

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 基盤研究(B)  
 研究期間： 2007 ～ 2009  
 課題番号： 19390304  
 研究課題名（和文） 認知機能と神経画像を中間表現型とする統合失調症の分子病態解明  
 研究課題名（英文） Analysis of molecular pathophysiology of schizophrenia using cognitive function and neuroimaging as an intermediate phenotype

研究代表者  
 尾崎 紀夫 (OZAKI NORIO)  
 名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
 研究者番号： 40281480

## 研究成果の概要（和文）：

統合失調症の病態を検討するに際して、診断ではなく、神経画像や薬物に対する反応性を指標として、遺伝子解析を行った。その結果、神経画像との関係では、神経成長因子の遺伝子が、脳の構造に影響を与えることが判明した。薬物に対する治療反応性との関係では、脳内伝達物質であるドーパミン遺伝子との関連および新たな遺伝子との関連が明らかになった。さらに、薬物による副作用との関係では、脳内伝達物質であるガンマアミノ酪酸遺伝子との関連が確認された。

## 研究成果の概要（英文）：

We conducted the genetic association with neuroimaging data and response to a therapeutic drug instead of diagnosis to investigate the molecular pathophysiology of schizophrenia. As a result a neurotrophic factor gene showed the association with brain structure measured by neuroimaging technique. The therapeutic response to medication had association with dopaminergic genes and newly found genes. In addition, the analysis revealed the association between adverse events induced by medication and gabanergic genes.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2009 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：統合失調症, ゲノム, 認知機能, 神経画像, 中間表現型

## 1. 研究開始当初の背景

現在、汎用されている統合失調症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) 統合失調症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。

これらの問題点を解消するため、近年、更なる解決手段として、中間表現型(intermediate phenotype)と遺伝型との関係を検討する方法が着目されていた。

この様な目的で用いられる中間表現型としては、統合失調症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。一方、認知機能のうち作業記憶、遂行機能、注意維持機能とMRIによって定量化された脳構造画像は、統合失調症と健常人と比較すると差異があることが報告され、加えて、遺伝性(遺伝率の高さや患者の第一度親族にも見られる異常値)が確認されている。すなわち、前述の認知機能やMRI画像から得られた指標は、統合失調症の中間表現型としての条件に相応しいと考えられた。

## 2. 研究の目的

統合失調症の診断に加え、一定の抗精神病薬治療後の症状評価、認知機能、MRIにより測定された脳体積を得る。候補遺伝子としては、シナプス形成に影響を与える遺伝子を選定する。また、全ゲノム上の連鎖もしくは関連解析で統合失調症の発症脆弱遺伝子座位と考えられる染色体上の位置に存在する遺伝子を重視する。

その上で、(1) 大規模 case-control(1000 対 1000)での発症脆弱性遺伝子を検討する。(2) 症状評価をもとに症状修飾遺伝子の検討。(3) 認知機能、神経画像で得られた各測定値と(1)(2)で得られた候補遺伝子多型との関連を統計的手法を用いて確認。(4) 遺伝統計学的有意差が生じた遺伝子多型はその遺伝子産物に与える影響に関して細胞生物学的手法や遺伝子改変モデルを用いて検討。期間内には候補遺伝子として妥当な遺伝子に関して解析を完了させる。

## 3. 研究の方法

(1) 認知機能及びMRI測定を行ったゲノムサンプル収集：すでに収集済みのゲノムサンプル(準備状況参照)に加えて、以下のゲノムサンプルを追加採取し、サンプル数を増やすことで、解析パワーを上げた。

対象：DSM-IV TRにより統合失調症と診断した患者から文書による Informed Consent を得た上で、末梢血を採取して、ゲノム抽出を行った。

一般臨床情報：DSM-IV TRの下位分類、経過分類、発症年齢、入院歴、家族歴、などを収集した。

症状評価：リスペリドン単剤による治療を8週以上経過した後(以下の4,5の測定も同時期に行う)で、精神症状評価尺度である

Positive and Negative Symptom Scale (PANSS)を用いて症状評価を行った。

認知機能の測定：作業記憶に関してはn-Back test(1-back, 2-backでのaccuracyとreaction timeを測定)、遂行機能に関してはWisconsin Card Sorting Test(Categories Achieved(CA)とPerseverative Errors of Nelson(PEN)を測定)、注意維持に関してはContinuous Performance Test(d'を測定)を行った。

