

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「テーラーメイド医療を目指した  
ゲノム情報活用基盤技術」  
研究課題「大規模共同研究による統合失調症  
遺伝子の探索」

## 研究終了報告書

研究期間 平成15年10月～平成21年3月

研究代表者：有波 忠雄  
(筑波大学大学院人間総合科学研究科、教授)

## § 1 研究実施の概要

### 研究の構想

統合失調症は約 1%の人が罹患する代表的な精神疾患である。ほとんどの民族で頻度に差はない。統合失調症の疾患特異的な生化学的、病理学的所見はなく、病態解明の大きな障壁となっている。統合失調症の発症には遺伝要因が大きく関与していることは多くの研究結果から明らかになっている。この他に冬生まれ、胎児期の極度の栄養障害、思春期での大麻の使用や放射線障害など環境要因もリスクになっているが、これらに比べて第 1 度近親者が統合失調症であることのほうが大きなリスク要因である。このようなことから、ゲノム情報に基づいて関連遺伝子を同定することは統合失調症の病因・病態に大きく寄与することが期待されてきた。その一方で、統合失調症のゲノム研究は確実な成果が得にくいことも知られていた。その理由は、疾患特異的な生化学的・病理学的手法がかりがなく、細胞レベルの実験や中間表現型を利用した研究に確実な根拠がないこと、個々の遺伝子多型が発症に及ぼす影響力は小さいことが予想されること、比較的大きな影響力を持つ場合でも家系により関係する遺伝子が異なることなどが予想されることなどであった。これらの困難に対応するには大きなサンプルサイズが前提となる。しかし、それまで比較的大きなサンプルサイズの研究は複数の国にまたがって対象を求めており、研究結果の不一致が民族差によるものかどうかの結論も出にくい状況であった。

ゲノムプロジェクトの成果と大規模なゲノム解析が可能になりつつあることを予測して、日本では 1997 年よりオールジャパン体制で統合失調症の罹患同胞対家系を収集する研究グループ JSSLG (Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group)が形成され、家系の収集に努めてきた。さらに大規模な症例・対照解析を可能にするサンプル収集にも努め、本研究実施中に JIRAS (Japanese Genetics Initiative for Replicating Association of Schizophrenia)として、5000 人以上の統合失調症の症例・対照解析が可能な体制を整えた。本研究では JSSLG を中心として、当時可能であった、(1)連鎖解析、(2)マイクロサテライトマーカーによるゲノムワイドスクリーニング、(3)本研究期間中に可能になるであろうゲノムワイド一塩基多型(SNP)関連解析の 3 つの方法でゲノムワイドに関連遺伝子を同定すること、および、当時すでに可能であった(4)トランスクリプトーム解析や(5)プロテオミクス解析に基づいて関連遺伝子の候補を絞り込む、の 5 つの方法で関連遺伝子を同定することを構想した。また、ゲノム情報による統合失調症のテーラーメイド医療の可能性を探るため、本研究期間中に可能になるであろうゲノムワイド SNP 解析を用いて(6)抗精神病薬反応性や(7)副作用脆弱性に関する研究を組み込んだ。

### 研究の実施と成果

この構想に基づき、研究グループを組織し、各々分担課題に取り組んだ。

#### 1. 日本人の統合失調症連鎖解析とその結果に基づく統合失調症関連遺伝子の同定

日本人の統合失調症の罹患同胞対 236 家系、268 同胞対の連鎖解析を行い、1p21.2-1p13.2 (LOD = 3.39)に有意な連鎖領域を、14q11.2 (LOD = 2.87)、14q11.2-q13.2 (LOD = 2.33)、および 20p12.1-p11.2 (LOD = 2.33)に示唆レベルの連鎖領域を同定した。(なお、本研究報告後に、本研究も含めて世界で発表された 32 のゲノムワイド連鎖解析 3,255 家系の結果がメタ解析された。その結果、本研究で同定された 1p の連鎖領域は 10 の可能性のある連鎖領域の 1 つに入っている。しかし、他の領域はメタ解析の結果では有望な領域には残らなかった。)同定された連鎖領域を 3,072 の SNPs で連鎖解析対象家系を含めた 160 家系 480 人を対象に伝達連鎖不平衡解析 (TDT)を行い、関連 SNPs の候補を選択し、さらに 576 人ずつの症例・対照解析で確認し、確認された SNPs をさらに 1344 人ずつの症例・対照解析で確認する、という 3 段階の独立したサンプルを用いた replication 法により関連遺伝子を絞った。その結果、*NTNG1* 遺伝子が関連遺伝子の 1 つとして同定された。*NTNG1* 遺伝子はネトリン G1 をコードし、グルタミン酸神経系の発生や維持に関わっている重要な候補遺伝子であり、すでに本研究参加者の吉川グループから統合失調症との関連は報告されていたものであった。

## 2. マイクロサテライトマーカーによる統合失調症ゲノムワイド関連解析

約 3 万個のマイクロサテライトマーカーについて、罹患群、健常群の 157 検体ペアからなる 1 次サンプルで解析し、有意差が認められたマーカー 2,966 個については、プールした 2 次サンプル (罹患群、健常群の 150 検体ペア) で同様の解析を行い、1,019 個のマーカーについて有意差を認め、さらに 3 次サンプル (罹患群、健常群の 150 検体ペア) を用いた解析を行い、352 個に有意差を認めた。各スクリーニング間で出現するアレルの再現性の検討などにより、さらにマーカー 59 個を選択してその周辺約 200 kb の領域内の 1,564 個の tagSNP を HapMap 日本人集団のデータをもとに選択し、1 次、2 次、3 次サンプルを集積した罹患群、健常群のタイピングを行った。その結果 1,394 個の SNP で結果が得られ、167 個について有意差を認めた。それらの SNP のうち 98 個は遺伝子内に、69 個は遺伝子間に位置していた。この中からアレル、ゲノタイプ、トレンド、優性モデル、劣性モデル検定のなかの複数で有意差が見られた 31 個の SNP について、1 次、2 次、3 次サンプルとは独立の約 2,450 ペアの検体を用いて確認のためのタイピングを行った。その結果 1 個の SNP で有意差が見られた。さらに周辺の 6 個の SNP のタイピングを全サンプル約 2,900 ペアで行ったところ、先に有意差が見いだされた *SLC23A3* の 5' 上流領域の SNP とともに、*SLC23A3* の 5' 側に位置している *C2orf24* の 3' 下流、およびそのコード領域内の SNP にも有意差が見られた (rs13404754: P = 0.004, rs6436122: P = 0.026, rs1043160: P = 0.012)。両遺伝子とも中枢神経系での発現が観察されている。*SLC23A3* は solute carrier family 23, member 3 をコードしており、ヌクレオバーストランスポーターの機能を持つ。*C2orf24* は機能未知の 410 アミノ酸をコードする遺伝子であった。

## 3. ゲノムワイド関連解析による統合失調症関連遺伝子の同定

Illumina Human-1 および HumanHap370 チップを用いて 604 人の統合失調症患者を対象に遺伝子型決定を行い、JSNP データベースとの比較により P < 0.001 以下で既知の遺伝子の 100 kb 以内の 176 SNPs を選び、576 人ずつの症例・対照解析で確認し、P < 0.05 の基準で確認された 17 SNPs をさらに 1344 人ずつの症例・対照解析で確認する、という 3 段階の独立したサンプルを用いた replication 法により関連遺伝子を絞った。

その結果、*SLC1A1* 遺伝子 (神経細胞型グルタミン酸トランスポーターをコード)、*SMARCA2* 遺伝子 (BRM をコード)、*PPP3CC* 遺伝子 (カルシニューリンのサブユニットをコード)、*ADCYAP1* 遺伝子 (下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチドをコード)、その他 3 つの遺伝子との関連が示された。全解析 SNP30 万で補正しても 1 SNP は有意であった (P =  $1.27 \times 10^{-7}$ )。他の関連 SNPs はゲノムワイドレベルでの有意水準までは届かなかったが、replication sample でのみの補正では有意であった。この中で 3 遺伝子は統合失調症との関連についてすでに報告のあるものであり、また、残りのうち、1 遺伝子は現在進行中のヨーロッパ人でのゲノムワイド関連解析で可能性のあるものとして残っているものであった。

ゲノムワイド関連解析で同定されたもっとも有意な関連遺伝子は *SMARCA2* 遺伝子であった。*SMARCA2* 遺伝子は SWI/SNF ファミリーの BRM をコードしており、クロマチンリモデリングに関わって他の遺伝子の発現調節に関係している。関連 SNPs は 2 つの独立した連鎖不平衡ブロックにあり、各々リスクアレルは *SMARCA2* 遺伝子の低発現、および、核内移行不全と関連していた。また、*SMARCA2* 遺伝子の siRNA を発現させた培養細胞、および、*Smarca2* ノックアウトマウスの前頭葉での他の遺伝子発現の変化は統合失調症死後脳での遺伝子発現の変化と正の相関があり、統合失調症での遺伝子の発現の変化の一部はこの遺伝子の発現低下によるものと推測された。*Smarca2* ノックアウトマウスは統合失調症のモデル行動を示し、さらに、薬理的な統合失調症モデルで *Smarca2* 遺伝子の発現は低下し、抗精神病薬治療で発現は上昇した。このことから、*SMARCA2* は統合失調症の病態の鍵分子の 1 つであることが明らかとなった。

## 4. common disease rare variant 仮説に基づく統合失調症の関連遺伝子の同定

本研究は統合失調症の Common disease common variant 仮説を中心に計画しているが、common disease rare variant 仮説による症例 (家系) も存在することは次第に明らかとなっている。de novo の染色体相互転座を持つ統合失調症患者を解析し、ある遺伝子が切断されているこ

とを同定し、これを *DISCM* 遺伝子と名付けてさらに解析を続けている。また、重症例のリシークエンスにより、ある酵素をコードする遺伝子の稀なフレームシフト変異を同定し、変異をもっている患者ではその酵素の終末代謝産物が増加し、その生成阻害に動員される中和物質が健常者に比べて有意に低下していた。この発見をきっかけに、酵素活性や血中の終末代謝産物レベルが統合失調症のバイオマーカーとなり得ることを明らかにし、それをもとにした治療法についての研究体制を整えた。

また、統合失調症罹患者 6 名を含む 15 名の大家系について連鎖解析を行い、4q34.1 に有意な連鎖領域を検出した。ハプロタイプ解析により 8 cM にわたって罹患者に共有されているハプロタイプが検出された。

## 5. 統合失調症の死後脳の遺伝子発現プロファイルによる候補遺伝子の検出と関連遺伝子の同定

統合失調症およびコントロール死後脳の前頭前野での発現解析により有意な 115 遺伝子を同定し、それらの遺伝子のプロモーター、5'領域の SNP を統合失調症の候補 SNP として関連解析を行い、*PDLIM5* 遺伝子の 2 SNPs と統合失調症との関連を発見した。*PDLIM5* 遺伝子は統合失調症の死後脳で発現が高く、関連 SNPs のリスク遺伝子型の人には死後脳でこの遺伝子が高発現であった。また、動物実験では、メタンフェタミンにより *Pdlim5* 遺伝子の発現は増加し、抗精神病薬により発現は低下した。さらに、*Pdlim5* 遺伝子ノックアウトマウスを作製し、解析したところ、*Pdlim5* ノックアウトヘテロマウスはメタンフェタミンに対する反応が低かった。ヒトおよびマウスの研究より *PDLIM5* の発現量が精神病状態や治療の分子基盤として関わっていることが示された。

## 6. 統合失調症の神経発達障害モデルラットの前頭葉におけるプロテオーム解析

ラットの統合失調症発達障害仮説モデルである新生仔期腹側海馬傷害ラットのプロテオーム解析を行い、思春期前後とも synaptosomal associated protein 25 kDa (SNAP-25) と  $\alpha$ -synuclein、および  $\beta$ -synuclein が増加していた。抗酸化ストレスタンパク質である Cu-Zn superoxide dismutase も思春期前後で増加していた。phosphoglycerate mutase B chain、 $\alpha$ -enolase、および triosephosphate isomerase といった解糖系や ubiquinol-cytochrome-c reductase、ATP synthase といった電子伝達系などエネルギー代謝に関連するタンパク質は、思春期後のみで増加していた。これらは統合失調症の発症後の陽性症状と関連する異常を反映していると考えられた。

## 7. 統合失調症患者の抗精神病薬による効果・反応性に関するゲノムワイド関連解析

服薬歴がない統合失調症患者を対象に抗精神病薬であるリスペリドンの反応性について Illumina Human-1 チップを用いてゲノムワイド関連解析を行い、临床上十分有用な予測式が策定可能な NOS2A 遺伝子にある SNP を同定した。

## 8. 抗精神病薬の副作用脆弱性に関連する遺伝子の同定

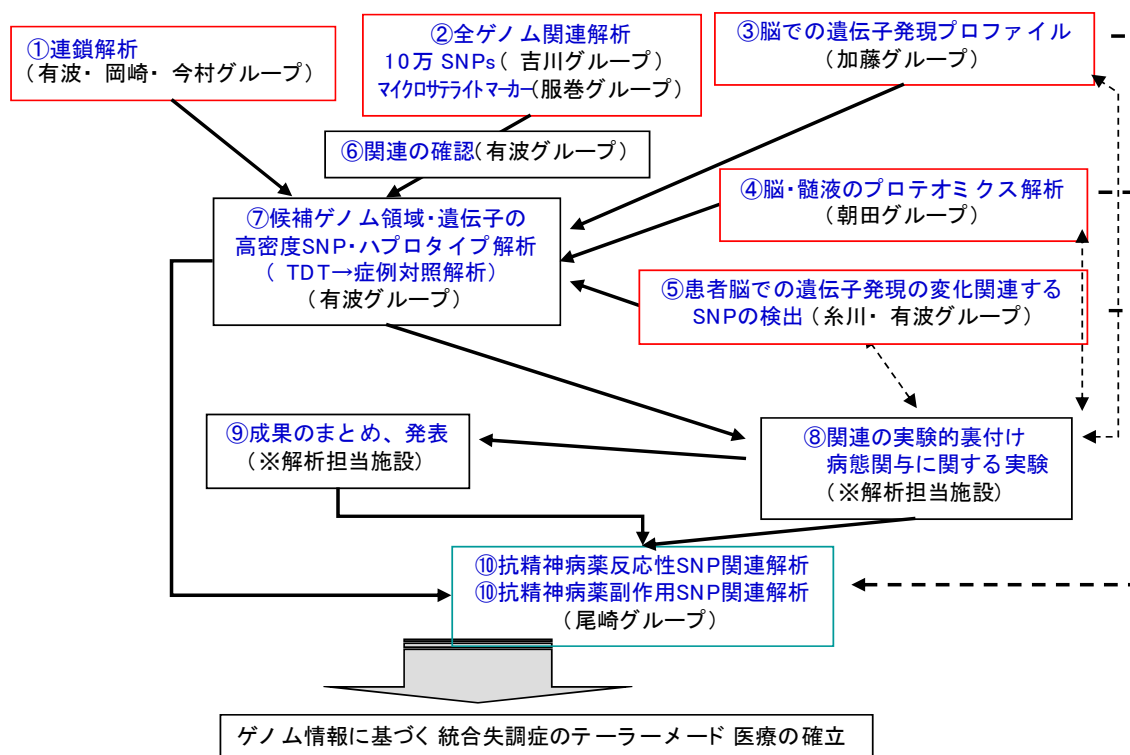
抗精神病薬の副作用の 1 つである遅発性ジスキネジアについて、Illumina Human-1、および HumanHap370 で解析を行い、さらに別のサンプルで確認して、次の結果を得た。遺伝子単位で有意な SNPs は GABA シグナル伝達系のタンパク質をコードしている遺伝子に有意に集積していた。また、Perlecan をコードしている *HSPG2* 遺伝子と遅発性ジスキネジアは関連しており、ノックアウトマウスなどでの実験により、通常抗精神病薬で増加する Perlecan が増加しないことが遅発性ジスキネジアのリスクになることが推測された。これらの結果はこれまで遅発性ジスキネジアに部分的に有効とされている薬剤の機序とも関わっており、遺伝子型に応じた治療薬選択の可能性を示している。

## § 2 研究構想及び実施体制

### (1) 研究構想

統合失調症に関してオールジャパンの体制でサンプル収集を行い、十分なパワーと利用できる手段を取り入れて解析することを目指し、連鎖解析、ゲノムワイド関連解析(マイクロサテライトマーカーと SNP)、死後脳のトランスクリプトーム解析とプロテオーム解析、治療反応性と副作用脆弱性の各々について解析することを目指した。

研究開始時(平成 15 年)の研究構想と実施体制



平成 15 年度策定の研究の主なスケジュール

項目	平成 15 年度 (6 ヶ月)	平成 16 年度	平成 17 年度	平成 18 年度	平成 19 年度	平成 20 年度
設備の整備						
サンプルの収集 罹患同胞対、TDT						
サンプルの収集 薬物反応、髄液						
死後脳の RNA、タ ンパク質試料の調 整						
全ゲノム SNP 解 析、連鎖解析、関連 解析						
全ゲノムマイクロ サテライト解析						
死後脳の遺伝子発 現解析						
スクリーニングさ れた遺伝子の変異 解析と機能解析						
テーラーメイド医 療のための SNP 解 析						
まとめ						

サンプルの収集は順調に進み、1 つの国のサンプル数としては研究終了時も世界最大規模である。脳、髄液のプロテオミクス解析はサンプル収集の困難があり、予定通りには進まなかった。他は、ほぼ平成 15 年時の構想のとおりの研究を実施した。研究実施期間は、新規のチップの開発があり、全ゲノム SNP 解析、連鎖解析、関連解析、全ゲノムマイクロサテライト解析の項目が研究期間全体に及んだ。また、研究終了となっている項目では、同定した関連遺伝子の機能解析のため、動物実験などを行った。

研究終了時の研究スケジュール

項目	平成 15 年度 (6 月)	平成 16 年度	平成 17 年度	平成 18 年度	平成 19 年度	平成 20 年度
設備の整備						
サンプルの収集 罹患同胞対、TDT				中国サンプル		
サンプルの収集 薬物反応、髄液						
死後脳の RNA、タンパク質試料の調整						
連鎖解析とそれに続く関連解析					未知遺伝子の同定	機能解析
ゲノムワイド関連解析				100K	370K	確認
全ゲノムマイクロサテライト解析		スクリーニング			関連遺伝子の同定	確認
死後脳の遺伝子発現解析			遺伝子改変マウス	作成	解析	治療法への応用
抗精神病薬反応性ゲノムワイド解析						
抗精神病薬副作用ゲノムワイド解析					動物による確認	モデル動物の確立
まとめ						

