients. *BMC Complement Altern Med*, 10(1):28, 2010.6
- 14) Schulze T, Alda M, Adli M, Akula N, Ardaur R, Chillotti C, Cichon S, Czerski P, Zompo M, SDetera-Wadleigh S, Grof P, Gruber O, Hashimoto R, Hauser J, Hoban R, Iwata N, Kassem L, Kato T, Kittel-Schneider S, Kliwicki S, Kelsoe J, Kusumi I, Laje G, Leckband S, Manchia M, MacQueen G, Masui T, Ozaki N, Perlis R, Pfennig A, Piccardi P, Richardson S, Rouleau G, Reif A, Rybakowski J, Sasse J, Schumacher J, Severino G, Smoller J, Squassina A, Turecki G, Young T, Yoshikawa T, Bauer M, McMahon F. The International Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen): An Initiative by the NIMH and IGSLI to Study the Genetic Basis of Response to Lithium Treatment, *Neuropsychobiology*, 62(1):72-78, 2010.5
- 15) Fukuda S, Hashimoto R, Ohi K, Yamaguti K, Nakatomi Y, Yasuda Y, Kamino K, Takeda M, Tajima S, Kuratsune H, Nishizawa Y, Watanabe Y. A functional polymorphism in the disrupted-in schizophrenia 1 gene is associated with chronic fatigue syndrome. *Life Sci*, 86(19-20):722-725, 2010.5
- 16) 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):106-112, 2010.5
- 17) 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):300-302, 2010.5
- 18) 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 Japanese population. *Schizophr Res*, 118(1-3):113-117, 2010.5
- 19) Munosue T, Yokoyama S, Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Hayashi K, Asaka T, Liu HX, Jin D, Koizumi K, Islam MS, Huang JJ, Ma WJ, Kim UH, Kim SJ, Park K, Kim D, Kikuchi M, Ono Y, Nakatani H, Suda S, Miyachi T, Hirai H, Salmina A, Pichugina YA, Soumarokov AA, Takei N, Mori N, Tsujii M, Sugiyama T, Yagi K, Yamagishi M, Sasaki T, Yamasue H, Kato N, Hashimoto R, Taniike M, Hayashi Y, Hamada J, Suzuki S, Ooi A, Noda M, Kamiyama Y, Kido MA, Lopatina O, Hashii M, Amina S, Malavasi F, Huang EJ, Zhang J, Shimizu N, Yoshikawa T, Matsushima A, Minabe Y, Higashida H. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res*, 67:181-191, 2010.4

- 20) 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. *Journal of Affective Disorders* 132(3):319-24
- 21) Okamoto N, Furusawa Y, Sakamoto K, Yamamoto T, Kondo Y, Nagafusa Y, Higuchi T. Major depression: what caused the crisis? *Lancet*. 2010 23;375:346.
- 22) Okamoto N, Sakamoto K, Nagafusa Y, Ichikawa M, Nakai T, Higuchi T. Electroconvulsive Therapy as a Potentially Effective Treatment for Severe serotonin Syndrome. Two Case reports. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2010 June; Volume30 (Epub ahead of print)
- 23) Okamoto N, Nakai T, Sakamoto K, Nagafusa Y, Higuchi T, Nishikawa T. Rapid Antidepressant Effect of Ketamine Anesthesia During Electroconvulsive Therapy of Treatment-Resistant Depression: Comparing Ketamine and Propofol Anesthesia. *J ECT*. 2009 Nov 19.
- 24) Okamoto N, Ogawa M, Murata Y, Sakamoto K, Nagai T, Higuchi T. Major Depressive Disorder Complicated with Spinocerebellar Ataxia: Report of 2 cases. *Case Reports in Neurology*(Impress)
- 25) 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* 185 (1-2):20-6, 2011
- 26) Kishi T, Fukuo Y, Okochi T, Kitajima T, Kawashima K, Naitoh H, Ujike H, Inada T, Yamada M, Uchimura N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Iwata N: Serotonin 6 receptor gene is associated with methamphetamine-induced psychosis in a Japanese population. *Drug Alcohol Depend* 113 (1):1-7, 2011
- 27) 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
- 28) 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 dymeclin gene and schizophrenia in the Japanese population. *J Hum Genet* 55 (9):631-4, 2010
- 29) 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
- 30) 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
- 31) 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