MRIによる中枢神経構造測定：脳MRI撮像データのうちT1強調画像(MPRAGE, スライス厚1mm)のデータStatistical Parametric Mapping 2 (SPM2)によるVoxel-Based Morphometryによって解析し、全脳を対象とした構造情報を定量的に検討した。また、上側頭回灰白質などの関心領域の解析にはDr. View(旭化成情報システム:現有)などのソフトを用いた解析を行った。

## (2) ゲノム解析

### 候補遺伝子の選定：

①シナプス形成に影響を与えることが判明し、認知機能に関与することが遺伝子改変動物を用いた行動実験から明らかになっている遺伝子

②統合失調症の全ゲノム解析特に、日本人での解析結果を重視し、統合失調症発症脆弱遺伝子が位置する可能性が高い部位に存在する遺伝子

以上の二つの観点から、候補遺伝子を選択した。

### 遺伝子多型同定(genotype)：

各候補遺伝子および発現部位にある遺伝子多型の選定はすでに完備しているSNPデータベースを用いて選定する。遺伝子多型の同定は既存装置であるABI7900, ABI3100, WAVEdHPLC, PCR装置、電気泳動装置を用いてTaqMan法、PCR-RFLP法、Direct Sequence法により行った。

### 遺伝統計的検討法：

過剰な genotyping と多重比較検定を避けるために、連鎖不平衡にある遺伝子多型の中から、より情報量の高い遺伝子多型 (haplotype-tagging SNPs) を選出し、関連解析を行った。また、遺伝子-遺伝子相互関係についても配慮して、ニューラルネットワークを用いた解析で対応した。なお、遺伝統計学的手法は急速な進展をとげており、本研究課題遂行中も妥当性の最も高いものを選択するべく心がけた。

#### 4. 研究成果

##### (1) MRI 構造画像を中間表現型とした検討結果

DISC1 Ser704Cys, BDNF Val66Met, DRD3 Ser9Gly 遺伝子多型と MRI 構造画像を中間表現型とした検討した結果、以下の事実が確認された。

①DISC1 Ser704Cys: 健常な Cys carriers は medial superior frontal gyrus と short insular cortex が Ser ホモの群に比べ有意に大きかった。また、統合失調症 Cys carriers は supramarginal gyrus が Ser ホモに比べて有意に小さかった。

②BDNF Val66Met: 健常者において Met carriers は、parahippocampal gyrus と left superior frontal gyrus が、Val ホモ群より有意に小さかった。統合失調症群において、Met carriers は、right parahippocampal gyrus が Val ホモ群より有意に小さかった。

③DRD3 Ser9Gly: DRD3 Ser/Ser と BDNF Met carriers は、adhesio interthalamica が短かった。

##### (2) リスペリドン単剤による治療反応性を中間表現型とした検討

##### ①ドパミン (DA) 系およびセロトニン (5-HT) 系を候補遺伝子とした検討

DA 系 (DRD1-DRD5, AKT1 and GSK3beta) と 5-HT 系 (HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR2A, HTR2C, HTR6 and HTR7) 遺伝子を候補遺伝子として選択してリスペリドンの治療効果反応性との関連を検討した。その結果、30 の遺伝子多型のうち、DRD2 (-241A>G [rs1799978] and TaqIA [rs1800497]), AKT1 (AKT1-SNP1 [rs3803300] and AKT1-SNP5 [rs2494732]) がリスペリドン治療効果反応性の予測因子であることが判明した。

##### ②全ゲノム解析と網羅的発現解析の結果

リスペリドン治療効果反応性の予測因子を網羅的に明らかにするため、まず全ゲノム関連解析 (100K SNP) を行い、次にリスペリドン投与後のマウス前頭葉を対象にトランスクリプトーム解析を行った。その結果、14 個の遺伝子がリスペリドン治療効果反応性の予測因子として、選択された。すなわち、ATP2B2, HS3ST2, UNC5C, BAG3, PDE7B,

PAICS, PTGFRN, NR3C2, ZBTB20, ST6GAL2, PIP5K1B, EPHA6, KCNH5, and AJAP1 である。この 14 個のうち、PDE7B (rs9389370) は統合失調症そのものとも関連が検出された。③遅発性ジスキネジア (TD) に関連する遺伝子の全ゲノム関連解析