(2)実施体制

グループ名	研究代表者又は主たる共同研究者氏名	所属機関・部署・役職名	研究題目
有波グループ	有波忠雄	筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授	研究代表者 研究全体の総括 連鎖解析、ゲノムワイド関連解析、タイピングなど
岡崎グループ	岡崎祐士	東京都精神医学総合研究所・精神疾患研究系統合失調症研究部門、都立松沢病院・院長	連鎖解析家系収集の総括
服巻グループ	服巻保幸	九州大学・生体防御医学研究所・教授	マイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症の全ゲノム連鎖不平衡解析

尾崎グループ	尾崎紀夫	名古屋大学・大学院医学系研究科・教授	統合失調症患者の抗精神病薬による効果・反応性に関する研究統括。サンプルの収集と SNP データの解析、研究デザインの構築
岩田グループ	岩田仲生	藤田保健衛生大学医学部・教授	統合失調症の抗精神病薬反応性サンプルの収集と解析
稲田グループ	稲田俊也	財団法人神経研究所・副所長	統合失調症患者の抗精神病薬による副作用に関するサンプルの収集
糸川グループ	糸川昌成	東京都精神医学総合研究所精神疾患研究系統合失調症研究部門・プロジェクトリーダー	統合失調症患者の死後脳の mRNA およびタンパク質解析用サンプルの調製、稀な変異の解析
朝田グループ	朝田隆	筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授	統合失調症患者の臨床データと髄液サンプルの収集と解析
渡部グループ	渡部雄一郎	新潟大学・大学院医歯学総合研究科・助教	サンプル採取と家系解析
氏家グループ	氏家寛	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授	統合失調症の症例・対照サンプルの収集
吉川グループ	吉川武男	理化学研究所・脳科学総合研究センター 分子精神科学研究チーム・チームリーダー	罹患同胞対家系及び TDT 用の家系収集、および SNP 解析
加藤グループ	加藤忠史	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・グループリーダー	死後脳のトランスクリプトーム解析
今村グループ	今村明	長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・講師	連鎖および連鎖不平衡・関連の確認のためのサンプル収集およびその臨床データの解析、多施設よりの収集サンプルの二次匿名化と集配
Yong-hua Han グループ	Yong-hua Han	Peking University, The first department of the institute of mental health・主任医師	中国人の TDT 用の家系収集



### § 3 研究実施内容及び成果

#### 3. 1 連鎖解析とそれに続く連鎖領域内の関連遺伝子の同定(筑波大学有波グループ、都立松沢病院岡崎グループ、長崎大学今村グループ、他 JSSLG)

##### (1)研究実施内容及び成果

日本人の統合失調症の罹患同胞対 236 家系、268 同胞対の連鎖解析を行い、1p21.2-1p13.2 (LOD = 3.39) に有意な連鎖を、14q11.2 (LOD = 2.87)、14q11.2-q13.2 (LOD = 2.33)、および 20p12.1-p11.2 (LOD = 2.33) に示唆レベルの連鎖領域を同定した。1p の連鎖領域は本研究報告(AJHG, 77: 937-944, 2005)後に、世界で発表された 32 のゲノムワイド連鎖解析 3255 家系の結果がメタ解析され、10 の可能性のある連鎖領域の 1 つに入っている。同定された連鎖領域を 3,072 の SNPs で連鎖解析対象家系を含めた 160 家系 480 人を対象に伝達連鎖不平衡解析(TDT)を行い、関連 SNPs の候補を選択し、さらに 576 人ずつの症例・対照解析で確認し、確認された SNPs をさらに 1344 人ずつの症例・対照解析で確認する、という 3 段階の独立したサンプルを用いた replication 法により関連遺伝子を絞った。その結果、*NTNG1* 遺伝子が関連遺伝子の 1 つとして同定された(rs628117, アレル P = 0.0009)。

##### (2)研究成果の今後期待される効果

本研究の連鎖解析は発表時、世界最大規模の家系数であった。このデータは、メタ解析にも使われ、本結果で連鎖が示された領域は有望な連鎖領域の 1 つとなっている。本研究では、連鎖解析の後に関連遺伝子の探索を行い、すでに日本から報告された遺伝子であったが、関連遺伝子を同定した。しかし、大きいオッズ比を示す関連遺伝子は同定されなかった。収集した連鎖家系と連鎖解析の結果はこの領域のリシーケンスが容易にできるようになったときに家族例に見られる変異の発見に有用と予想される。

#### 3. 2 ゲノムワイド関連解析による統合失調症関連遺伝子の同定(筑波大学有波グループ、他、JIRAS)

##### (1)研究実施内容及び成果

Sentrix® Human-1 Genotyping BeadChip (Illumina)および HumanHap370 を用いて 604 人の統合失調症患者を対象に遺伝子型決定を行い、JSNP データベースとの比較により  $P < 0.001$  以下で既知の遺伝子の 100 kb 以内の 176 SNPs を選び、576 人ずつの症例・対照解析で確認し、 $P < 0.05$  の基準で確認された 17 SNPs をさらに 1344 人ずつの症例・対照解析で確認する、という 3 段階の独立したサンプルを用いた replication 法により関連遺伝子を絞った。

ひとつの関連遺伝子は *SLC1A1* 遺伝子で神経細胞型グルタミン酸トランスポーターをコードしている遺伝子であった。1 つの連鎖不平衡ブロック内の複数の SNPs と統合失調症は関連していた(アレル  $P = 3.2 \times 10^{-5}$ )。死後脳の解析では前頭前野でリスク遺伝子型は *SLC1A1* 遺伝子の発現亢進と関連していた。また、関連の一部は日本人に特に多いコピー数多型が関わっていると推測された。

ゲノムワイド関連解析で同定されたもっとも有意な関連遺伝子は *SMARCA2* 遺伝子であった。*SMARCA2* 遺伝子は SWI/SNF ファミリーの BRM をコードしており、クロマチンリモデリングに関わって他の遺伝子の発現調節に関係している。神経細胞分化や神経系特異的なクロマチンリモデリングに関わっていることがすでに報告されていた。2 つの連鎖不平衡ブロックの多型と統合失調症は関連していた。各々のアレル P 値は  $1.27 \times 10^{-7}$  と  $5 \times 10^{-5}$  であった。前者はイントロン多型で死後脳解析ではリスク遺伝子型は *SMARCA2* 遺伝子の低発現と関連していた。また、後者はミスセンス多型で、GFP 融合タンパク質を作製して、細胞局在を調べたところ、リスクアレルは核内移行が不十分だった。また、グリオブラストーマ細胞株に *SMARCA2* 遺伝子の siRNA を発現させて *SMARCA2* 遺伝子を発現低下させたときの他の遺伝子の発現プロファイルは、防御アレルを発現させたときに

比べてリスクアレルを発現させたときの他の遺伝子の発現プロファイルと有意に正に相関していた。その結果、両連鎖不平衡ブロックの多型に共通のリスクアレルの機能は BRM の機能低下と推測された。統合失調症との関係を見るためにスタンレー財団のデータベースに掲載されている統合失調症の死後脳での遺伝子発現が変化している遺伝子とその発現変化量を、グリオブラストーマ細胞株に *SMARCA2* 遺伝子の siRNA を発現させて *SMARCA2* 遺伝子を発現低下させたときの他の遺伝子の発現プロファイルと比較した。その結果、有意に正に相関しており、統合失調症で観察されている遺伝子発現の変化の一部は BRM の機能低下が関係していると推測された。さらに、*Smarca2* ノックアウトマウスで前頭葉で発現変化しているヒトのオロログ遺伝子も統合失調症死後脳での遺伝子変化と有意に正に相関していた。また、*Smarca2* ノックアウトマウスで前頭葉で発現変化しているヒトのオロログ遺伝子を *Inguinity Pathway analysis* で解析すると、もっとも有意に関連している疾患は統合失調症であった。また、*Smarca2* ノックアウトマウスは統合失調症のマウスモデルの行動である社会的相互作用は少なく、感覚運動情報制御機構の障害を客観的にとらえる手段の 1 つであるプレパルス抑制は障害されていた。これらのことは遺伝子多型による BRM の機能低下が統合失調症の多彩な分子変化の一部の原因となっていることを示唆している。しかし、遺伝子多型による機能変化は比較的小さく、BRM 分子の統合失調症における役割は遺伝子関連だけでは小さいように思われるが、マウスに統合失調症様症状を惹起するメタンフェタミンや NMDA 受容体の非競合性拮抗薬(MK-801)を投与すると *Smarca2* 遺伝子は発現低下し、ハロペリドールやオランザピンといった抗精神病薬を投与すると発現が上昇した。このことは何らかの原因で体内環境が精神病状態になったときに BRM が低下し、それがさらに多くの分子の発現変化を与えて、統合失調症の多彩な病態を形成する病態が推測され、BRM が統合失調症の病態の鍵分子の 1 つであることを示唆していた。

この他の同定された関連遺伝子は、すでに関連遺伝子として報告されている遺伝子や酸化ストレスに関わる遺伝子、細胞膜輸送に関わる分子をコードしている遺伝子、などであった。

使用したゲノムワイド関連解析用チップではカバーされていない領域も 20%ほどあり、その領域の候補遺伝子を補足解析してゲノムワイド関連解析を補った。そのうちのひとつはカナビノイド受容体 2 型遺伝子(*CNR2*)であった。マリファナは統合失調症のリスクファクターである。マリファナの中枢神経系に対する影響は主に受容体の 1 つである *CNR1* を介しているが、統合失調症との関連は否定する報告も多い。*CNR2* 遺伝子については解析がなされていなかった。本研究による関連解析により、ミスセンス多型(アレル  $P = 1.5 \times 10^{-4}$ ) および *CNR2* 遺伝子の発現調節のマーカである SNP(アレル  $P = 2.6 \times 10^{-3}$ )との関連が示唆された。ミスセンス多型は細胞発現実験により、リスクアレルは内因性リガンドで反応が低下している機能低下型と推測された。また、この遺伝子の発現調節に *cis* に関わっている多型が存在していることがゲノムワイド発現解析で示されているが、脳においても発現調節に関わっているマーカ SNP を同定し、死後脳で発現低下がリスク遺伝子型であった。このように 2 種類の機能低下型の SNPs が統合失調症と関連しており、中等度の連鎖不平衡の状態であったので、ハプロタイプ解析をすると機能低下型のアレルが載ったハプロタイプと統合失調症が関連していた( $P = 7.5 \times 10^{-7}$ )。これを次のように動物レベルで確認した。*CNR2* アンタゴニストを投与すると MK-801 によるプレパルス抑制がさらに有意に悪化した。また、ノックアウトマウスでは MK-801 によるプレパルス抑制がさらに悪化した。メタンフェタミンの投与でも同様の結果であった。これらのことは、*CNR2* の機能低下は統合失調症のリスクになることを示していた。

上記の統合失調症と関連する *SMARCA2* 遺伝子と *CNR2* 遺伝子の多型はミスセンス多型であり、ともに他のほ乳類で保存されている領域であった。そこで系統発生的に検討してみると、リスクアレルが他のほ乳類でワイルドタイプであった。さらにもう一つ同定したミスセンス多型も同様であった。このことはヒトの進化の途中で統合失調症に対する防御的にアレルが起こったことを意味している。統合失調症はヒトの進化上の脳の巨大化に付随

して起こった負の性質とする見方がある。すなわちヒトの創造性と引き替えの負の部分とする見方である。ゲノムから見るとヒトの進化とともに統合失調症関連遺伝子が出現したはずである。一方、統合失調症に罹患するとこどもの数は少なく、統合失調症関連遺伝子には強い選択圧が働くと推測される。この矛盾を説明するデータはないが、現生人類の誕生の前に多くの原人が存在し、脳が次第に大きくなったことを考えれば、多くの遺伝子の変化が関わっていると推測される。一方、人類進化の間に人類に備わった統合失調症という負の性質を抑制する変異が出現して、それが次第に増えていった過程もあり得、本研究はそれらを明らかにした可能性がある。すなわち、*SMARCA2* 遺伝子と *CNR2* 遺伝子は統合失調症のリスク遺伝子ではなくて、防御遺伝子と考えることもできる。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

*SMARCA2* 遺伝子と統合失調症との関連は統合失調症の病因・病態に関するエピジェネティックな機序にひとつの新しい視点を開くものである。*CNR2* 遺伝子と統合失調症との関連は統合失調症の病因・病態に関する1つの大きな分野である神経免疫系の関与についての足がかりとなる。*CNR2* 遺伝子との関連は治療選択薬の新たな可能性を示すだけでなく、この分子が注目されている神経免疫反応と統合失調症の関係の鍵となる可能性を示している。

### 3.3 マイクロサテライトマーカーによる統合失調症のゲノムワイド関連解析(九州大学 服巻グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

約3万個のマイクロサテライトマーカー(マーカー間平均距離108 kb、平均ヘテロ接合度0.67)につき、時間及び費用の削減を図るために、罹患群、健常群の157検体ペアをそれぞれプールして1次サンプルを調製し、これを用いて関連解析を行った。有意差検定には2x2および2xmのカイ二乗検定法を用いて有意水準を $p < 0.05$ に設定した。その結果、合計28,095個のマーカーについてデータが得られ、その中で有意差が認められたマーカー数は2,966個(10.6%)であった。これらのマーカーにつきプールした2次サンプル(罹患群、健常群の150検体ペア)で同様の解析を行い、1,019個のマーカーについて有意差を認めた。さらにこれらのマーカーにつき3次サンプル(罹患群、健常群の150検体ペア)を用いた解析を行い、1,014個のマーカー中352個(34.7%)につき有意差を認めた。各スクリーニング間で出現するアレルの再現性の検討などにより、さらにマーカー59個を選択した。これらのマーカーの周辺約200 kbの領域内の1,564個のtagSNPをHapMap日本人集団のデータをもとに選択し、1次、2次、3次サンプルを集積した罹患群、健常群のタイピングを行った。その結果1,394個のSNPで結果が得られ、167個について有意差を認めた。それらのSNPのうち98個は遺伝子内に、69個は遺伝子間に位置していた。この中からアレル、ゲノタイプ、トレンド、優性モデル、劣性モデル検定のなかの複数で有意差が見られた31個のSNPについて、1次、2次、3次サンプルとは独立の約2,450ペアの検体を用いて確認のためのタイピングを行った。その結果1個のSNPで有意差が見られた。さらに周辺の6個のSNPのタイピングを全サンプル約2,900ペアで行ったところ、先に有意差が見いだされた*SLC23A3*の5'上流領域のSNPとともに、*SLC23A3*の5'側に位置している*C2orf24*の3'下流、およびそのコード領域内のSNPにも有意差が見られた(rs13404754:  $p = 0.004$ , rs6436122:  $p = 0.026$ , rs1043160:  $p = 0.012$ )。両遺伝子とも中枢神経系での発現が観察されている。*SLC23A3*はsolute carrier family 23, member 3をコードしており、ヌクレオベーストランスポーターの機能を持つ。*C2orf24*は機能未知の410アミノ酸をコードする遺伝子である。

マイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症のゲノムワイドな連鎖解析は多数報告されており、上記有意差が認められたSNPから12 Mb離れた領域にLOD値で4.43の連鎖が観察されている(Paunio et al., 2001)。しかし今回用いたような約3万個からなる高密度なマイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症のゲノムワイド関連解析(GWAS)

はこれまで報告がない。ただし 444 個のマイクロサテライトマーカーを用いて家族サンプルについて伝達不平衡解析を行い、11q11-13 に関連を見いだした Yamada らの報告はある (2004)。しかし今回の解析で有意差がみられた SNP は 2q35 に位置するため、これには一致しない。一方、最近報告された SNP を用いた 2 つの GWAS の報告においては、上記 *SLC23A3* や *C2orf24* の記載はない (Sullivan et al., 2008; O'Donovan et al., 2008)。また統合失調症関連遺伝子のデータベースである Schizophrenia Research Forum のデータベースにおいても、本遺伝子はリストされていない。従って、今回見いだされた遺伝子は、新たな疾患感受性遺伝子候補と考えられる。

#### (2) 研究成果の今後期待される効果

*C2orf24* のコード領域内の有意差が見られた SNP は Ile から Thr へのミスセンス変異であり、アミノ酸の極性が変化する。プロテクトブアルレルは Thr をコードしており、罹患者群、健常群ではそのアレル頻度はそれぞれ 0.245, 0.266 である。本遺伝子自体の機能は不明であるが、本多型が機能に影響を与えている可能性はあり、本遺伝子の機能とともに SNP の意義付けが今後の課題である。

確認タイピングが終了している SNP の位置する遺伝子は 11 個であり、残り 87 個の遺伝子がまだ残されているが、上記 GWAS の報告でリストされている p 値の低い SNP を有する遺伝子は含まれていない。今回の解析において、1,349 個の SNP のタイピングデータから大規模サンプルによる確認関連解析への選択に際しては、p 値の低さや、複数の検定での有意差を考慮して 31 個を選択した。今後は、これから集積される GWAS データを参考に、今回の 167 個の SNP から確認解析のための再選択を行うとともに、3 次スクリーニング後のマイクロサテライトマーカー選択の再検討を行うことが考えられる。最終的にはこれらを基に、大規模サンプルでの新たな関連解析を行うことにより、日本人集団での統合失調症の疾患感受性遺伝子同定へとつながることが期待される。

本疾患の分子基盤の解明により、遺伝子型に基づく客観的な診断基準の確立や、薬剤の選択、開発、さらには発症の予防法の確立が期待できる。また他の精神疾患の解析を促すことが考えられるとともに、「こころ」の分子基盤の解明の一助となる可能性がある。

### 3. 4 common disease rare variant 仮説に基づく統合失調症の関連遺伝子の同定 (東京都精神医学総合研究所 糸川グループ)

#### (1) 研究実施内容及び成果

##### 【*DISC1* 遺伝子の解析: common disease common variant 仮説の再検討】

稀な遺伝病では、家系ごとに変異が異なっているが、これは発症により変異が次世代に伝わらないためではないかと考えられている。一方、Common disease では変異 (多型) が次世代に伝わり、変異を生じた祖先の多型が広がって患者群で共有されると考えられている (common disease common variant: CDCV 仮説)。そこで、責任多型は共通の祖先から伝わったので周辺多型と連鎖不平衡 (LD) が保存されているとされ、LD ブロックごとに代表多型の case-control study を行うことが主流となっている。我々は、この仮定を疑い LD ブロックごとに代表多型を選ばず、遺伝子全長全ての塩基配列を解析した (resequence)。対象遺伝子は、近年もっとも有望とされる *DISC1* を選んだ。昨年度は家系内に 2 名以上統合失調症を発症している松沢病院の患者 50 例を用い、3 つのアミノ酸置換を伴う多型を含む 25 もの新規多型を同定した。今年度は、松沢の検体に岡山大学と大阪大学の検体を加え 479 例の統合失調症と 304 例の健常者を用いた。驚いたことに、さらに 7 つのミスセンス変異を新規に同定し、そのうち 3 つは患者でしか検出されなかった。LD ブロック内に連鎖不平衡を外れた挙動をする稀な多型が多数存在し、疾患と関連するものや、疾患でしか検出されない「強い効果」の多型が存在する可能性が示唆された。今回の結果は、CDCV 仮説に反し common disease multiple rare variants 仮説を支持した。

### 【*ABCP*遺伝子の解析】

*ABCP* について、多発家系の発端者を用いた resequence を行った結果、一卵性双生児の発症一致例にフレームシフト変異を同定した。

【症例】60 歳、男性。【生活歴】3人同胞の第2子として出生。内気で小心だった。中学まで成績は普通だったが、発病により高校を中退し、就労したこともない。【既往歴】5歳;てんかん発作。7歳;肺門リンパ節炎。【家族歴】長男が自殺。双生児の弟が統合失調症。母親の弟2名が統合失調症。【現病歴】高校入学ごろより同級生の女性を自分の双子であるなどの妄想が出現し、精神科に通院を始めたが、「マイクで自分の行動を探られている」「注射針が服に隠し入れられた」といって服を破くなど妄想状態が悪化し入院した。以後4回の入院歴がある。26歳の時には「父親はキッシンジャーだ」とか、「顔はそっくりだが父は入れ替わっている偽者」といった Capgras 症候群が出現。母親と兄弟についても同症候群の対象になって暴力をふるい、警察が呼ばれることがたびたびあった。43歳のとき、母親が他人とすり替わっているとして殺害し逮捕され、松沢病院へ措置入院した。

現在までに *ABCP* に関して、以下の知見を明らかにしている。(1) *ABCP* 遺伝子の exon 1 と exon 4 に位置する2ヶ所のフレームシフト変異を約 2,000 例中 3 例(統合失調症群:2 例;対照群:1 例)に同定した。(2) これらフレームシフト変異は、*ABCP* 遺伝子の酵素活性を約 50%にまで低下させている。(3) 活性中心ドメイン近傍に位置するミスセンス変異(Glu>Ala)を統合失調症患者のみ7例に同定した。このミスセンス変異(Ala ホモ接合体)によっても酵素活性の 20-30%減少が認められた。(4) 約 860 例の対照者にはこのミスセンス変異は検出されなかった。(5) *in vivo* で明らかにした酵素活性の低下について、GFP-tagged 融合タンパク質(フレームシフト型、ミスセンス型)を利用して、*in vitro* 系で活性を確認した結果、Ala 型は Glu 型に比べ約 16%低い酵素活性を示し、フレームシフト型の酵素活性は完全に消失していた。これらの結果は *in vivo* での所見と合致した。(6) 酵素活性の低下を認めた統合失調症患者では *ABCP* の機能障害によって、終末代謝産物(タンパク質・脂質・核酸修飾物質のひとつ)の血清中濃度が健常者の約 2-3 倍に増加した。(7) フレームシフト変異、ミスセンス変異を有する統合失調症の症例では、終末代謝産物の生成阻害に動員される中和物質が健常者に比べて有意に低下し、*ABCP* の活性低下による代謝カスケードが顕著に障害されていた。(8) フレームシフト変異を有した健常者 1 例では、酵素活性の顕著な低下が認められるものの、終末代謝産物及び中和物質レベルは正常範囲であった。この所見は、*ABCP* 代謝カスケードを代償するシステムの存在を示唆し、発症の抑制的側面を明らかにできる可能性が示唆された。(9) さらに、上記の Ala ホモ接合体 7 例を詳細に解析した結果、*ABCP* 代謝カスケードの障害によって、*ABCP* 代謝と密接に関連する別のカスケードが連動している予備的結果を得た。

以上の本研究によって、*ABCP* の機能低下と *ABCP* 代謝カスケードの障害が統合失調症における病態解明の新たな手がかりとなることをはじめて明らかにした。また、*ABCP* 活性や血中の終末代謝産物レベルが統合失調症のバイオマーカーとなり得ることを明らかにした。今後、*ABCP* 代謝カスケードの障害を回避する分子機序(代償システム)を考察することにより、これまでの抗精神病薬の作用機序からは予測できなかった全く新しい分子機序の発見と処遇困難な症例への治療戦略の確立が十分に期待できると考えられた。

### 【*DISCM*遺伝子の解析:転座症例からの同定】

#### 【症例および方法】

42 歳、男性。①生活歴:自営業の父の元に2人同胞の第 2 子として出生した。生来おとなしく、あまり社会適応の良い方ではなく、高校卒業後、職を転々としていた。酒を飲むと人が変わり、暴れて手がつけられなかった。②現病歴: 39 歳で親元を離れ一人暮らしを始めると間もなく、「自分は人造人間で国家に何度も殺された」「脳にマイクロチップを埋め込まれて、政府からコントロールされている」「自分の考えていることが人に知られている」「あやつられている」「盗聴されている」と被害妄想に支配されており、部屋には「殺人」「盗聴」などの張り紙が多数みとめられた。家賃滞納の催促に訪れた家主に暴行を働くなどし

て入院した。③身体疾患: 慢性肺病変・左腎臓に多発性嚢胞腎・右腎臓に珊瑚状結石・脾腫・強度近視。④家族歴: 3 親等以内に精神疾患罹患者はいない。父の 8 人同胞中 3 名が糖尿病、1 名は 6 歳で失明。母親の兄と母(祖母)が腎疾患に罹患。

転座切断点の決定には、対象症例 t(4;13)(p16.1;q21.32)とその両親からのリンパ球を EV virus による不死化し、株化細胞を培養した後に染色体標本とした。対象症例の切断点をカバーする複数の BAC クローンをデータベースより選定し、fluorescent in situ hybridization (FISH)法による解析を実施した。患者・対照研究には、統合失調症と診断された 202 例、年齢・性別比の一致した対照 187 例を対象とした。統合失調症の診断は、すべて DSM-IV(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, Fourth Edition)に基づいて実施した。遺伝子構造は、NCBI および UCSC データベースを利用して構築し、5'上流領域、exon/intron junction 領域、全翻訳領域についての変異・多型検索を実施した。遺伝子多型は、被験者から末梢血を採取後にフェノール・クロロフォルム法により DNA を抽出し、PCR-direct sequencing 法により決定した。同定した多型について、連鎖不平衡解析およびハプロタイプ解析を行った後に統計学的な解析を実施した。尚、本研究は、東京都精神医学総合研究所、都立松沢病院の倫理委員会の承認を得て、被験者にはインフォームドコンセントののち書面による同意を得て行われた。

#### 【結果および考察】

4 番および 13 番染色体の de novo 均衡転座を伴う統合失調症の孤発例について、FISH 法による切断点解析を実施した結果、切断点領域をカバーする BAC クローンを同定した。詳細な BAC コンテイングを構築したところ、4 番染色体の転座切断点を約 37.2kb 領域内に絞り込んだ。この染色体領域には既知遺伝子 (Disrupted In Schizophrenia-Matsuzawa, DISC-M) が存在した。DISC-M は、8つの exon から構成された genomic size 約 400kb の既知遺伝子であり、predicted break point 領域には、DISC-M の転写調節領域と exon 1 が含まれていた。一方、13 番染色体の転座切断点を約 149.9kb 領域内に絞り込んだがこの領域には既知遺伝子は存在しなかった。この結果から、DISC-M が本症例における精神疾患の発症と関連した可能性が示唆された。次に、同定した DISC-M について、孤発例全般における疾患との関連を明らかにするため、患者・対照研究を実施した。その結果、DISC-M は、2つの LD block で構成され、N 末側に位置する SNP1-2-3-4 のハプロタイプ頻度が患者群と対照群で有意に異なっていた (Global P = 0.004)。一方、C 末側に位置する SNP5-6-7-8 から成るハプロタイプ頻度には有意な差は認められなかった (Global P = 0.631)。このことから、DISC-M は転座症例のみならず、一般の統合失調症集団とも関連することが示唆された。今回、de novo 均衡転座 t(4;13)(p16.1;q21.31)を伴う統合失調症例の染色体切断点の FISH 法による解析から、4 番染色体短腕側の転座切断点を DISC-M 領域内に決定した。DISC-M は、各組織・器官の発生・分化・発達に重要な役割を果たす分子を調節する因子をコードしており、正常組織では、脳、肺、腎臓、脾臓での高い発現が見られる。興味深いことに、転座症例の身体合併病変は、DISC-M が高発現した組織と合致していた。これらの所見から、同じく高発現部位である脳においても何らかの異常が存在した可能性も推定され、これが本症例において統合失調症の発症と関連していた可能性も示唆された。患者・対照研究の結果、疾患との関連を認めたハプロタイプは、DISC-M の 5'上流領域および DISC-M の二量体形成に必須の N 末側ドメインをコードする exon 領域内に位置した。DISC-M の二量体化は、DISC-M interaction molecules との複合体を構成する際に必須のプロセスである。したがって、統合失調症孤発例での機能的 exon 領域内のハプロタイプが疾患と関連を示したことは、統合失調症の病態に DISC-M の二量体化を介した機能低下がリスクファクターとして働く可能性を示唆した。また、DISC-M の翻訳開始点から 417bp 上流に、新たな複数の反復配列で構成された領域 (complex polymorphic region, CPR) を同定し、予備的な検討の結果、多型性を示すことを明らかにしている。類似した CPR 構造は、脳由来神経栄養因子 (BDNF) 遺伝子に見いだされ、BDNF 転写活性を制御する機能的な多型として bipolar disorder と関連することが報告されている。今後、DISC-M の CPR によ

る転写活性への影響を検討するとともに疾患との関連を検討する予定である。本研究によって同定された DISC-M は、統合失調症の神経発達障害仮説を支持する新たな疾患感受性遺伝子のひとつであると考えられた。

#### 【SIM1 遺伝子の解析: common disease common variant 仮説の再検討】

SIM1(Single Minded 1)を、以下の4点から候補遺伝子として解析対象とした。(1)連鎖領域 6q16.2-q21 にコードされている。(2)6q16.2 の欠失により Prader-Willi 症候群(10%に精神病症状)類似の症例報告がある (Varela et al. 2006, Faivre et al. 2002)。(3)SIM1 のノックアウトマウスの脳を用いたマイクロアレイ解析で、DISC-M の発現が 1/8 に低下し(Caqueret et al. 2006)、SIM1 が DISC-M の転写調節因子である可能性が示唆される。(4)胎生期の神経発達に関与し神経発達仮説の観点から重要と考えられる。統合失調症 202 例、健常者 187 例を用いて re-sequencing を行ったところ、3つの変異(Gly203Cys, c.544-6A/C, c.743+98\_99del(AT))をそれぞれ 1 例ずつの患者から同定し、対照からは検出されなかった。Gly203Cys は 4 人同胞中 3 名が統合失調症、c.544-6A/C と c.743+98\_99del(AT)は母親が統合失調症という遺伝負因の強い家系の発端者であった。こうした稀な変異は比較的大きいオッズ比をもつ大きな遺伝子効果を持つ可能性が示唆された。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

DISCM については、新しい候補遺伝子として補助診断に役立つ可能性がある(糸川昌成、新井誠(2007)統合失調症の判定方法 [出願].特許庁、特願 2007-209412 [2007/08/10])。ABCP については、有害たんぱくがバイオマーカーとして補助診断に活用できる可能性、および中和分子が新しい治療薬となる可能性が期待される(糸川昌成、宮田敏男、新井誠(2007)統合失調症の検査および治療 [出願].特許庁、特願 2007-214047 [2007/08/20])。

### 3. 5 統合失調症の家系解析(新潟大学 渡部グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

統合失調症は、いくつかの遺伝的要因と他の要因が関与して発症する複雑遺伝疾患と考えられており、人種間や疾患内に遺伝的異種性が存在する可能性も指摘されている。本研究では、日本人における統合失調症感受性遺伝子座の解明のため、多発罹患家系において連鎖研究を行った。対象は、東日本にて見出された単一の統合失調症多発罹患家系であり、統合失調症罹患者 6 名を含む 15 名の家系構成者の遺伝子型を解析した。参加者全員に本研究の趣旨について十分に説明し、書面による研究参加への同意を得た。なお、この研究は新潟大学医学部遺伝子倫理審査委員会の承認のもとに行った。

全常染色体領域に平均 10.8 cM(センチモルガン)間隔で分布する 322 個のマイクロサテライトマーカーを、ABI377 ジェネティックアナライザーを用いて解析し、パラメトリックおよびノンパラメトリック連鎖解析を行った。パラメトリック連鎖解析は FASTLINK package プログラム内の MLINK プログラムを用い二点連鎖解析を行った。同時に 1000 回のシミュレーションにより得られた連鎖なしにおける LOD 値を同じプログラムで算出し、20 回あたりの解析に 1 回出現する最大の LOD 値(LOD 値 = 1.66)を有意な連鎖に相当する水準とし、1 回あたりの解析に 1 回出現する最大の LOD 値(LOD 値 = 1.30)を連鎖を示唆する水準とした。

染色体 4 番長腕において LOD 値 = 1.69 と有意な連鎖に相当するマーカー D4S2431 が、染色体 3 番長腕および 8 番長腕においてそれぞれ LOD 値 = 1.62 および 1.46 と連鎖を示唆する水準に達したマーカー ATA34G06 および D8S1128 が見出された。これらのマーカーの近傍にて、FASTLINK package 内の LINKMAP プログラムを用いた多点連鎖解析を行ったところ、D4S2431 および ATA34G06 の周辺に LOD 値 = 1.6 以上の比較的高い LOD 値を示す領域が見いだされたが、D8S1128 においては LOD 値が低下し

た。同時に行った SIMWALK2 プログラムを用いたノンパラメトリック連鎖解析では、有望なマーカーは見いだせなかった。

D4S2431 および ATA34G06 の周辺領域については、各々 24 個および 34 個の SNP について Illumina BeadStation 500G を用いてさらに詳細に解析し、すでに解析したマイクロサテライトマーカーを含めて多点連鎖解析を行い、連鎖領域を特定するとともに家系内で罹患者に伝達されているハプロタイプを MERLIN プログラムを用いて推定した。その結果、染色体 4 番長腕上の D4S2431 の周辺領域において、約 8 cM にわたり罹患者に共有されているハプロタイプが見出された(図 1)。同様に染色体 3 番長腕上の ATA34G06 の周辺領域において、約 20 cM にわたり罹患者が共有しているハプロタイプが認められた(図 2)。

統合失調症のような複雑遺伝疾患の連鎖解析では、罹患同胞対など比較的小さな家系を多数収集してノンパラメトリック解析を行う手法が多くとられる。このような手法も非常に有効であるが、家系間の遺伝的異種性やパラメーターを設定しないノンパラメトリック法であるという手法上の問題から検出力が低下し、比較的小数の家系において強い影響を及ぼす遺伝子が存在する領域を見逃すという可能性が否定できない。よって、このような手法に加えて、本研究のような大家系を用いたパラメトリック連鎖解析を行い、多角的に統合失調症の候補領域を探索することが重要と考えられる。しかし、大家系を用いたパラメトリック連鎖解析の報告は世界的に見ても数が少なく、日本人単独では本研究が初めてである。このようなことから日本人多発罹患者家系を用いて統合失調症感受性遺伝子座の候補領域を見出した本研究は非常に意義のあるものと言える。



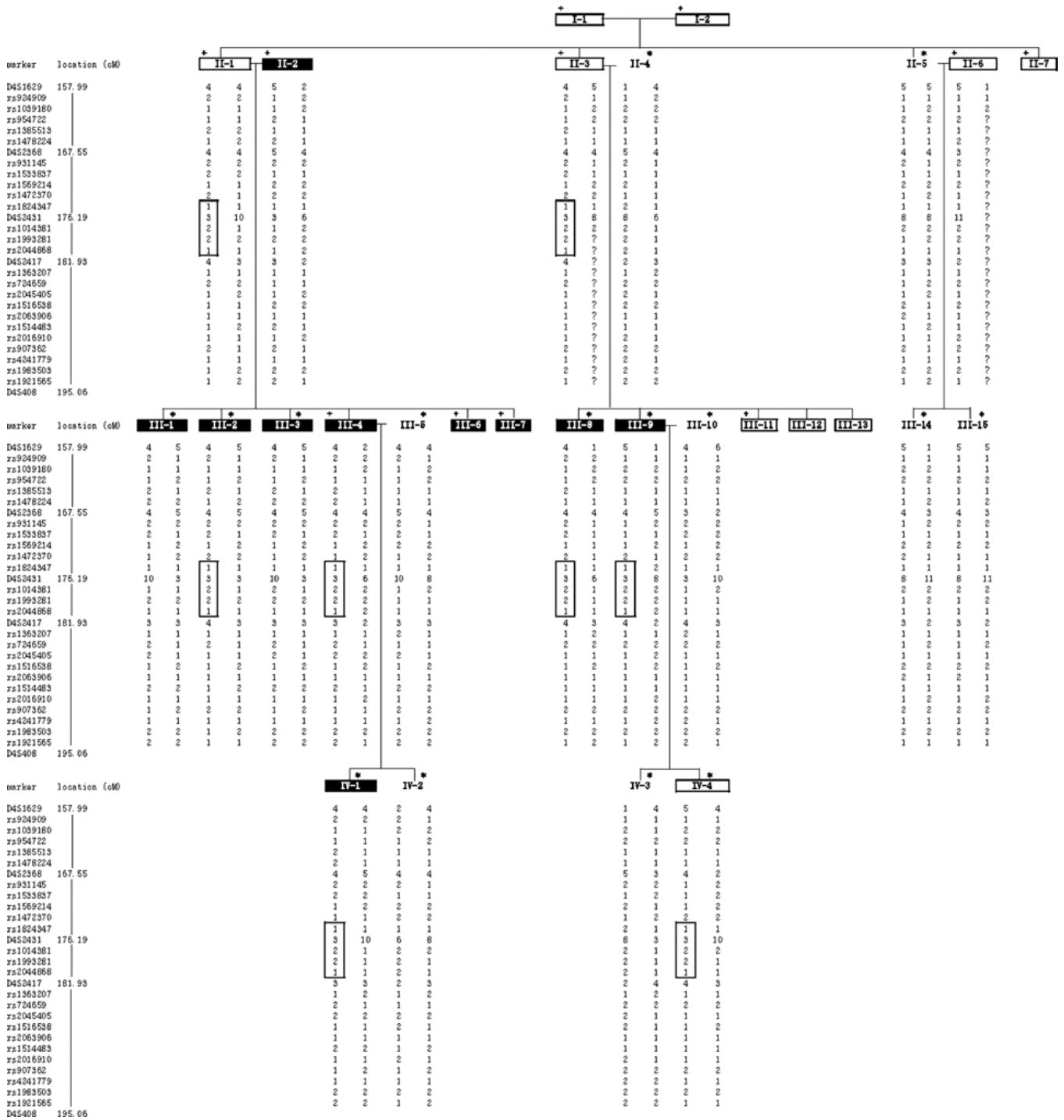


図 1:染色体 4 番長腕上で見られた共有ハプロタイプ。家系構成員の ID を世代および番号で示している(例:I-1)。黒地白抜き ID は罹患者を、長方形で囲った ID は罹患状態不明を示す。右上に\*が付いている ID は今回遺伝子型を解析したもので、それ以外の遺伝子型は推定である。左上に+のついた ID は研究施行時に既に死亡していることを表す。各 ID の下にマーカーの遺伝子型を示しており、縦長の長方形で囲ったハプロタイプが共有されている。