Sentrix Human-1 Genotyping BeadChip (Illumina, San Diego, California, USA) を用いて、TD のある統合失調症 50 例と TD のない統合失調症 50 例を比較検討した。ABAT, ALDH9A1, GABRA3, GABRA4, GABRB2, GABRAG3, GPHN, and SLC6A11 で有意な結果が得られたので、第二サンプルとして、TD のある統合失調症 36 例と TD のない統合失調症 136 例の検討を行った。その結果、SLC6A11 (GABA transporter 3) (P=0.0004 in the total sample), GABRB2 (beta-2 subunit of GABA-A receptor) (P=0.00007 in the total sample), and GABRG3 (gamma-3 subunit of GABA-A receptor) (P=0.0006 in the total sample) では、両方で有意な所見が得られた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 58 件)

1. Takahashi, M., H. Hayashi, Y. Watanabe, K. Sawamura, N. Fukui, J. Watanabe, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, N. Iwata, K. Mizukami, T. Hori, K. Shimoda, H. Ujike, N. Ozaki, K. Iijima, K. Takemura, H. Aoshima, and T. Someya, Diagnostic classification of schizophrenia by neural network analysis of blood-based gene expression signatures. *Schizophr Res.* (in press 2010), 査読有り
2. Kushima, I., B. Aleksic, Y. Ito, Y. Nakamura, K. Nakamura, N. Mori, M. Kikuchi, T. Inada, H. Kunugi, S. Nanko, T. Kato, T. Yoshikawa, H. Ujike, M. Suzuki, N. Iwata, and N. Ozaki, Association study of ubiquitin-specific peptidase 46 (USP46) with bipolar disorder and schizophrenia in a Japanese population. *J Hum Genet.* (in press 2010), 査読有り
3. Kushima, I., B. Aleksic, M. Ikeda, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, Y. Ito, Y. Nakamura, T. Inada, N. Iwata, and N. Ozaki, Association study of bromodomain-containing 1 gene with schizophrenia in Japanese population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* (in press 2010), 査読有り