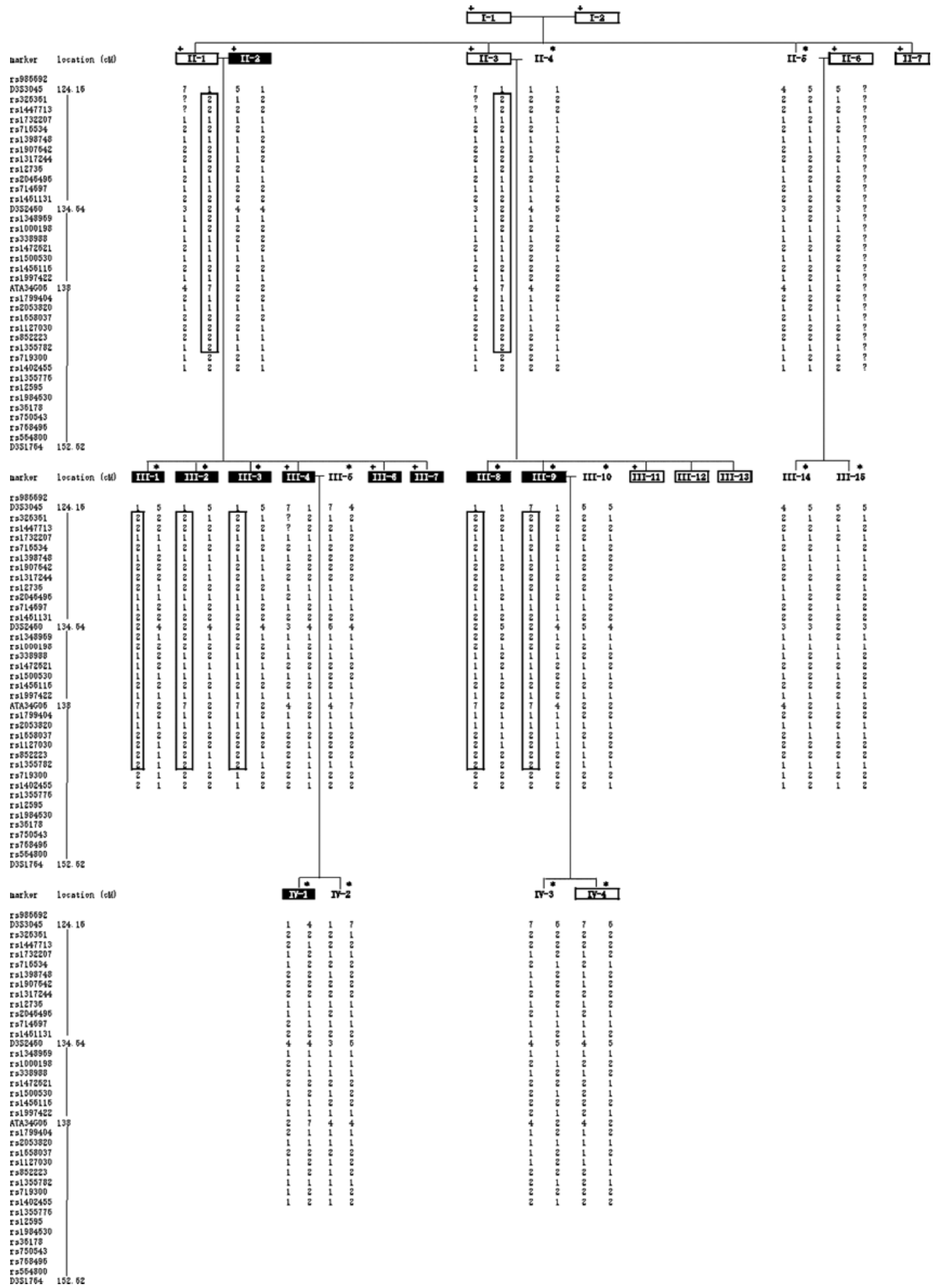


図 2:染色体 3 番長腕上の共有ハプロタイプ

## (2)研究成果の今後期待される効果

統合失調症は、生涯有病率が約 1%と高く、多くは青年期から成人早期に発症し、慢性的に重篤な社会的機能の低下をきたすため、罹患者の不利益のみならず社会的損失も大きい。しかし、その病態の解明、薬物療法を中心とした治療法の確立は未だ十分とは言えず、疾患感受性遺伝子の同定によりその発症機序の解明、治療法を開発することが非常に重要である。今回の研究により見出された二つの候補領域について、領域内に存在する機能的候補遺伝子について重点的に大規模な患者対照研究を行い、疾患感受性遺伝子を同定する予定である。また、同領域内において網羅的、高密度にマーカーを設定し連鎖不平衡解析を行うことを検討している。これにより、統合失調症の疾患感受性遺伝子を同定し、新たな治療薬の開発など統合失調症の治療法の開発や、遺伝子診断を含めた早期かつより精度の高い診断法の開発などに寄与することが期待される。

## 3. 6 統合失調症の死後脳の遺伝子発現プロファイルによる候補遺伝子の検出と関連遺伝子の同定(筑波大学有波グループ、理化学研究所脳科学総合研究センター、加藤グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

統合失調症およびコントロール死後脳の前頭前野での発現解析からは有意な 115 遺伝子を同定し、それらの遺伝子のプロモーター、5'領域の SNP を統合失調症関連 SNP の候補として関連解析を行い、*PDLIM5* 遺伝子の 2 SNPs の関連を同定した。*PDLIM5* 遺伝子は統合失調症の死後脳で発現が高く、関連 SNPs のリスク遺伝子型は死後脳で高発現と関連していた。研究成果の発表後、末梢血リンパ球でも未治療の統合失調症では発現は高く、治療により発現が低下するとの報告がされた。さらに、中国から本研究結果を支持する関連解析の結果が報告されている。また、統合失調症ではないが、双極性障害においても関連がメタ解析で支持されている。

*PDLIM5* 遺伝子と統合失調症との病因・病態の関係を解析するためマウスで実験をすすめた。メタンフェタミンや MK-801 により統合失調症モデル状態にしたときに前頭葉で *Pdlim5* の発現は上昇し、ハロペリドールやオランザピンの抗精神病薬により発現は低下した。ヒトの脳や末梢血で観察された現象と同じ方向の現象がモデルマウスで観察されたので、ノックアウトマウスを作製してさらに解析をすすめた。ノックアウトホモマウスは胎生致死であった。ノックアウトヘテロマウスは無刺激の時はワイルドタイプと差はなかった。ノックアウトヘテロマウスはワイルドタイプと比べてメタンフェタミン逆耐性状態でのメタンフェタミン刺激により線条体でのマイクロダイアリシスにより細胞外ドーパミン量は上昇した。その一方で、同じ状態のメタンフェタミン刺激で運動量亢進は比較的少なく、感覚運動情報制御機構の障害を客観的にとらえる手段の1つであるプレパルス抑制は障害されなかった。このことは *PDLIM5* タンパク質量の低下は、ドーパミン神経伝達シグナルの低下を起こすことを示している。*PDLIM5* は前シナプス、後シナプスともに発現しており、N 型カルシウムチャンネルの調節に関わっている。N 型カルシウムチャンネル拮抗薬投与により、メタンフェタミン逆耐性に関わる行動などが抑制されるとの報告があることから、ノックアウトヘテロマウスで見られたメタンフェタミンによる逆耐性の行動の起こりにくさには N 型カルシウムチャンネルシグナル系が関係していると推測された。

全ゲノム用の発現チップでの解析の他に、候補ゲノム領域の遺伝子発現解析で補った。領域は日本人でも統合失調症の強いリスク因となることが確立している 22q11.2 欠失の領域である。この領域の全ての遺伝子発現を死後脳で検討し、*GNB1L* 遺伝子が遺伝子発現、タンパク質量ともに統合失調症の死後脳前頭前野で発現が低下しており、多くの統合失調症に *GNB1L* が関わっていることが示唆された。しかし、*GNB1L* 遺伝子領域の遺伝子多型は統合失調症と関連は見られず、*GNB1L* 遺伝子の発現低下の原因は不明であった。

## (2)研究成果の今後期待される効果

ヒトサンプルの解析により *PDLIM5* は精神疾患では、統合失調症のみならず、双極性障害やうつ病に関わっていることが示されている。これには N 型カルシウムチャンネルシグナル系が関与していると予想されるが N 型カルシウムチャンネルは痛みや交感神経にも関わっており、臨床的には痛みとの関係が主に取り上げられる。*PDLIM5* 遺伝子の発現と精神疾患との関係は単純に N 型カルシウムチャンネルシグナル系の抑制剤では達成できない関係やその他のメカニズムが関わっていると推測される。本研究で得られた成果は精神疾患の分子病態に関して新視点を提供した。

## 3. 7 統合失調症の神経発達障害モデルラットの脳前頭葉におけるプロテオーム解析(筑波大学 朝田グループ)

### (1)研究実施内容及び成果

統合失調症の病因は未だ不明な点が多いが、近年、中枢神経系の発達障害が重要と考えられてきている(神経発達障害仮説)。新生仔期腹側海馬傷害(neonatal ventral hippocampal lesion; NVHL)ラットは、この仮説に基づいたモデル動物で、ラットの新生仔期に両側の腹側海馬を傷害すると、ヒトの思春期に相当する週齢になって初めてストレスやアンフェタミンなどに対する過感受性を呈する。これは統合失調症の臨床的特徴に類似している。

統合失調症の病態生理に、ドーパミンの過活動が関わりとされているが、最近では抑制性アミノ酸 GABA 神経系の異常も報告されている。われわれは、NVHLラットの脳内 GABA 受容体の変化を *in situ hybridization* により思春期前後で検討し、GABA 受容体のサブユニットの変化が思春期前・後とも認められることを報告した(Endo et al., 2007)。

NVHL ラットでは、思春期前に *social interaction test* や *radial maze test* の異常が報告されており、これらは統合失調症患者の発症前の社会的ひきこもりや認知障害に相当すると考えられている。近年、統合失調症の発症前の前駆期に対して介入する研究が進められているが、前駆期における神経科学的知見は乏しく、モデル動物についての研究は極めて少ない。そこで統合失調症の前駆期の病態生理を明らかにするために、NVHL ラットの思春期前を前駆期のモデルと考え、前頭葉皮質におけるタンパク質の変化をプロテオーム解析した。

### 【方法】

生後 7 日 (PD7) の Sprague-Dawley (SD) 雄性ラットの両側腹側海馬をイボテン酸で傷害し、NVHL ラットを作成した (Lesion 群)。NVHL ラットの思春期前(生後 35 日)と思春期後(生後 56 日)に断頭し、前頭葉皮質 (prefrontal cortex; PFC) をホモジナイズし超音波処理を行い、遠心して上清を回収した。

タンパク質蛍光多重標識と二次元電気泳動を組み合わせ、蛍光標識二次元ディフェレンシャルゲル電気泳動解析 (2-Dimensional Differential in Gel Electrophoresis: 2D-DIGE) を行った。

質量分析を用いてタンパク質の同定を行った。二次元電気泳動の後、銀染色を行い、ゲルを切り出してから脱染色した。トリプシン処理によりゲル内消化を行い、ペプチドを抽出し、MALDI-TOF/MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry: マトリックス支援レーザー脱離イオン化型-飛行時間型質量分析) を用いて質量分析を行った。Mascot 検索エンジン (マトリックスサイエンス社) の "peptide mass fingerprint" 検索フォームにてデータベース検索を行い、測定データと理論断片データの比較からタンパク質を同定した。

### 【結果】

PD35 では、Lesion 群は対照群と比較して 32 スポットが増加し、7 スポットは減少していた。PD56 では、Lesion 群は 54 スポットが増加し、1 スポットは減少していた。細胞骨格やシナプス形成、酸化ストレス、ミトコンドリアのエネルギー代謝に関わるタンパク質が同定された。

思春期前のみに変化があったものは、シナプスの膜の機能に関連する細胞骨格タンパク質の dynamin とエネルギー代謝の酵素である aconitate hydratase で、いずれも低下していた。シナプス関連タンパク質に関しては、思春期前後とも synaptosomal associated protein 25 kDa (SNAP-25)と  $\alpha$ -、および  $\beta$ -synuclein が増加していた。抗酸化ストレスタンパク質である Cu-Zn superoxide dismutase も思春期前後で増加していた。phosphoglycerate mutase B chain、 $\alpha$ -enolase、および triosephosphate isomerase といった解糖系や ubiquinone (NADH2 dehydrogenase)、ubiquinol-cytochrome-c reductase、ATP synthase といった電子伝達系などエネルギー代謝に関連するタンパク質は、思春期後のみで増加していた。

#### 【考察】

NVHL ラットでは思春期後にストレスや薬物への感受性の亢進が見られる。これらは統合失調症の発症後の陽性症状と関連する異常と考えられている。NVHL ラットの思春期後にエネルギー代謝酵素が増加していたことは、これに対応してエネルギー需要が高まっていたことを示唆している。

一方統合失調症の死後脳では、反対にこれらのタンパク質の低下が報告されている。この違いは、ラットとヒトの違いの他、死後脳は、終末期や服薬の状況に影響され、また多くが発症して数十年を経過した慢性期の患者のものであるのに対して NVHL ラットの PD56 は、発症直後の青年期に相当することなどによると考えられる。本研究で抗酸化ストレスタンパク質が増加していたことは、エネルギーの需要に供給が追いつかず、酸化ストレスが増大したことを示唆しているが、この変化は死後脳の研究と一致する。

本研究で新たに、NVHL ラットの思春期前のみ、細胞骨格のタンパク質と TCA サイクルの酵素が低下していることが示された。これらは NVHL ラット前頭葉におけるタンパク質変化の最初期の異常と考えられる。これまでのわれわれの研究で、GABAA受容体のサブユニットが思春期前にも変化していたことを考慮すると、NVHL ラットの前頭葉では思春期前から脳の形態や機能に関わるタンパク質が変化しており、これが NVHL ラットの思春期前に認められる行動の異常に関係すると考えられる。

現在までに、NVHL ラットのプロテオーム解析はわずかに1つ報告されているだけである (Vercauteren et al., 2007)。そこでは PD60 の PFC のシナプトソーム分画をプロテオーム解析し、神経伝達に関わるシナプス小胞の膜タンパク質の変化が認められており、われわれの結果もこれに一致する。しかし、先行研究は思春期後のみの検討であり、今回われわれが初めて思春期前の NVHL ラットでタンパク質の変化を見出した。統合失調症のモデル動物は今までいくつかの方法で作成され、研究されてきているが、多くは発症後の陽性症状を想定したもので、統合失調症の前駆期のモデルは極めて少ない (Tenn et al., 2005, Bégou et al., 2007)。その中で、NVHL ラットは思春期前に行動異常のみならず神経伝達機構やタンパク質の変化も呈することが示され、統合失調症の前駆期のモデルとしても有用と考えられる。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

以上の成果から NVHL ラットは統合失調症の前駆期のモデルとして有用であることが示された。これにより統合失調症の前駆期における中枢神経系の病態生理を研究することができる。これは、診断に役立つバイオマーカーの探索や、早期の治療における薬物療法の検討へと発展させることが可能である。統合失調症を早期に発見し治療的介入を行うことは、社会的にも経済的にも極めて重要であり、本研究はその基礎を築くものと考えられる。

### 3. 8 統合失調症患者の抗精神病薬による効果・反応性に関するゲノムワイド関連解析 (名古屋大学 尾崎グループ、藤田保健衛生大学 岩田グループ)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### 【はじめに】

統合失調症の長期予後は様々な治療薬や介入技法が改善されてきたにもかかわらず、

決して満足のものではない。高い再発・再入院率、社会・職業的重度、非雇用率、自殺率などは定型抗精神病薬中心の 30 年前と比べてあまり改善していない。統合失調症の病態を捉える上で、発病当初の数年間が脳病理の変性過程・可塑性が進行するという **Critical Period** 仮説が提唱されている。これによれば発病初期の治療を如何に成功させ再発や重症化を防止し寛解状態を早期に実現するかが臨床上重要となる。昨今の神経科学研究の成果から、精神病症状そのものが神経毒性を有しており、頻回の再発や症状の慢性的な持続は神経変性を重度とし、結果として認知機能の悪化、長期予後不良をもたらしている。統合失調症治療においては薬物治療がその第一義的役割をになっているが、臨床上は個人にどの薬物が最も有効かつ副作用が少なく認容性が高いかは、実際に薬物を投与してみたの試行錯誤を繰り返している。当初投与された薬物が最適であればよいが、そうでない場合薬剤切替などで十分な治療効果を得るまでに時間を要することが、結果として予後不良を引き起こしており、事前に何らかの客観的な指標で治療反応性を予測できれば本疾患の予後改善に多大に資することが期待される。