4. Aleksic, B., I. Kushima, Y. Ito, Y. Nakamura, H. Ujike, M. Suzuki, T. Inada, R. Hashimoto, M. Takeda, N. Iwata, and N. Ozaki, Genetic association study of KREMEN1 and DKK1 and schizophrenia in a Japanese population. *Schizophr Res.* (in press 2010) , 査読有り
5. Ikeda, M., Y. Tomita, A. Mouri, M. Koga, T. Okochi, R. Yoshimura, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, R. Hashimoto, H. J. Williams, M. Takeda, J. Nakamura, T. Nabeshima, M. J. Owen, M. C. O'Donovan, H. Honda, T. Arinami, N. Ozaki, and N. Iwata, Identification of novel candidate genes for treatment response to risperidone and susceptibility for schizophrenia: integrated analysis among pharmacogenomics, mouse expression, and genetic case-control association approaches. *Biol Psychiatry.* 67(3), 263-9 (2010) , 査読有り
6. Ikeda, M., B. Aleksic, G. Kirov, Y. Kinoshita, Y. Yamanouchi, T. Kitajima, K. Kawashima, T. Okochi, T. Kishi, I. Zaharieva, M. J. Owen, M. C. O'Donovan, N. Ozaki, and N. Iwata, Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. *Biol Psychiatry.* 67(3), 283-6 (2010) , 査読有り
7. Takahashi, T., M. Suzuki, M. Tsunoda, N. Maeno, Y. Kawasaki, S.Y. Zhou, H. Hagino, L. Niu, H. Tsuneki, S. Kobayashi, T. Sasaoka, H. Seto, M. Kurachi, and N. Ozaki, The Disrupted-in-Schizophrenia-1 Ser704Cys polymorphism and brain morphology in schizophrenia. *Psychiatry Res.* 172(2), 128-35 (2009) , 査読有り
8. Kawashima, K., M. Ikeda, T. Kishi, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, T. Okochi, B. Aleksic, M. Tomita, T. Okada, H. Kunugi, T. Inada, N. Ozaki, and N. Iwata, BDNF is not associated with schizophrenia: data from a Japanese population study and meta-analysis. *Schizophr Res.* 112(1-3), 72-9 (2009) , 査読有り
9. Yoshimi, A., N. Takahashi, S. Saito, Y. Ito, B. Aleksic, H. Usui, Y. Kawamura, Y. Waki, T. Yoshikawa, T. Kato, N. Iwata, T. Inada, Y. Noda, and N. Ozaki, Genetic analysis of the gene coding for DARPP-32 (PPP1R1B) in Japanese patients with schizophrenia or bipolar disorder. *Schizophr Res.* 100(1-3), 334-41 (2008) , 査読有り
10. Saito, S., N. Takahashi, N. Maeno, Y. Ito, B. Aleksic, H. Usui, T. Iidaka, T. Inada, and N. Ozaki, An association study of tachykinin receptor 3 gene with schizophrenia in the Japanese population. *Neuroreport.* 19(4), 471-473 (2008) , 査読有り
11. Kuratomi, G., K. Iwamoto, M. Bundo, I. Kusumi, N. Kato, N. Iwata, N. Ozaki, and T. Kato, Aberrant DNA methylation associated with bipolar disorder identified from discordant monozygotic twins. *Mol Psychiatry.* 13(4), 429-41 (2008) , 査読有り
12. Kishimoto, M., H. Ujike, Y. Motohashi, Y. Tanaka, Y. Okahisa, T. Kotaka, M. Harano, T. Inada, M. Yamada, T. Komiyama, T. Hori, Y. Sekine, N. Iwata, I. Sora, M. Iyo, N. Ozaki, and S. Kuroda, The Dysbindin Gene (DTNBP1) Is Associated with Methamphetamine Psychosis. *Biol Psychiatry.* 63(2), 191-196 (2008) , 査読有り
13. Ji, X., N. Takahashi, S. Saito, R. Ishihara, N. Maeno, T. Inada, and N. Ozaki, Relationship between three serotonin receptor subtypes (HTR3A, HTR2A and HTR4) and treatment-resistant schizophrenia in the Japanese population. *Neurosci Lett.* 435(2), 95-8 (2008) , 査読有り
14. Inada, T., M. Koga, H. Ishiguro, Y. Horiuchi, A. Syu, T. Yoshio, N. Takahashi, N. Ozaki, and T. Arinami, 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) , 査読有り
15. Ikeda, M., Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, T. Kitajima, R. Yoshimura, S. Hashimoto, M. C. O'Donovan, J. Nakamura, N. Ozaki, and N. Iwata, Variants of dopamine and serotonin candidate genes as predictors of response to risperidone treatment in first-episode schizophrenia. *Pharmacogenomics.* 9(10), 1437-43 (2008) , 査読有り
16. Ikeda, M., N. Takahashi, S. Saito, B. Aleksic, Y. Watanabe, A. Nunokawa, Y. Yamanouchi, T. Kitajima, Y. Kinoshita, T. Kishi, K. Kawashima, R. Hashimoto, H. Ujike, T. Inada, T. Someya, M. Takeda, N. Ozaki, and N. Iwata, Failure to replicate the association between NRG1