本研究では統合失調症の薬物治療において、個人に最適な医療選択(テーラーメイド医療)を生物学的根拠に基づき実現することを目標とした。初診時に即時利用可能な臨床情報および生物学的指標(**trait**)として、個人に固有の遺伝子多型(**SNPs** およびゲノムコピー数)を用いて抗精神病薬の治療反応性および副作用を予測する方法を創出した。

これまでの薬理遺伝学的検討は主に **Pharmacokinetics** による **CYPs** 遺伝子型による薬物代謝予測や、**Pharmacodynamics** による理論上の薬物標的分子(主に神経伝達物質の受容体やそれに関連する分子)について行われてきた。しかし今までの解析からは十分臨床上有用な予測式は得られていない。そこで本研究においては昨今利用可能となった全ゲノムにわたる網羅的解析を行うことにより、事前の作業仮説なしに予測式を確定することを目標とした。

全ゲノム解析の特徴として全く予想できなかった新規の分子を抗精神病薬や病態生理に深く関連するものとして同定しうる可能性がある。一方で解析する対象者に比べ圧倒的多数の **SNPs** を評価することから統計学的誤り( $\alpha$  エラー)として無関係な分子が選択される危険性もある。本研究においてはこの全ゲノム解析の弱点を補うべく推論過程に **Fuzzy model** を応用することでより正確な候補分子推定を行うことが大きな特徴である。

#### 【方法と対象】

##### 対象

**DSM-IV-TR** で統合失調症と診断され抗精神病薬をこれまでに服用した経歴がない初発患者。年齢は 20 歳以上 65 歳以下とし外来・入院は問わない。文書により本研究の内容を説明し署名による同意を得た。なお本研究は藤田保健衛生大学倫理審査委員会の承認を得たうえで行った。

##### 治療プロトコールと評価法

抗精神病薬としてリスペリドン単剤治療を行った。不眠に対して短時間作用型の睡眠導入剤の併用を許可した。有効性評価項目として **PANSS**、**CGI** および **GAF** を、安全性評価項目として錐体外路系副作用評価は **DIEPSS** にて行った。他に一般臨床検査項目として体重、身長(**BMI**)、一般血液生化、プロラクチン、血糖等を検討した。またアドヒアランスの評価として **DAI-10**、**QOL** 評価として **SASS** を用いた。

抗精神病薬投与前および投与後 8 週をそれぞれ評価した。

##### 遺伝子解析

同意の得られた患者末梢血より DNA を抽出しその後の遺伝子解析を行った。

遺伝子解析には **Illumina** 社の **100K set** を用いた。このチップは全ゲノム上約 10 万個の **SNPs** をタイプ可能であり、全ゲノム領域での **SNPs** タイピングおよびコピー数について解析を行った。

##### 統計解析

**Fuzzy model** を応用した多変量回帰解析を用いた。利用する事前因子としては 1. 年齢

2. 未治療罹病期間 3. 初診時 PANSS 4. 遺伝子型とし治療反応性予測式を策定した。

データクリーニングは以下の手順で行った。

0. 4つの因子についてまず多重解析検定を行った。

1. Hardy-Weinberg 平衡にないもの、及び多型頻度が5%未満の SNP を除外した。

2. 連鎖不平衡解析を行いタグとなる SNP を選出した。

3. tag-SNP と4つの背景因子を用いた多重回帰解析を行った。Dominant、Recessive、Additive モデルについて permutation test を行い有意な SNP を選出した。

#### 【結果】

上記プロトコールに同意の得られた患者の内、8 週間のリスペリドン単剤治療を完遂し、全ての臨床情報および DNA を取得できた統合失調症患者は 108 名であった。背景因子として1. 性別2. 年齢3. 未治療期間4. 初診時の症状(PANSS スコア)と治療反応性について検討を行ったが有意な反応性予測因子は認めなかった。

解析対象 105870 SNPs のうち上記解析において  $p < 0.05$  とした場合、59 SNPs が、 $p < 0.01$  とした場合 6 SNPs が選ばれた。これらから仮想的に 2 群に分けたサンプルセットを個別に解析を行い、それぞれのモデルが同じ方向で  $p < 0.01$  となる 18 SNPs を候補 SNPs として選出した。多重比較からの false positive を検討するため permutation test を行い検討した。最も有意となった SNP は NOS2A (nitric oxide synthase 2A)であり新規群、切替群どちらの場合においても十分な予測精度ももつことを見いだした。この予測法における  $R^2$  は 21%となり临床上十分有用な予測式が策定可能であった。

#### 【考察】

本研究では臨床症状を説明する SNPs を網羅的に検索することで 18 遺伝子を薬剤反応性に関わる候補遺伝子として抽出することができた。しかしながらこれらの遺伝子がリスペリドンの反応性とどのように関わるのかは全く不明である。現在マウスにリスペリドンを投与した脳での遺伝子発現を網羅的に解析すると同時に、患者末梢血での遺伝子発現プロファイルを組み合わせることで、より重要な候補遺伝子を絞り込むことが可能と考え実験を進行中である。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

##### 【臨床との関連】

現在統合失調症薬物治療において第一選択薬としては新規の第二世代抗精神病薬が中心となっている。しかしどの患者にどの薬剤を選択するかについて明確な指標は存在しない。本研究において、リスペリドンによる単剤治療患者において、SNPs による治療反応性予測法を開発できた。今後同様の方法論において他の抗精神病薬各薬剤についても正確な予測式の策定が可能であることが示された。初診時に取得可能な臨床情報と SNPs 情報を入力すればどの薬剤が最も効果があり副作用が少ないか予測することが実現可能となる。これが可能となれば現在は投与後の試行錯誤に依るしかなかった薬剤選択および至適用量を、より生物学的根拠に基づいて行うこととなり、統合失調症薬物治療における個別医療(テーラーメイド医療)の早期実現が期待できる。また今後開発される新規抗精神病薬についても、治験段階から SNPs を用いた予測法を同時に計画することにより、薬剤が臨床応用されると同時に予測法も利用できれば、これまで薬物選択や患者への効果・副作用の説明に多大な時間と労力を要していた精神科臨床を一変させる可能性がある。また患者においてもどの薬剤が個々において最適であるかが生物学的根拠において選択されるのであれば、服薬への態度を大きく変更させ、これまではアドヒアランス維持に大きな課題があった統合失調症薬物治療にとって重要な解決策の一つを提案できる。

また全ゲノム解析を行うことは、これまでは何らかの仮説推論上行われてきた抗精神病薬や疾患病態の標的分子についても、全く新規のものが同定される可能性がある。今回同

定された遺伝子群は現在全ゲノム関連解析で報告された遺伝子と同様のものが見いだされている。これらの分子がどのように統合失調症の病態生理と関連するのか、あるいは抗精神病薬作用機序をどのように説明するのかは現時点では不明である。しかし現在モデル動物も用いてリスパリドン投与によってどのような遺伝子群の発現がどのようになるか解析を進めており、これらの結果を持ち合わせて検討することにより、これまで未知であった新規分子が同定され病態や抗精神病薬の作用機序について新たな認識がもたらされれば、それを基盤として画期的な新規序治療薬開発の足がかりになることが期待されると同時に診断や病態理解にも新たな可能性を開くことが期待できる。

### 3. 9 抗精神病薬の副作用脆弱性に関連する遺伝子の同定（筑波大学 有波グループ、財団法人神経研究所 稲田グループ）

#### (1)研究実施内容及び成果

遅発性ジスキネジアは抗精神病薬による長期治療中に起こる不随意運動障害の副作用で、とくに定型抗精神病薬での治療中に 16~43%と比較的高頻度で起こる。第二世代の非定型抗精神病薬の導入により年間の発生頻度は約 5%から 1%に減ってはいるが、有効な治療法がないために統合失調症の治療に重大な問題となる。高齢、女性、抗精神病薬投与量、治療反応性の乏しさ、統合失調症の陰性症状が主である、などが遅発性ジスキネジアのリスクとなっていることが知られている。また、遺伝要因も示唆されており、アフリカ系アメリカ人はヨーロッパ系白人と比べて頻度が高い。アルコール摂取、喫煙もリスクを上げる可能性がある。病態としてはドーパミン神経系の過敏性、酸化ストレスを介した神経毒性障害、セロトニン神経系の機能不全、ギャバ神経系の機能不全などが提唱されてきた。遅発性ジスキネジアの分子遺伝学的研究もなされており、これまでもドーパミン系、セロトニン系、ギャバ系、酸化ストレス系などで関連が報告されている。遅発性ジスキネジアの発生頻度の関係から大きなサンプル数は望めず、そのため個々の研究のサンプルサイズは小さいものになっており、結論を得にくい状況である。

これまで遅発性ジスキネジアの GWAS は報告されていなかった。我々は遅発性ジスキネジア群、年齢、性をマッチさせた遅発性ジスキネジアを呈していない群各々 50 人ずつを対象に GWAS を行った。とくに強く関連を示唆する SNP はなく、遅発性ジスキネジアに強く影響する多型の存在は示唆されなかった。しかし、サンプルサイズが小さいため、中等度の影響を持つ多型は含まれている可能性はある。遅発性ジスキネジアのサンプルは世界的に見ても多くの対象の収集には困難があり、大きなサンプルサイズでの確認解析は不可能であり、GWAS のみでゲノムワイドの有意水準を満たす SNPs の同定は難しい。また、2 段階の方法でも、一定の P 値以下を全て解析するにはコストの面と多重比較の補正後で有意水準を満たすことは困難である。そこで、遺伝子をパスウェイ別に分類したときにいずれのパスウェイに関わる遺伝子に有意な関連を示す SNPs が多いかを検討した。

解析には Illumina Human-1 を用いた。このチップにのっている SNPs のうち遺伝子領域にあるものが 57,979 SNPs あり、さらに連鎖不平衡を考慮して  $r^2$  値 0.8 以下のものに限ると 40,573 SNPs を独立したものとして取り出すことができた。そこで各遺伝子領域の SNPs 数で補正した P 値（遺伝子単位の補正 P 値）で有意な P 値のある遺伝子を Ingenuity Pathway Analysis 5.0 (IPA) (Ingenuity Systems, Inc., <http://ingenuity.com/>)の既知のパスウェイ(canonical pathway)解析を行った。8,640 遺伝子が既知のパスウェイに分類され、そのうち 6,212 遺伝子において GWAS によりタイプングされた SNPs が存在した。この 6,212 遺伝子は 147 の既知のパスウェイグループに属した。遺伝子単位で有意な SNP のある遺伝子は 6,212 遺伝子のうち 268 遺伝子であった。解析の結果、ギャバ受容体シグナリングに関係する 33 遺伝子のうち 8 遺伝子が遺伝子単位で有意な遺伝子であった。その他にシナプス長期増強、カルシウムシグナリングのパスウェイに遺伝子単位で有意な SNPs を含む遺伝子が有意に多く含まれていた。

これらは GWAS の一次スクリーニングをした結果だけに基づいており、遺伝子単位で有意といっても偶然の産物である可能性が高い。そのため他のサンプルで確認する必要がある。



る。ギャバ受容体シグナルパスウェイに含まれる8遺伝子の多型についてはさらに36人の遅発性ジスキネジア患者と138人の遅発性ジスキネジアを示さない患者で確認解析を行った。その結果、 $P < 0.05$ の基準で *GABRB2*, *GABRG3*, *SLC6A11* の3遺伝子で関連が確認された。これらの3遺伝子はいずれも遺伝子量に比例して関連は強くなりアレルあたりのオッズ比は2となっている。

ラットや猿の実験においてギャバ神経伝達系の低下が抗精神病薬による運動系の副作用に大きな役割をしていることが示されており、それに関わる遺伝子領域内の多型が遺伝的脆弱性も形成している可能性をこの解析は示している。

さらに Illumina HumanHap370 チップで解析をすすめ、*HSPG2* 遺伝子との関連を同定した。ヒト死後脳での解析により、*HSPG2* は抗精神病薬により上昇するが、リスク遺伝子型は発現量が低く、発現量が上昇しないことが遅発性ジスキネジアのリスクになっている可能性が示された。さらに、*Hspg2* ノックアウトマウスの解析により、遅発性ジスキネジアが起こりにくいことが示されて、動物レベルでもこの仮説は支持された。*Hspg2* は脳での発現は低いですが、*in situ hybridization* により側座核とその周辺に発現が認められ、遅発性ジスキネジアと特に関係が深い領域であった。

#### (2)研究成果の今後期待される効果

薬原性遅発性ジスキネジアのゲノムワイド関連解析により、確認集団でも確認された比較的P値の低いSNPsは4遺伝子で同定された。これらの情報が薬原性遅発性ジスキネジアの予防に生かされる可能性、および、遺伝子型により有効な治療薬をできる可能性が示された。

## § 4 研究参加者

### ①「連鎖・SNP解析」グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	有波忠雄	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	教授	研究全体の統括	H15.10～H21.3
*	石黒浩毅	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	講師	関連遺伝子に機能解析	H16.8～H21.3
*	大槻露華	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究員	全ゲノム SNP タイピング	H15.10～H18.11
*	荒木泰江	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究員	関連遺伝子の遺伝子改変動物作成	H16.4～H21.3

*	峯田聖	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究員	連鎖領域の関連遺伝子の確認	H19.7～H21.3
*	古賀農人	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究員	関連遺伝子の機能解析	H16.4～H21.3
*	石神千里	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究補助員	SNPs タイピング	H18.4～H20.9
*	田邊佳子	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究補助員	実験用マウスの維持管理	H18.6～H21.3
*	磯行雄	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究補助員	実験用マウスの維持管理	H19.2～H19.10
*	国府田一美	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST チーム事務員	経理	H18.4～H21.3
	小島拓也	日本大学医学部・精神医学教室	名誉教授	中国人の統合失調症患者の臨床解析	H18.4～H21.3
	高橋栄	日本大学医学部・精神医学教室	講師	中国人の統合失調症患者の臨床解析	H18.10～H21.3

②家系・症例対照試料収集・大家系連鎖解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	岡崎祐士	東京都精神医学総合研究所精神疾患研究システム統合失調症研究部門(都立松沢病院)	院長	日本人統合失調症遺伝子研究の大規模共同研究グループ JSSLG のサンプル収集の統括	H15.10～H21.3

○	今村明	長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 病態解析・制御学講座 精神病態制御学分野	講師	連鎖および連鎖不平衡・関連の確認のためのサンプル収集およびその臨床データの解析、多施設よりの収集サンプルの二次匿名化と集配	H15.10～H18.3
○	吉川武男	理化学研究所脳科学総合研究センター 分子精神科学研究チーム	チームリーダー	罹患同胞対家系及びTDT用の家系収集、およびSNP解析	H17.4～H18.3
	村竹辰之	新潟大学医歯学総合病院精神科	講師	TDT用サンプル採取	H17.4～H18.6
○	渡部雄一郎	新潟大学大学院医歯学総合研究科 生体機能調節医学専攻 精神医学分野	助教	TDT用サンプル採取	H18.7～H21.3
○	氏家寛	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体制御科学専攻 精神神経病態学分野	准教授	統合失調症の症例・対照サンプルの収集	H18.4～H21.3
○	Yong-hua Han	Peking University, The first department of the institute of mental health	主任医師	中国人の TDT 用の家系収集	H18.4～H19.3
	Yu-xin	Peking University, The first department of the institute of mental health	部長	中国人の TDT 用の家系収集	H18.10～H19.3

③マイクロサテライト解析による統合失調症関連遺伝子同定グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	服巻保幸	九州大学生体防御医学研究所附属遺伝情報実験センター	教授	マイクロサテライトマーカーを用いた統合失調症の全ゲノム連鎖不平衡解析	H15.10～H21.3

④脳試料および稀な変異解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	糸川昌成	東京都精神医学総合研究所精神疾患研究系統統合失調症研究部門	部門長	統合失調症患者の死後脳の mRNA およびタンパク質解析用サンプルの調整	H15.10～H21.3
*	小幡菜々子	東京都精神医学総合研究所精神疾患研究系統統合失調症研究部門	研究補助員	候補遺伝子の SNP タイピング	H17.4～H21.3

⑤トランスクリプトーム解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	有波忠雄	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	教授	研究全体の統括	H15.10～H21.3
*	荒木泰江	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	CREST 研究員	関連遺伝子の遺伝子改変動物作成	H16.4～H21.3
	加藤 忠史	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	チームリーダー	統合失調症の死後脳の発現プロファイルおよび関連遺伝子の発現解析	H15.10～H21.3

⑥プロテオーム解析グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	朝田隆	筑波大学大学院人間総合科学研究科病態制御医学専攻	教授	統合失調症患者の臨床データと髄液サンプルの収集と解析	H15.10～H21.3

⑦統合失調症治療反応性関連遺伝子同定グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	尾崎紀夫	名古屋大学大学院医学系研究科細胞情報医学専攻	教授	統合失調症患者の抗精神病薬による効果・反応性に関する研究統括。サンプルの収集と SNP データの解析、研究デザインの構築	H15.10～H21.3
○	岩田仲生	藤田保健衛生大学医学部・精神医学教室	教授	統合失調症の抗精神病薬反応性サンプルの収集と解析	H18.10～H21.3
	大河内智	藤田保健衛生大学医学部・精神医学教室	大学院生	統合失調症の抗精神病薬反応性サンプルの収集と解析	H20.4～H21.3

⑧統合失調症治療薬副作用関連遺伝子同定グループ

	氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
○	有波忠雄	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	教授	研究全体の統括	H15.10～H21.3
*	石黒浩毅	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	講師	関連遺伝子の機能解析	H16.8～H21.3
	朱青	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会環境医学専攻	大学院生	副作用関連遺伝子の機能解析	H20.4～H21.3
○	稲田俊也	財団法人神経研究所	副所長	統合失調症患者の抗精神病薬による副作用に	H15.10～H21.3

				関するサンプルの収集	
--	--	--	--	------------	--

## § 5 招聘した研究者等

なし

## § 6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 108 件)

1. Ohtsuki T, Inada T, Arinami T: Failure to confirm association between AKT1 haplotype and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Mol Psychiatry* 9(11):981-983, 2004
2. Iijima Y, Inada T, Ohtsuki T, Senoo H, Nakatani M, Arinami T: Association between chromogranin B gene polymorphisms and schizophrenia in the Japanese population. *Biol Psychiatry* 56: 10-16, 2004
3. Yu SY, Takahashi S, Arinami T, Ohkubo T, Nemoto Y, Tanabe E, Fukura Y, Matsuura M, Han YH, Zhou RL, Shen YC, Matsushima E, Kojima T: Mutation screening and association study of the beta-adrenergic receptor kinase 2 gene in schizophrenia families. *Psychiatry Res* 125(2):95-104, 2004
4. Horiuchi Y, Nakayama J, Ishiguro H, Ohtsuki T, Detera-Wadleigh SD, Toyota T, Yamada K, Nankai M, Shibuya H, Yoshikawa T, Arinami T: Possible association between a haplotype of the GABA-A receptor alpha 1 subunit gene (GABRA1) and mood disorders. *Biol Psychiatry* 55(1):40-45, 2004
5. Ohtsuki T, Tanaka S, Ishiguro H, Tanabe E, Yara K, Okubo T, Takahashi S, Matsuura M, Sakai T, Muto M, Matsushima E, Noguchi E, Toru M, Inada T, Takuya Kojima T, Arinami T: Failure to find association between PRODH deletion and schizophrenia: population screening using simple PCR method. *Schizophr Res* 67(1):111-113, 2004
6. Deng X, Shibata H, Ninomiya H, Tashiro N, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association study of polymorphisms in the excitatory amino acid transporter 2 gene (SLC1A2) with schizophrenia. *BMC Psychiatry*. 2004 Aug 6;4:21
7. Aoki-Suzuki M, Yamada K, Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Ohba H, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Suto Y, Nakatani N, Dean B, Nishimura S, Seki K, Kato T, Itohara S, Nishikawa T, Yoshikawa T: A family-based association study and gene expression analyses of netrin-G1 and -G2 genes in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 57(4):382-93, 2005
8. Ide M, Muratake T, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Kaneko N, Minabe Y, Nakamura K, Kato T, Mori N, Asada T, Someya T, Yoshikawa T: Genetic and expression analyses of FZD3 in schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 56(6):462-5, 2004
9. Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Inada T, Ozaki N: Association of AKT1 with schizophrenia confirmed in a Japanese population. *Biol Psychiatry*. 56(9):698-700, 2004
10. Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N: No association of GSK3beta gene (GSK3B) with Japanese schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 134(1):90-2, 2005
11. 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(2):241-53, 2005
12. Iwamoto K, Bundo M, Washizuka S, Kakiuchi C, Kato T: Expression of HSPF1 and LIM in the lymphoblastoid cells derived from patients with bipolar disorder and schizophrenia. *J Hum Genet*. 49(5):227-31, 2004
13. Iwamoto K, Kakiuchi C, Bundo M, Ikeda K, Kato T: Molecular characterization of bipolar disorder by comparing gene expression profiles of postmortem brains of major mental disorders. *Mol Psychiatry*. 9(4):406-16, 2004
14. Iwata N, Suzuki T, Ikeda M, Kitajima T, Yamanouchi Y, Inada T, Ozaki N: No association

- with the neuregulin 1 haplotype to Japanese schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 9(2):126-7, 2004
15. Iwayama-Shigeno Y, Yamada K, Itokawa M, Toyota T, Meerabux JM, Minabe Y, Mori N, Inada T, Yoshikawa T: Extended analyses support the association of a functional (GT)<sub>n</sub> polymorphism in the GRIN2A promoter with Japanese schizophrenia. *Neurosci Lett*. 378(2):102-105, 2005
  16. Kakiuchi C, Ishiwata M, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Kato T: Association of the XBP1-116C/G polymorphism with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatry Clin Neurosci*. 58(4):438-40, 2004
  17. Kockelkorn TT, Arai M, Matsumoto H, Fukuda N, Yamada K, Minabe Y, Toyota T, Ujike H, Sora I, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M: Association study of polymorphisms in the 5' upstream region of human DISC1 gene with schizophrenia. *Neurosci Lett*. 368(1):41-45, 2004
  18. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S: A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett*. 2005 Mar 16;376(3):182-7, 2005
  19. Munakata K, Iwamoto K, Bundo M, Kato T: Mitochondrial DNA 3243A>G mutation and increased expression of LARS2 gene in the brains of patients with bipolar disorder and schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 57(5):525-32, 2005
  20. Saito S, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Takahashi N, Inada T, Ozaki N: No association was found between a functional SNP in ZDHHC8 and schizophrenia in a Japanese case-control population. *Neurosci Lett*. 374(1):21-4, 2005
  21. Takaki H, Kikuta R, Shibata H, Ninomiya H, Tashiro N, Fukumaki Y: Positive associations of polymorphisms in the metabotropic glutamate receptor type 8 gene (GRM8) with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 128(1):6-14, 2004
  22. Toyota, T., Yoshitsugu, K., Ebihara, M., Yamada, K., Ohba, H., Fukasawa, M., Minabe, Y., Nakamura, K., Sekine, Y., Takei, N., Suzuki, K., Itokawa, M., Meerabux, J.M.A., Iwayama-Shigeno, Y., Tomaru, Y., Shimizu, H., Hattori, E., Mori, N., Yoshikawa, T: Association between schizophrenia with ocular misalignment and polyalanine length variation in PMX2B. *Hum. Mol. Genet*. 13: 551-561, 2004
  23. Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Yoshida Y, Toyota T, Itokawa M, Hattori E, Shimizu H, Yoshikawa T: Family-based association study of schizophrenia with 444 markers and analysis of a new susceptibility locus mapped to 11q13.3. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 127(1):11-19, 2004
  24. Yamada K, Nakamura K, Minabe Y, Iwayama-Shigeno Y, Takao H, Toyota T, Hattori E, Takei N, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y, Miyoshi K, Honda A, Baba K, Katayama T, Tohyama M, Mori N, Yoshikawa T: Association analysis of FEZ1 variants with schizophrenia in Japanese cohorts. *Biol Psychiatry*. 56(9):683-690, 2004
  25. Arinami T, Ohtsuki T, Ishiguro H, Ujike H, Tanaka Y, Morita Y, Mineta M, Takeichi M, Yamada S, Imamura A, Ohara K, Shibuya H, Ohara K, Suzuki Y, Muratake T, Kaneko N, Someya T, Inada T, Yoshikawa T, Toyota T, Yamada K, Kojima T, Takahashi S, Osamu O, Shinkai T, Nakamura M, Fukuzako H, Hashiguchi T, Niwa SI, Ueno T, Tachikawa H, Hori T, Asada T, Nanko S, Kunugi H, Hashimoto R, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Arai H, Ohnuma T, Kusumi I, Koyama T, Yoneda H, Fukumaki Y, Shibata H, Kaneko S, Higuchi H, Yasui-Furukori N, Numachi Y, Itokawa M, Okazaki Y; Japanese Schizophrenia Sib-Pair Linkage Group: Genomewide high-density SNP linkage analysis of 236 Japanese families supports the existence of schizophrenia susceptibility loci on chromosomes 1p, 14q, and 20p. *Am J Hum Genet*. 77(6):937-944, 2005
  26. Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Iritani S, Noguchi E, Ohtsuki T, Koga M, Kato T, Itokawa M, Arinami T: A polymorphism in the PDLIM5 gene associated with gene expression and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59(5):434-439, 2006
  27. Kato T, Iwayama Y, Kakiuchi C, Iwamoto K, Yamada K, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Nanko S, Yoshikawa T: Gene expression and association analyses of LIM (PDLIM5) in bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 10(11):1045-1055, 2005

28. Yamada K, Ohnishi T, Hashimoto K, Ohba H, Iwayama-Shigeno Y, Toyoshima M, Okuno A, Takao H, Toyota T, Minabe Y, Nakamura K, Shimizu E, Itokawa M, Mori N, Iyo M, Yoshikawa T: Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol Psychiatry*. 57(12):1493-503, 2005
29. Iwamoto K, Bundo M, Yamada K, Takao H, Iwayama-Shigeno Y, Yoshikawa T, Kato T: DNA methylation status of SOX10 correlates with its downregulation and oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia. *J Neurosci*. 25(22):5376-81, 2005
30. Shibata H, Aramaki T, Sakai M, Ninomiya H, Tashiro N, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y: Association study of polymorphisms in the GluR7, KA1 and KA2 kainate receptor genes (GRIK3, GRIK4, GRIK5) with schizophrenia. *Psychiatry Res*. 141(1):39-51, 2006
31. Lee HJ, Song JY, Kim JW, Jin SY, Hong MS, Park JK, Chung JH, Shibata H, Fukumaki Y: Association study of polymorphisms in synaptic vesicle-associated genes, SYN2 and CPLX2, with schizophrenia. *Behav Brain Funct*. 1:15, 2005
32. Makino C, Shibata H, Ninomiya H, Tashiro N, Fukumaki Y: Identification of single-nucleotide polymorphisms in the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2D gene, GRIN2D, and association study with schizophrenia. *Psychiatr Genet*. 2005 15(3):215-221, 2005
33. Ikeda M, Iwata N, Kitajima T, Suzuki T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N: Positive association of the serotonin 5-HT7 receptor gene with schizophrenia in a Japanese population. *Neuropsychopharmacology*. 31(4):866-71, 2006
34. Takao T, Tachikawa H, Kawanishi Y, Katano T, Sen B, Homma M, Kohda Y, Mizukami K, Asada T: Association of treatment-resistant schizophrenia with the G2677A/T and C3435T polymorphisms in the ATP-binding cassette subfamily B member 1 gene. *Psychiatr Genet*. 16(2):47-48, 2006
35. Zhang X, Tochigi M, Ohashi J, Maeda K, Kato T, Okazaki Y, Kato N, Tokunaga K, Sawa A, Sasaki T: Association study of the DISC1/TRAX locus with schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res*. 79(2-3):175-180, 2005
36. Fukuda, Y., Koga, M., Arai, M., Noguchi, E., Ohtsuki, T., Horiuchi, Y., Ishiguro, H., Niizato, K., Iritani, S., Itokawa, M., & Arinami, T. Monoallelic and unequal allelic expression of the HTR2A gene in human brain and peripheral lymphocytes. *Biol Psychiatry*. 60: 1331-5, 2006
37. Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Gong, J.P., Patel, S., Perchuk, A., Meozzi, P.A., Myers, L., Mora, Z., Tagliaferro, P., Gardner, E., Brusco, A., Akinshola, B.E., Liu, Q.R., Hope, B., Iwasaki, S., Arinami, T., Teasenfitz, L., & Uhl, G.R. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Ann NY Acad Sci* 1074, 514-36 2006
38. Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M. Association between polymorphisms in the promoter region of the sialyltransferase 8B (SIAT8B) gene and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 59:652-659, 2006
39. Iwayama Y, Hashimoto K, Nakajima M, Toyota T, Yamada K, Shimizu E, Itokawa M, Hoshika A, Iyo M, Yoshikawa T. Analysis of correlation between serum D-serine levels and functional promoter polymorphisms of GRIN2A and GRIN2B genes. *Neurosci Lett* 394:101-104, 2006
40. Watanabe, Y., Muratake, T., Kaneko, N., Nunokawa, A., Someya, T.: No association between the brain-derived neurotrophic factor gene and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophrenia Research*, 86: 29-35, 2006
41. Watanabe, Y., Fukui, N., Muratake, T., Amagane, H., Kaneko, N., Nunokawa, A., Someya, T.: Association study of a functional promoter polymorphism of the X-box binding protein 1 (XBP1) gene in Japanese patients with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 60: 633-635, 2006
42. Takahashi N, Ishihara R, Saito S, Maeno N, Aoyama N, Ji X, Miura H, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Ozaki N, Inada T: Association between chromogranin A gene polymorphism and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res* 83: 179-183, 2006
43. Aoyama N, Takahashi N, Saito S, Maeno N, Ishihara R, Ji X, Miura H, Ikeda M, Suzuki T,



- Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Yoshida K, Iwata N, Inada T, Ozaki N: Association study between kynurenine 3-monooxygenase gene (KMO) and schizophrenia in the Japanese population. *Genes Brain Behav* 5: 364-368, 2006
44. Usui H, Takahashi N, Saito S, Ishihara R, Aoyama N, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Yoshida K, Iwata N, Inada T, Ozaki N: The 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase and oligodendrocyte lineage transcription factor 2 genes do not appear to be associated with schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res*, Sep 27, 2006
  45. Kunugi H, Hashimoto R, Okada T, Hori H, Nakabayashi T, Omori M, Takahashi S, Tsukue R, Anami K, Hirabayashi N, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Asada T, Harada S, Arima K, Saitoh O. Possible association between nonsynonymous polymorphisms of the anaplastic lymphoma kinase (ALK) gene and schizophrenia in a Japanese population. *J Neural transm*. 11310:1569-73, 2006
  46. Kawai N, Yamakawa Y, Baba A, Nemoto K, tachikawa H, Hori T, Asada T, Iidaka T. High-dose of multiple antipsychotics and cognitive function in schizophrenia: The effect of dose-reduction. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 30:1009-14, 2006
  47. Ide M, Ohnishi T, Murayama M, Matsumoto I, Yamada K, Iwayama Y, Dedova I, Toyota T, Asada T, Takashima A, Yoshikawa T. Failure to support a genetic contribution of AKT1 polymorphisms and altered AKT signaling in schizophrenia. *J Neurochem*. 99(1):277-87. 2006
  48. Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Koga, M., Inada, T., Iwata, N., Ozaki, N., Ujike, H., Muratake, T., Someya, T., & Arinami, T. RGS4 is not a susceptibility gene for schizophrenia in Japanese: association study in a large case-control population. *Schizophr Res*. 89, 161-4, 2007
  49. Doi N, Itokawa M, Hoshi Y, Arai M, Furukawa A, Ujike H, Sora I, Yoshikawa T. A resistance gene in disguise for schizophrenia? *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 144(2):165-73 2007
  50. Watanabe Y, Fukui N, Nunokawa A, Muratake T, Kaneko N, Kitamura H, Someya T. No association between the ERBB3 gene and schizophrenia in a Japanese population. *Neurosci Res*. 57(4):574-578, 2007
  51. Ishiguro, H., Iwasaki, S., Teasenz, L., Higuchi, S., Horiuchi, Y., Saito, T., Arinami, T., & Onaivi, E.S. Involvement of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *Pharmacogenomics J*. 7(6): 380-385, 2007
  52. Koga, M., Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Albalushi, T., Inada, T., Iwata, N., Ozaki, N., Ujike, H., Muratake, T., Someya, T., & Arinami, T. Failure to confirm the association between the FEZ1 gene and schizophrenia in a Japanese population. *Neurosci Lett*. 417(3):326-329, 2007
  53. Ishiguro, H., Koga, M., Horiuchi, Y., Inada, T., Iwata, N., Ozaki, N., Ujike, H., Muratake, T., Someya, T., & Arinami T. PICK1 is not a susceptibility gene for schizophrenia in a Japanese population: Association study in a large case-control population. *Neurosci Res*. 58(2):145-148, 2007
  54. Horiuchi Y, Ishiguro H, Koga M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Muratake T, Someya T, Arinami T: Support for association of the PPP3CC gene with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 12(10):891-893, 2007
  55. Ikeda M, Ozaki N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kishi T, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Inada T, Iwata N. Possible association of beta-arrestin 2 gene with methamphetamine use disorder, but not schizophrenia. *Genes Brain Behav*. 6(1):107-112, 2007
  56. Ikeda M, Ozaki N, Yamanouchi Y, Suzuki T, Kitajima T, Kinoshita Y, Inada T, Iwata N. No association between the glutamate decarboxylase 67 gene (GAD1) and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res*. 91(1-3):22-26, 2007
  57. Deng X, Shibata H, Takeuchi N, Rachi S, Sakai M, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. Association study of polymorphisms in the glutamate transporter genes SLC1A1, SLC1A3, and SLC1A6 with schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 144(3):271-278, 2007
  58. Urata T, Takahashi N, Hakamata Y, Iijima Y, Kuwahara N, Ozaki N, Ono Y, Amano M, Inada T: Gene-gene interaction analysis of personality traits in a Japanese population using an