- and schizophrenia using Japanese large sample. *Schizophr Res.* 101(1-3), 1-8 (2008) , 査読有り
17. Ikeda, M., T. Hikita, S. Taya, J. Uruguchi-Asaki, K. Toyo-oka, A. Wynshaw-Boris, H. Ujike, T. Inada, K. Takao, T. Miyakawa, N. Ozaki, K. Kaibuchi, and N. Iwata, Identification of YWHAE, a gene encoding 14-3-3epsilon, as a possible susceptibility gene for schizophrenia. *Hum Mol Genet.* 17(20), 3212-22 (2008) , 査読有り
  18. Aleksic, B., M. Ikeda, R. Ishihara, S. Saito, T. Inada, N. Iwata, and N. Ozaki, N. Ozaki, o association between the oligodendrocyte-related gene PLP1 and schizophrenia in the Japanese population. *J Hum Genet.* 53(9), 863-6 (2008) , 査読有り
  19. Matsuzawa, D., K. Hashimoto, R. Miyatake, Y. Shirayama, E. Shimizu, K. Maeda, Y. Suzuki, Y. Mashimo, Y. Sekine, T. Inada, N. Ozaki, N. Iwata, M. Harano, T. Komiyama, M. Yamada, I. Sora, H. Ujike, A. Hata, A. Sawa, and M. Iyo, Identification of Functional Polymorphisms in the Promoter Region of the Human PICK1 Gene and Their Association With Methamphetamine Psychosis. *Am J Psychiatry.* 164(7), 1105-14 (2007) , 査読有り
  20. Maeno, N., N. Takahashi, S. Saito, X. Ji, R. Ishihara, N. Aoyama, A. Branko, H. Miura, M. Ikeda, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, N. Iwata, T. Inada, and N. Ozaki, Association of SOX10 with schizophrenia in the Japanese population. *Psychiatr Genet.* 17(4), 227-231 (2007) , 査読有り
  21. Maeno, N., N. Takahashi, S. Saito, X. Ji, A. Branko, R. Ishihara, K. Yoshida, T. Inada, T. Iidaka, and N. Ozaki, Association study between the transferrin gene and schizophrenia in the Japanese population. *Neuroreport.* 18(5), 517-20 (2007) , 査読有り
  22. Ikeda, M., N. Ozaki, Y. Yamanouchi, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Kinoshita, T. Inada, and N. Iwata, No association between the glutamate decarboxylase 67 gene (GAD1) and schizophrenia in the Japanese population. *Schizophr Res.* 91(1-3), 22-6 (2007) , 査読有り
  23. Ikeda, M., N. Ozaki, T. Suzuki, T. Kitajima, Y. Yamanouchi, Y. Kinoshita, T. Kishi, Y. Sekine, M. Iyo, M. Harano, T. Komiyama, M. Yamada, I. Sora, H. Ujike, T. Inada, and N. Iwata, Possible association of beta-arrestin 2 gene with methamphetamine use disorder, but not schizophrenia. *Genes Brain Behav.* 6(1), 107-12 (2007) , 査読有り
  24. Hashimoto, R., H. Hashimoto, N. Shintani, S. Chiba, S. Hattori, T. Okada, M. Nakajima, K. Tanaka, N. Kawagishi, K. Nemoto, T. Mori, T. Ohnishi, H. Noguchi, H. Hori, T. Suzuki, N. Iwata, N. Ozaki, T. Nakabayashi, O. Saitoh, A. Kosuga, M. Tatsumi, K. Kamijima, D.R. Weinberger, H. Kunugi, and A. Baba, Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 12(11), 1026-1032 (2007) , 査読有り
  25. Aleksic, B., R. Ishihara, N. Takahashi, N. Maeno, X. Ji, S. Saito, T. Inada, and N. Ozaki, Gap junction coding genes and schizophrenia: a genetic association study. *J Hum Genet.* 52(6), 498-501 (2007) , 査読有り
- [学会発表] (計 6件)
1. Ozaki, N.. *DISC1-interacting molecule and schizophrenia.* in *9th World Congress of Biological Psychiatry: Symposium Genetic strategies in the search for genes in schizophrenia.* 2009. Paris, France. 28 June to 02 July
  2. Ozaki, N.. *Glia-related gene and schizophrenia: Invited lecture.* in *The Third Dual Congress on: "Psychiatry and the Neurosciences".* 2008. Athens. 10/16-19
  3. 尾崎紀夫. 統合失調症モデル動物に臨床医が望むこと. in 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会. 2008. 東京. 10/1-3
  4. Ozaki, N.. *From Gene to Phenotype in Schizophrenia: Invited lecture.* in *2nd WFSBP Asia-Pacific Congress.* 2008. Toyama. 9/10-13
  5. Ozaki, N.. *Endophenotype Approach of Mental Disorders: Bridging between Genotype and Phenotype.* in *2008 International Conference on Pharmacogenomics Symposium :New Paradigm of Pharmacogenomics: to be alone or together Invited.* 2008 Busan, Korea. 9-12 April
  6. Ozaki, N., M. Ikeda, S. Taya, K. Kaibuchi, and N. Iwata. *DISC1-interacting molecules and pathogenesis of schizophrenia: Candidate gene approach.* in *2nd WFSBP International Congress of Biological Psychiatry :Symposium Pathogenesis of Schizophrenia.* 2007. Chilli. 4/17-21

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾崎 紀夫 ( OZAKI NORIO )  
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：40281480

(2) 研究分担者

飯高 哲也 ( IIDAKA TETSUYA )  
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：70324366

(3) 連携研究者

岩田 仲生 ( IWATA NAKAO )  
藤田保健衛生大学・医学部・教授  
研究者番号：60312112