- electrochemical DNA array chip analysis. *Neurosci Lett* 414 (3):209-212, 2007
59. Iwasaki S, Ishiguro H, Higuchi S, Onaivi ES, Arinami T. Association study between alcoholism and endocannabinoid metabolic enzyme genes encoding fatty acid amide hydrolase and monoglyceride lipase in a Japanese population. *Psychiatr Genet.* 17(4):215-220, 2007
  60. Maeno N, Takahashi N, Saito S, Ji X, Branko A, Ishihara R, Yoshida K, Inada T, Iidaka T, Ozaki N: Association study between the transferrin gene and schizophrenia in the Japanese population. *Neuroreport* 18 (5):517-20, 2007
  61. Aleksic B, Ishihara R, Takahashi N, Maeno N, Ji X, Saito S, Inada T, Ozaki N: Gap junction coding genes and schizophrenia: a genetic association study. *J Hum Genet* 52 (6):498-501, 2007
  62. Kaneko N, Muratake T, Kuwabara H, Kurosaki T, Takei M, Ohtsuki T, Arinami T, Tsuji S, Someya T. Autosomal linkage analysis of a Japanese single multiplex schizophrenia pedigree reveals two candidate loci on chromosomes 4q and 3q. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 144(6):735-742, 2007
  63. Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M. Identification of functional polymorphisms in the promoter region of the human PICK1 gene and their association with methamphetamine psychosis. *Am J Psychiatry.* 164(7):1105-1114, 2007
  64. Norton N, Williams HJ, Dwyer S, Carroll L, Peirce T, Moskvina V, Segurado R, Nikolov I, Williams NM, Ikeda M, Iwata N, Owen MJ, O'donovan MC. Association analysis of AKT1 and schizophrenia in a UK case control sample. *Schizophr Res.* 93(1-3):58-65, 2007
  65. Nunokawa, A., Watanabe, Y., Muratake, T., Kaneko, N., Koizumi, M., Someya, T.: No associations exist between five functional polymorphisms in the catechol-O-methyltransferase gene and schizophrenia in a Japanese population. *Neuroscience Research*, 58(3): 291–296, 2007
  66. Watanabe, Y., Nunokawa, A., Kaneko, N., Someya, T.: Meta-analysis of case-control association studies between the C270T polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene and schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 95(1-3): 250-252, 2007
  67. Ishiguro H, Walther D, Arinami T, Uhl GR. Variation in a bicarbonate co-transporter gene family member SLC4A7 is associated with propensity to addictions: a study using fine-mapping and three samples. *Addiction.* 102(8):1320-1325, 2007
  68. Maeno N, Takahashi N, Saito S, Ji X, Ishihara R, Aoyama N, Branko A, Miura H, Ikeda M, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Iwata N, Inada T, Ozaki N. Association of SOX10 with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatr Genet.* 17(4):227-231, 2007
  69. Ohnishi T, Yamada K, Ohba H, Iwayama Y, Toyota T, Hattori E, Inada T, Kunugi H, Tatsumi M, Ozaki N, Iwata N, Sakamoto K, Iijima Y, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nanko S, Osumi N, Detera-Wadleigh SD, Kato T, Yoshikawa T. A Promoter Haplotype of the Inositol Monophosphatase 2 Gene (IMPA2) at 18p11.2 Confers a Possible Risk for Bipolar Disorder by Enhancing Transcription. *Neuropsychopharmacology.* 32(8):1727-1737, 2007
  70. Tomita Y, Ikeda M, Mutoh H, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Honda H. Association study between Apolipoprotein L and schizophrenia by exhaustive and rule-based combination analysis for identification of multilocus interactions. *J Biosci Bioeng.* 103(4):303-310, 2007
  71. Watanabe, Y., Nunokawa, A., Kaneko, N., Muratake, T., Koizumi, M., Someya, T.: Lack of association between the interleukin 1 gene complex and schizophrenia in a Japanese population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 61(4): 364-369, 2007
  72. Watanabe, Y., Nunokawa, A., Kaneko, N., Someya, T.: The tryptophan hydroxylase 1 (TPH1) gene and risk of schizophrenia: a moderate-scale case-control study and meta-analysis. *Neuroscience Research*, 59(3): 322-326, 2007
  73. Watanabe, Y., Muratake, T., Kaneko, N., Fukui, N., Nara, Y., Someya, T.: No association between the tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphisms and schizophrenia in a Japanese population. *Psychiatry Research*, 153(1): 1-6, 2007
  74. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Otani K, Kishimoto M, Morio A, Kotaka T, Okahisa Y, Matsushita M, Morikawa A, Hamase K, Zaitzu K, Kuroda S. A genetic variant of the serine

- racemase gene is associated with schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 61(10):1200-1203, 2007
75. Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, Nakajima M, Tanaka K, Kawagishi N, Nemoto K, Mori T, Ohnishi T, Noguchi H, Hori H, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Nakabayashi T, Saitoh O, Kosuga A, Tatsumi M, Kamijima K, Weinberger DR, Kunugi H, Baba A. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry*. 12(11):1026-1032, 2007
  76. Arai M, Obata N, Kockelkorn TJP, Yamada K, Toyota T, Haga S, Yoshida Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T, Itokawa M: Lack of association between polymorphisms in the 5' upstream region of the DISC1 gene and mood disorders. *Psychiat Genet*. 17 (6): 357 2007
  77. Nakayama H, Kitaichi K, Ito Y, Hashimoto K, Takagi K, Yokoi T, Ozaki N, Yamamoto T, Hasegawa T: The role of organic cation transporter-3 in methamphetamine disposition and its behavioral response in rats. *Brain Res*. 1184:260-9, 2007
  78. Inoue S, Imamura A, Okazaki Y, Yokota H, Arai M, Hayashi N, Furukawa A, Itokawa M, Oishi M. Synaptotagmin XI as a candidate gene for susceptibility to schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 144:332-340 2007
  79. Ishikawa M, Mizukami K, Iwakiri M, Aada T. Immunohistochemical and immunoblot analysis of dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein, relative molecular mass 32,000 DARP 32 in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia and bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31:1177-1181, 2007
  80. Takao T, Tachikawa H, Kawanishi Y, Mizukami K, Asada T. CLOCK gene T311C polymorphism is associated with Japanese schizophrenics: a preliminary study. *Eur Neuropsychopharmacol*. 17:273-276, 2007
  81. Masui T, Hashimoto R, Kusumi I, Suzuki K, Tanaka T, Nakagawa S, Suzuki T, Iwata N, Ozaki N, Kato T, Takeda M, Kunugi H, Koyama T. A possible association between missense polymorphism of the breakpoint cluster region gene and lithium prophylaxis in bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 32(1):204-208, 2008
  82. Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Kishimoto M, Okahisa Y, Kotaka T, Harano M, Inada T, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. The glycine transporter 1 gene (GLYT1) is associated with methamphetamine-use disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 147(1):54-58, 2008
  83. Kishimoto M, Ujike H, Motohashi Y, Tanaka Y, Okahisa Y, Kotaka T, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. The Dysbindin Gene (DTNBP1) Is Associated with Methamphetamine Psychosis. *Biol Psychiatry*. 63(2):191-196, 2008
  84. Miura H, Ozaki N, Shirokawa T, Isobe K: Changes in brain tryptophan metabolism elicited by ageing, social environment, and psychological stress in mice. *Stress* 11 (2):160-169, 2008
  85. Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L, Perchuk A, Mora Z, Tagliaferro PA, Gardner E, Brusco A, Akinshola BE, Hope B, Lujilde J, Inada T, Iwasaki S, Macharia D, Teasent L, Arinami T, Uhl GR. Brain Neuronal CB2 Cannabinoid Receptors in Drug Abuse and Depression: From Mice to Human Subjects. *PLoS ONE*. 3(2):e1640, 2008
  86. Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Kamata M, Sato K, Inoue K, Suzuki T, Itoh K, Ozaki N: Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. *Hum Psychopharmacol*. 23 (2):121-128, 2008
  87. Nitta M, Narita T, Umeda K, Hattori M, Naitoh H, Iwata N. Influence of negative cognition on the parental bonding instrument (PBI) in patients with major depression. *J Nerv Ment Dis*. 196(3):244-246, 2008
  88. Albalushi T, Horiuchi Y, Ishiguro H, Koga M, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. Replication study and meta-analysis of the genetic association of GRM3 gene polymorphisms with schizophrenia in a large Japanese case-control population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 147(3):392-396, 2008
  89. Ohtsuki T, Horiuchi Y, Koga M, Ishiguro H, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. Association of polymorphisms in the haplotype block spanning the alternatively spliced exons of the NTNG1 gene at 1p13.3 with schizophrenia in Japanese populations. *Neurosci Lett*. 435(3):194-197, 2008

90. Otani K, Ujike H, Sakai A, Okahisa Y, Kotaka T, Inada T, Harano M, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. Reduced CYP2D6 activity is a negative risk factor for methamphetamine dependence. *Neurosci Lett.* 434(1):88-92, 2008
91. Uhl GR, Drgon T, Liu QR, Johnson C, Walther D, Komiyama T, Harano M, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iyo M, Iwata N, Yamada M, Sora I, Chen CK, Liu HC, Ujike H, Lin SK. Genome-wide association for methamphetamine dependence: convergent results from 2 samples. *Arch Gen Psychiatry.* 65(3):345-55, 2008
92. Yoshimi A, Takahashi N, Saito S, Ito Y, Aleksic B, Usui H, Kawamura Y, Waki Y, Yoshikawa T, Kato T, Iwata N, Inada T, Noda Y, Ozaki N. Genetic analysis of the gene coding for DARPP-32 (PPP1R1B) in Japanese patients with schizophrenia or bipolar disorder. *Schizophr Res.* 100(1-3): 334-341, 2008
93. Inada T, Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Syu A, Yoshio T, Takahashi N, Ozaki N, Arinami T: Pathway-based association analysis of genome-wide screening data suggest that genes associated with the gamma-aminobutyric acid receptor signaling pathway are involved in neuroleptic-induced, treatment-resistant tardive dyskinesia. *Pharmacogenet Genomics* 18 (4):317-323, 2008
94. Kuratomi G, Iwamoto K, Bundo M, Kusumi I, Kato N, Iwata N, Ozaki N, Kato T. Aberrant DNA methylation associated with bipolar disorder identified from discordant monozygotic twins. *Mol Psychiatry.* 13(4):429-441, 2008
95. Saito S, Takahashi N, Maeno N, Ito Y, Aleksic B, Usui H, Iidaka T, Inada T, Ozaki N: An association study of tachykinin receptor 3 gene with schizophrenia in the Japanese population. *Neuroreport* 19 (4):471-473, 2008
96. Takahashi T, Suzuki M, Tsunoda M, Kawamura Y, Takahashi N, Tsuneki H, Kawasaki Y, Zhou SY, Kobayashi S, Sasaoka T, Seto H, Kurachi M, Ozaki N: Association between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and brain morphology in a Japanese sample of schizophrenia and healthy comparisons. *Neurosci Lett.* 435(1): 34-39, 2008
97. Ikeda M, Takahashi N, Saito S, Aleksic B, Watanabe Y, Nunokawa A, Yamanouchi Y, Kitajima T, Kinoshita Y, Kishi T, Kawashima K, Hashimoto R, Ujike H, Inada T, Someya T, Takeda M, Ozaki N, Iwata N. Failure to replicate the association between NRG1 and schizophrenia using Japanese large sample. *Schizophr Res.* 101(1-3):1-8, 2008
98. Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Ozaki N, Iwata N, Umekage T, Tochigi M, Kohda K, Sasaki T, Imamura A, Okazaki Y, Kato T. Up-regulation of ADM and SEPX1 in the lymphoblastoid cells of patients in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 147B(5):557-64, 2008
99. Kishi T, Ikeda M, Kitajima T, Suzuki T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kawashima K, Ozaki N, Iwata N. No association between prostate apoptosis response 4 gene (PAWR) in schizophrenia and mood disorders in a Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 147B(4):531-4, 2008
100. Nunokawa, A., Watanabe, Y., Kitamura, H., Kaneko, N., Arinami, T., Ujike, H., Inada, T., Iwata, N., Kunugi, H., Itokawa, M., Ozaki, N., Someya, T.: Large-scale case-control study of a functional polymorphism in the glutamate receptor, metabotropic 3 gene in patients with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences.* 62(2):239-40, 2008
101. Ohtsuki T, Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Arai M, Niizato K, Itokawa M, Inada T, Iwata N, Iritani S, Ozaki N, Kunugi H, Ujike H, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. A polymorphism of the metabotropic glutamate receptor mGluR7 (GRM7) gene is associated with schizophrenia. *Schizophr Res.* 101(1-3):9-16, 2008
102. Ikeda M, Hikita T, Taya S, Uruguchi-Asaki J, Toyo-Oka K, Wynshaw-Boris A, Ujike H, Inada T, Takao K, Miyakawa T, Ozaki N, Kaibuchi K, Iwata N. Identification of YWHAE, a gene encoding 14-3-3epsilon, as a possible susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 17(20):3212-22, 2008
103. Deng, X., Sagata, N., Takeuchi, N, Tanaka, M Takeuchi, N., Rachi, N., Ninomiya, H., Iwata, N., Ozaki, O., Shibata, H. and Fukumaki, Y.: Association study of polymorphisms in the neutral amino acid transporter genes SLC1A4, SLC1A5 and the glycine transporter genes

- SLC6A5, SLC6A9 with schizophrenia. *BMC Psychiatry* 8: 58 (9 pages), 2008
104. Mizuguchi T, Hashimoto R, Itokawa M, Sano A, Shimokawa O, Yoshimura Y, Harada N, Miyake N, Nishimura A, Saitsu H, Sosonkina N, Niikawa N, Kunugi H, Matsumoto N. Microarray comparative genomic hybridization analysis of 59 patients with schizophrenia. *J Hum Genet.* 53(10):914-9, 2008
  105. O'Donovan MC, Craddock N, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Williams NM, Giegling I, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Gejman PV; Molecular Genetics of Schizophrenia Collaboration, Gejman PV, Sanders AR, Duan J, Levinson DF, Buccola NG, Mowry BJ, Freedman R, Amin F, Black DW, Silverman JM, Byerley WF, Cloninger CR, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin A, Rujescu D, Kirov G, Owen MJ. Identification of loci associated with schizophrenia by genome-wide association and follow-up. *Nat Genet.* 40: 1053-1055, 2008
  106. O'Donovan MC, Norton N, Williams H, Peirce T, Moskvina V, Nikolov I, Hamshere M, Carroll L, Georgieva L, Dwyer S, Holmans P, Marchini JL, Spencer CC, Howie B, Leung HT, Giegling I, Hartmann AM, Möller HJ, Morris DW, Shi Y, Feng G, Hoffmann P, Propping P, Vasilescu C, Maier W, Rietschel M, Zammit S, Schumacher J, Quinn EM, Schulze TG, Iwata N, Ikeda M, Darvasi A, Shifman S, He L, Duan J, Sanders AR, Levinson DF, Adolfsson R, Osby U, Terenius L, Jönsson EG, Cichon S, Nöthen MM, Gill M, Corvin AP, Rujescu D, Gejman PV, Kirov G, Craddock N, Williams NM, Owen MJ. Analysis of 10 independent samples provides evidence for association between schizophrenia and a SNP flanking fibroblast growth factor receptor 2. *Mol Psychiatry.* 2008 Sep 23. [Epub ahead of print]
  107. Ikeda M, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Kitajima T, Yoshimura R, Hashimoto S, O'Donovan MC, Nakamura J, Ozaki N, Iwata N. Variants of dopamine and serotonin candidate genes as predictors of response to risperidone treatment in first-episode schizophrenia. *Pharmacogenomics.* 9(10):1437-43, 2008
  108. Ishiguro H, Imai K, Koga M, Horiuchi Y, Inada T, Iwata N, Ozaki N, Ujike H, Itokawa M, Kunugi H, Sasaki T, Watanabe Y, Someya T, Arinami T. Replication study for associations between polymorphisms in the CLDN5 and DGCR2 genes in the 22q11 deletion syndrome region and schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 18(5):255-256, 2008

(2)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

- ① 招待講演 (国内会議 5 件、国際会議 2 件)
1. 尾崎紀夫: 精神障害に関与する遺伝因と環境因をどの様に患者・家族に伝えるべきか:精神科臨床における遺伝カウンセリング. 第 103 回精神神経学会教育講演, 2007 年 5 月 高知
  2. 尾崎紀夫: シンポジウム「疾患領域横断的遺伝学」統合失調症のゲノム解析:表現型同定と CDCV 仮説の問題を中心に. 日本人類遺伝学会第 52 回大会, 2007 年 9 月 東京
  3. 有波忠雄 統合失調症の網羅的解析 第 15 回日本精神・行動遺伝医学会, 2007 年 11 月、東京
  4. 有波忠雄:日本人統合失調症のゲノムワイド解析 日本人類遺伝学会第 53 回大会、2008 年 9 月 29 日
  5. Arinami T. Large-scale genetic association study of schizophrenia. 第 51 回日本神経化学学会大会. 2008 年 9 月 12 日 富山
  6. Arinami T. Genome wide approaches to schizophrenia in Japanese families and case-control population. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008/10/14, Osaka
  7. Fukumaki, Y., Deng, X., Kuroki, T., Nakahara, T., Hashimoto, K, Ninomiya, H., Iwata, N., Ozaki, N. and Shibata, H.: Search for schizophrenia susceptibility loci focusing on

PCP-responsive genes as candidates. The XVth World Congress of Psychiatric Genetics. Osaka. (10/11-15, 2008)

② 口頭発表 (国内会議 6 件、国際会議 9 件)

1. Tsuyuka Ohtsuki, Toshiya Inada, Tadao, Arinami: Failure to confirm association between AKT1 haplotype and schizophrenia in a Japanese case-control population. The American Society of Human Genetics 54th Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada, October 26-30, 2004
2. Shibata, H., Aramaki, T., Shibata, A., Sakai, M., Ninomiya, H., Tashiro, N., Iwata, N., Ozaki, N. and Fukumaki Y.: Association study of polymorphisms in the GluR6, GluR7, KA1 and KA2 kainate receptor genes (GRIK2, GRIK3, GRIK4, GRIK5) with schizophrenia. 5th HUGO Pacific Meeting and 5th Asia-Pacific Conference on Human Genetics. Biopolis, Singapore. (12/8-11, 2004)
3. Yasue Horiuchi (Univ of Tsukuba), Makoto Arai (Tokyo Inst Psychiat), Tadao Arinami (Univ of Tsukuba): Association of a promoter polymorphism in the PDLIM5 gene and schizophrenia. 8th World Congress of Biological Psychiatry. Vienna, Austria, 2005/07/28
4. H. Ishiguro (Univ of Tsukuba), T. Arinami (Univ of Tsukuba), JSSLG: Multicenter studies of genome-wide scan for linkage to schizophrenia in Japan. 8th World Congress of Biological Psychiatry Vienna, Austria 2005/07/01
5. Iijima Y, Inada T, Arinami T, Ohtsuki T, Maeda T, Iwashita S, Kunigi H, Ozaki N, Iyo M, Harano M, Yamada M, Sekine Y, Sora I, Komiyama T, Iwata N, Ujike H: An association study of methamphetamine psychoses with CHGB. International Congress of the 20th meeting of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, 2005/09/29-30)
6. 堀内泰江(筑波大)、新井 誠(都精研)、新里和宏(都精研)、入谷修二(都精研)、野口恵美子(筑波大)、大槻露華(筑波大)、古賀 農人(筑波大)、加藤忠史(理研)、糸川昌成(都精研)、有波忠雄(筑波大): PDZ and LIM domain protein 5 (PDLIM5) 遺伝子プロモーター多型と統合失調症の相関解析、第 27 回 日本生物学的精神医学会、2005 年 7 月 6 日～8 日、大阪
7. 古賀農人(筑波大)、福田佳子(筑波大)、新井誠(都精研)、新里和宏(都精研)、入谷修二(都精研)、野口恵美子(筑波大)、大槻露華(筑波大)、堀内泰江(筑波大)、石黒浩毅(筑波大)、糸川昌成、有波忠雄(筑波大): Allelic expression of HTR2A and DNA methylation of 102T/C in brains. 第 27 回日本生物学的精神医学会、大阪 2005 年 07 月 06 日.
8. 有波忠雄、古賀農人、石黒浩毅、新井誠、白川治、稲田俊也、吉川武男、糸川昌成 統合失調症と関連する遺伝子発現に影響する脳のメチル化の検索 日本人類遺伝学会第 51 回大会 米子 2006 年 10 月 19 日
9. 堀内泰江、石黒浩毅、古賀農人、稲田俊也、岩田仲生、尾崎紀夫、氏家 寛、村竹辰之、染谷俊幸、有波忠雄 統合失調症と PPP3CC 遺伝子との関連解析 日本人類遺伝学会第 51 回大会 米子 2006 年 10 月 19 日
10. 糸川昌成、小幡菜々子、新井誠、野原泉、羽賀誠一、豊田倫子、山田和男、古川愛造、曾良一郎、橋本亮太、氏家寛、吉川武男 統合失調症における DISC1 遺伝子の稀な変異の解析. 第 3 回日本統合失調症学会、2008.03.14, 東京
11. 石黒浩毅、堀内泰江、古賀農人、稲田俊也、岩田仲生、尾崎紀夫、氏家寛、糸川昌成、功刀浩、佐々木司、渡部雄一郎、染矢俊幸、有波忠雄 統合失調症におけるカナビノイド 2 型受容体の役割 第 3 回日本統合失調症学会、2008.03.14, 東京
12. Shibata, H., Watanabe, K., Tanaka, K., Goto, H., Takenaka, O. and Fukumaki, Y.: Molecular evolutionary study of the ionotropic glutamate-receptor gene family as schizophrenia susceptibility genes: human-specific non-neutral pattern observed in GRIN2B upstream region. The XVth World Congress of Psychiatric Genetics. Osaka. (10/11-15, 2008)

13. Nunokawa A, Watanabe Y, Shibuya S, Kaneko N, Nawa H, Someya T: Association study of interleukin 2 (IL2) and IL4 with schizophrenia in a Japanese population. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress 2008.9.11-13. Toyama
14. Watanabe Y, Muratake T, Nunokawa A, Kaneko N, Someya T: Association study of the rheumatoid arthritis susceptible genes with schizophrenia. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress 2008.9.11-13. Toyama
15. Kaneko N, Amagane H, Muratake T, Nunokawa A, Watanabe Y, Someya T: Search for genetic susceptibility loci of schizophrenia on chromosome 22q. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress 2008.9.11-13. Toyama

③ ポスター発表 ③ (国内会議 19 件、国際会議 17 件)

1. Tsuyuka Ohtsuki (Univ of Tsukuba), Hiroki Ishiguro (Univ of Tsukuba), Makoto Arai (Tokyo Inst Psychiat), Kazuhiro Niizato (Tokyo Inst Psychiat), Shyuji Iritani, Masanari Itokawa (Tokyo Inst Psychiat), Toshiya Inada (Tokyo Inst Psychiat), Tadao Arinami (Univ of Tsukuba), Association between a polymorphism in the GRM7 gene and schizophrenia in a Japanese population. XIIIth World Congress of Psychiatric Genetics, Boston Massachusetts, 2005/10/14-18
2. Goto, H. Shibata, H., Takaji, M., Ninomiya, N., Tashiro, T., Jarusuraisin, N. and Fukumaki, Y.: Locus-wide association study in the 5q33.1 region for schizophrenia susceptibility genes. 55th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics. Salt Lake City, Utah, USA. (10/25-29, 2005)
3. Deng, X., Shibata, H., Ninomiya, H., Tashiro, N., Iwata, N., Ozaki, N. and Fukumaki, Y.: Association study of the glutamate transporter genes, SLC1A1 and SLC1A2 with schizophrenia in the Japanese population. HUGO's 10th Human Genome Meeting. Kyoto, Japan. (4/18-21, 2005)
4. 古賀農人、新井誠、白川治、糸川昌成、稲田俊也、融道男、有波忠雄:メチル化を指標とした統合失調症と関連する遺伝子の探索 第 28 回生物学的精神医学会、2006. 9.14 ~16. 名古屋
5. Horiuchi, Y., Koga, M., Syu, A., Ishiguro, H., & Arinami, T.: Analysis of Pdlm5 (LIM) expression in the mouse brain. XIV World Congress on Psychiatric Genetics, October Cagliari, 10. 28-11.1, 2006
6. Fukumaki, Y. Goto, H., Shibata, H., Takaji, M., Ninomiya, N., Tashiro N. and Jarusuraisin, N.: Locus-wide association study of genes in the 5q33.1 region with schizophrenia. The XIVth World Congress of Psychiatric Genetics, Cagliari, Italy. (10/28-11/1, 2006)
7. Ishiguro, H., Horiuchi, Y., Hall, S., Sakurai, T., Grumet, M., Higuchi, S., Uhl, G.R., & Arinami, T.: Nrcam knockout mice alter their novelty-seeking behavior. 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Atlanta, 10.14-18, 2006.
8. Koga, M., Ishiguro, H., Arai, M., Shirakawa, O., Inada, T., Toru, M., Yoshikawa, T., Itokawa, M., & Arinami, T.: A search for down-regulated genes in schizophrenia brains by DNA methylation screening. 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Atlanta. 10.14-18, 2006
9. 古賀 農人、堀内 泰江、タラール アルブルシ、石黒 浩毅、稲田 俊也、岩田 伸生、尾崎 紀夫、氏家 寛、村竹 辰之、染矢 俊幸、有波 忠雄 大規模な日本人集団における GRM3 遺伝子と統合失調症との関連についての追認研究及びメタ解析第 29 回日本生物学的精神医学会、2007.07.12, 札幌
10. 羽賀誠一、新井誠、大西哲生、野原泉、岩山佳美、新里和弘、伊澤良介、黒田浩、阿部万洋、古川愛造、小幡菜々子、豊田倫子、吉川武男、糸川昌成 (2007) 統合失調症の一卵性双生児一致例に同定したフレームシフト変異. 第 29 回日本生物学的精神医学会、2007.07.12, 札幌
11. 新井誠、大西哲生、羽賀誠一、野原泉、新里和弘、伊澤良介、黒田浩、阿部万洋、古川愛造、小幡菜々子、豊田倫子、吉川武男、糸川昌成 (2007) 稀な遺伝子変異からの統合失調症感受性遺伝子の同定. 第 29 回日本生物学的精神医学会、2007. 07.12, 札幌

- 12.小幡菜々子, 新井誠, 野原泉, 羽賀誠一, 古川愛造, 豊田倫子, 山田和男, 吉川武男, 糸川昌成 (2007) 統合失調症における DISC1 遺伝子の稀な変異の解析. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 13.織壁里名, 山末英典, 石田竜二, 井上秀之, 高柳陽一郎, 糸川昌成, 鈴木道雄, 倉知正佳, 岡崎祐士, 笠井清登 (2007) 覚醒剤精神病患者における統合失調症と共通または特異的な脳形態異常部位の同定. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 14.渡部雄一郎, 布川綾子, 金子尚史, 染矢俊幸: トリプトファン水酸化酵素 1 (TPH1) 遺伝子と統合失調症との関連研究. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 15.布川綾子, 渡部雄一郎, 金子尚史, 村竹辰之, 小泉暢大栄, 染矢俊幸: カテコール-O-メチル転移酵素 (COMT) 遺伝子の機能的多型と統合失調症との関連研究. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 16.金子尚史, 村竹辰之, 桑原秀樹, 黒崎孝則, 武井満, 大槻露華, 有波忠雄, 辻省次, 染矢俊幸: 統合失調症多発罹患家系の全常染色体領域における連鎖解析. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 17.伊藤圭人, 齋藤真一, 高橋長秀, 稲田俊也, 岩田仲生, 尾崎紀夫: ポスター; FXYP6 遺伝子と統合失調症との関連解析. 日本人類遺伝学会第 52 回大会, 2007 年 9 月 東京
- 18.新井 伸作, 柴田 弘紀, 境 真由美, 二宮 秀彰, 岩田 仲生, 尾崎 紀夫, 服巻 保幸: グルタミン酸脱炭酸酵素遺伝子 GAD2 とグルタミン合成酵素遺伝子 GLUL の多型と統合失調症との関連解析. 第 52 回日本人類遺伝学会, 2007 年 9 月 12-15 日 東京.
- 19.柴田 弘紀, 田中 邦佳, 渡邊 和典, 後藤 大輝, 竹中 修, 服巻 保幸: 統合失調症関連遺伝子としてのグルタミン酸受容体遺伝子群の分子進化学的解析. 第 52 回日本人類遺伝学会, 2007 年 9 月 12-15 日 東京
- 20.齋藤真一, 高橋長秀, 伊藤圭人, Branko A, 石原良子, 吉田契造, 稲田俊也, 飯高哲也, 貝淵弘三, 尾崎紀夫: MAPK1 (Mitogen activated protein kinase 1) を候補遺伝子とした統合失調症との関連研究. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 21.臼井比奈子, 高橋長秀, 齋藤真一, 石原良子, 吉田契造, 飯高哲也, 稲田俊也, 尾崎紀夫: MPZL1 遺伝子と統合失調症との関連解析. 第 29 回日本生物学的精神医学会, 2007.07.12, 札幌
- 22.Usui H, Nagahide Takahashi, Shinichi Saito, Ryoko Ishihara, Masashi Ikeda, Tatsuyo Suzuki, Tsuyoshi Kitajima, Yoshio Yamanouchi, Yoko Kinoshita KY, Toshiya Inada, Tetsuya Iidaka, Nakao Iwata, Ozaki N: Association study between the MPZL1/PZR gene and schizophrenia in the Japanese population. 15th World Congress on Psychiatric Genetics, Oct, 2007, New York
- 23.Saito S, Takahashi N, Ito Y, Aleksic B, Ishihara R, Yoshida K, Inada T, Iidaka T, Ozaki N: Association study between the TACR3 gene polymorphisms and Japanese schizophrenia. 15th World Congress on Psychiatric Genetics, Oct, 2007, New York
- 24.Deng X, Sagata N, Takeuchi N, Tanaka M, Shibata H, Ninomiya H, Iwata N, Ozaki N, Fukumaki Y. (2007, 10/07-11) Association study of polymorphisms in the neutral amino acid transporter genes SLC1A4, SLC1A5 and the glycine transporter genes SLC6A9, SLC6A5 with schizophrenia. 15th World Congress on Psychiatric Genetics, Oct, 2007, New York
- 25.Shibata H, Tanaka K, Watanabe K, Goto H, Takenaka O, Fukumaki Y. Molecular evolutionary study of the ionotropic glutamate-receptor gene family as schizophrenia susceptibility genes: human-specific non-neutral pattern observed in GRIN2B upstream region. 57th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Oct. 23-27, 2007 San Diego, CA.
- 26.Arai M, Haga S, Ohnishi T, Nohara I, Obata N, Niizato K, Izawa R, Furukawa A, Iwayama Y, Toyota T, Yoshikawa T, Itokawa M (2007) A novel frameshift mutation of a zinc metalloenzyme identified in a monozygotic twin concordant for schizophrenia. Society



- for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007.11.06, San Diego, USA
27. Ishiguro H, Oriuchi Y, Koga M, Hall S, Sakurai T, Uhl G, Arinami T. Molecular pathway related to Nrcam underlying addiction vulnerability. Society for Neuroscience 37th Annual Meeting, 2007.11.06, San Diego, USA
  28. 臼井比奈子, 吉村智子, 吉見陽, 齋藤真一, 石原良子, 吉田契造, 飯高哲也, 稲田俊也, 尾崎紀夫: GDNF 遺伝子と統合失調症との関連解析. 第15回日本精神・行動遺伝医学会, 2007年11月17日 東京
  29. 渡部雄一郎, 天金秀樹, 布川綾子, 村竹辰之, 金子尚史, 染矢俊幸: 染色体 22q 領域における統合失調症感受性座位の探索. 2007年11月17日 東京
  30. 新井 伸作, 柴田 弘紀, 境 真由美, 二宮 秀彰, 岩田 仲生, 尾崎 紀夫, 服巻 保幸 (2007, 12/22-15) 統合失調症とグルタミン酸脱炭酸酵素遺伝子およびグルタミン合成酵素遺伝子 (GAD2, GLUL) の多型との関連解析. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月15日 横浜.
  31. 鄧 湘東, 柴田 弘紀, 黒木 俊秀, 中原 辰雄, 橋本 喜二郎, 二宮英彰, 岩田 仲生, 尾崎 紀夫, 服巻 保幸 (2007, 12/22-15) フェンシクリジン (PCP) 応答性遺伝子群を対象とした統合失調症感受性遺伝子の探索. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月15日 横浜.
  32. 渡邊 和典, 田中 邦佳, 後藤 大輝, 竹中 修, 服巻 保幸, 柴田 弘紀 (2007, 12/22-15) イオンチャンネル型グルタミン酸受容体遺伝子群 14 種の上流調節領域の分子進化学的解析. 第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会, 2007年12月15日 横浜.
  33. Arai M, Yuzawa H, Nohara I, Haga S, Ohnishi T, Obata N, Toyota T, Ujike H, Matsushita M, Okazaki Y, Yoshikawa T, Miyata T, Itokawa M Novel frameshift mutation of a zinc metalloenzyme identified in a monozygotic twin concordant for schizophrenia. 第3回日本統合失調症学会, 2008.03.15, 東京
  34. Syu A, Ishiguro H, Horiuchi Y, Koga M, Inada T, Takahashi M, Itokawa M, Kakita A, Nawa H, Takahashi H, Arinami A. Association of polymorphisms in the GABRG3 gene and antipsychotic-induced tardive dyskinesia. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008/10/14, Osaka
  35. Koga M, Yazaki S, Arai M, Inada AT, Itokawa M, Arinami T. A search for schizophrenia associated genes regulated by epigenetical gene expression. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008/10/14, Osaka.
  36. Ishiguro H, Koga M, Horiuchi Y, Noguchi E, arai M, Niizato K, Iritani S, Itokawa M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Arinami T. Supportive evidence for reduced expression of GNB1L in schizophrenia. XVIth World Congress on Psychiatric Genetics, 2008/10/14, Osaka.

(3)特許出願

①国内出願 (3 件)

1. 統合失調症の判定方法、糸川昌成、新井誠 [2007/08/10]、特願 2007-209412
2. 統合失調症の検査および治療、糸川昌成、宮田敏男、新井誠 [2007/08/20]、特願 2007-214047
3. 遺伝子変異を用いた筋萎縮性側索硬化症の予測法、糸川昌成、新井誠、長谷川成人、野中隆、秋山治彦、新井哲明 [2008/04/01]、特願 2008-095035

その他 0件

②海外出願 (0 件)

なし

その他 0 件

#### (4)受賞等

##### ①受賞

有波忠雄、稲田俊也、石黒浩毅、古賀農人、堀内泰江、尾崎紀夫:The JSCNP Dr. Paul Yanssen Research Award, 2008年

##### ②新聞報道

有波忠雄:日本産業新聞 2008年10月17日

##### ③その他

#### (5)その他特記事項

なし

## §7 研究期間中の主な活動

ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成16年 7月22日	日本都市センター会館	第2回 JSSLG/CR EST会議	35人	大規模統合失調症ゲノム解析の打ち合わせ
平成16年 12月14日	アルカディア市ヶ谷私学会館	第3回 JSSLG/CR EST会議	27人	大規模統合失調症ゲノム解析の打ち合わせ
平成17年 5月18日	臨時 JSSLG/統合失調症 CREST 会議	ソニックシティ(大宮)	18人	統合失調症の連鎖解析後の研究方針の検討
平成17年 7月6日	第19回 JSSLG/統合失調症 CREST 会議	ホテルアウイーナ大阪	31人	統合失調症の連鎖解析結果の発表法の確認と JSSLG 研究方針の確認
平成17年 12月12日	第20回 JSSLG/統合失調症 CREST 会議	アルカディア市ヶ谷(東京)	28人	統合失調症の共同研究 JSSLG の今後の活用法についての協議
平成18年 11月18日	第1回 JIRAS/CREST 会議	筑波大学総合研究棟D	27人	統合失調症の日本人を対象とした大規模関連解析研究グループの結成
平成19年 3月24日	第2回 JIRAS/CREST 会議	富山国際会議場	12人	統合失調症の日本人を対象とした大規模関連解析研究グループの具体的運用の取り決めの確認

## §8 結び

統合失調症のゲノムワイド関連解析はヨーロッパ人を対象とした解析が万を超えるサンプルサイズで進行中で、結果が出ようとしている。現時点で知るところでは、多くのサンプルで関連が確認された SNPs のオッズ比は 1.1 以下のものがほとんどであり、P 値も確認サンプルでゲノムワイドレベルでは有意に達するものはほとんどない。統合失調症に関わる新生のコピー数変異解析の結果も

ほぼ出ており、それらは奇形や精神遅滞などを伴ういわば症候群性の非家族性の統合失調症にみられ、統合失調症集団でも精神遅滞や自閉症集団と同頻度で存在することが明らかになった。統計学的に確実な証拠は難しい状況であることは依然変わりなく、万を超えるサンプルサイズが必要で、関連の機能的な意味を付加する必要を示している。中間評価では統計学的な証拠をしっかりと出すことと機能解析を深めることの 2 点が指摘されたが、まさにこのことを予言されたものであった。

5 年前、研究をスタートしたときにはほとんどの施設でゲノムワイド関連解析は不可能であった。研究資源をどのように投入するか、選択の道は他にもあったと思うが、統合失調症の研究に統計学的証拠だけを追求することはリスクが大きく、結果的には機能解析にかなり力を入れる方針にした。その結果、研究期間内では解析が終了せず、多くの宿題が残ったとも言える。この他に、数千の規模のサンプルサイズで関連解析をすることを研究法の原則にしたことは世界に先駆けた。本研究では日本の統合失調症の分子遺伝学的研究をになう多くの研究者に参加していただいた。研究参加者は独創的な手法で新たな研究の基礎を築き、成果をあげつつあり、さらに研究を発展させている。本研究の経験がそれに少しでも役立ったのではないかと考えている。

統合失調症の分子遺伝学研究に関する CREST の研究は画期的なことであった。宿題が残ったこともあり、その成果は数年後でないと思わないと思うが、本研究にご支援いただいた方々に心より感謝を申し上げたい。



有波チーム 2008 年