

平成 22 年 6 月 2 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2005～2009

課題番号：17019029

研究課題名（和文） 精神疾患の遺伝子探索

研究課題名（英文） A Search for Risk Genes of Psychiatric Disorders

研究代表者 岡崎 祐士 (OKAZAKI YUJI)

東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所 客員研究員

研究者番号：40010318

研究成果の概要（和文）：

不安発作の反復と予期不安を主症状とし生活に強い制約をもたらすパニック障害(PD)は、人口の2%が罹患し遺伝性も強いが遺伝的側面の解明は遅れている。本研究の結果、1000を超える世界最大のDNA標本を確立し、1塩基及びコピー数多型のスクリーニングを行い1、14、19番染色体に疾患と関連するcommon CNVを見出し、精査中である。また、パニック障害不一致一卵性双生児間及び家族歴有無群間の近赤外スペクトロスコーピー所見の比較から、前頭葉内側部の血流低下が形質指標であり、中間表現型である可能性を見出した。

研究成果の概要（英文）：

Panic disorder (PD) is characterized by the recurrence of anxiety attacks and anticipatory anxiety that causes extensive restriction in daily activities. It is known that 2% of general population suffers from the disorder and genetic factor plays a role in the causation. We have established the largest DNA sample in the world, and searched risk SNPs, CNVs and micro chromosomal abnormalities for PD using 900k SNPs chip and CGH arrays. Common CNVs on chromosome 11, 14, 19 were found to be associated with PD and further analysis is in progress. We also found hypo-activation of prefrontal cortex is a trait and intermediate phenotype of PD, through NIRS measurements comparing between twins from identical twin pairs discordant for PD and between PD patients with and without family history.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	25,200,000	0	25,200,000
2006年度	25,300,000	0	25,300,000
2007年度	25,000,000	0	25,000,000
2008年度	23,500,000	0	23,500,000
2009年度	23,600,000	0	23,600,000
総計	122,600,000	0	122,600,000

研究分野：精神神経科学

科研費の分科・細目：

キーワード：panic disorder, risk genes, GWAS, SNPs, CNVs, CGH array, twin NIRS

1. 研究開始当初の背景

精神疾患のほとんどは common disease であり、脆弱性-ストレスモデルによって説明されているが、脆弱性の中核的要因は遺伝的要因によると考えられている。

しかし、他の common disease と同じく精神疾患の疾患感受性またはリスク遺伝子の探索は困難を極めている。異種性、遺伝モデル未確定に加え、診断が症状のみに拠っていることなどが原因と考えられている。

遺伝因の関与が明らかな主な精神疾患のうち、統合失調症、気分障害、自閉症は研究が進んでいるが、不安障害は研究が遅れている。精神疾患遺伝子探索研究を目的とする研究費の対象疾患も考慮し、本研究では不安障害の中心的疾患であるパニック障害を対象疾患とした。

パニック障害は、高頻度（2%前後）の疾患であり、反復する不安発作、予期不安を主症状とし、外出できない、乗り物に乗れない等の空間恐怖が高率に随伴し、生活に多大な制限を惹起するため、患者・家族の病態解明と治療法開発への要望が強い。

また、第一度血縁者の罹患リスクは3.5-10、遺伝率0.48と高く、ゲノム共有率が高いほど罹患率が高い。成因への遺伝因の関与が強く推定されている。しかし、国際的にも小規模な研究しかなく、遅れていた。

わが国にはパニック障害専門クリニックが存在し、多数のパニック障害患者およびご家族の協力を得られる条件が存在し、大きなパニック障害DNA標本を確立できる可能性があった。

2. 研究の目的

本研究は、パニック障害の感受性あるいはリスク遺伝子の探索同定を通じて、病態の解明、創薬や治療法の開発をめざすものである。

具体的には、以下のように具体化された。

- (1) 1000例以上のパニック障害DNA標本
- (2) パニック障害への遺伝因の関与の検討及び中間表現型の探索（近赤外光スペクトロスコピー、NIRSによる脳画像研究）
- (3) 染色体構造異常の検索（CGHアレイ）
- (4) 疾患感受性または疾患リスク遺伝子探索（SNPsチップによる全ゲノム相関解析、GWAS及びCNVs検索、及びパニック障害双生児不一致一卵性双生児の遺伝子発現再解析）

3. 研究の方法

研究代表者の所属する研究施設（三重大学、当時）で研究計画全体について医学部研究倫理委員会で承認を受け、併せて分担研究者の所属施設の倫理委員会において承認を受けて、それにしたがって以下の手順で行った。

- (1) パニック障害患者の試料収集
- ①研究協力者貝谷久宣の協力を得て東京及び

名古屋のクリニック、及び分担研究者所属大学附属病院（新潟大、東京大、三重大等）でパニック障害患者の試料を収集。

②文書による協力同意が得られたパニック障害患者から採血および爪断片の収集・保存。

③血液及び爪からDNA抽出。

なお、その他の疾患と健常者の試料も、両クリニック及び分担研究者所属施設等で収集

(2) 臨床評価の実施

精神疾患簡易構造化面接（MINI）によるDSM-IV診断、WAIS-R短縮版知能検査、パニック障害重症度評価（P&A尺度）、うつ病自己質問紙（SDS）、気質性格評価質問紙NEO-I等、を行った。

(3) SNPsチップによる全ゲノム検索による疾患関連SNPsまたはCNV多型の検索

2007-8年にAffymetrix社製500kチップ
2009-10年には900kチップでスクリーニング。関連が認められたSNPsやCNVsについて、応用ゲノムタイピングセンター（東大医学部人類遺伝学教室、徳永教授）にて同センター開発のDigiTag2システムで二次スクリーニング

(4) 染色体スクリーニング

多発家族例はアレイCGH（Comparative Genomic Hybridization、松本開発）で検索

(5) 精神疾患不一致一卵性双生児リンパ芽球の遺伝子発現差異解析（理研BSIの加藤開発）

(6) パニック障害の中間表現型の脳画像研究

- ①多数例にNIRSを行い、一部にMRIも実施。

- ②家族歴有無による比較、一卵性双生児パニック障害不一致ペア内の比較を行った。

4. 研究成果

主な研究成果は、以下の通りである。

(1) 世界最大のパニック障害DNA標本確立

- ①専門クリニックにおいて1,000例余りのパニック障害患者の協力を得た。直近の世代における民族の混血がないパニック障害サンプルとしては世界最大である。今後の研究発展のためにも非常に有用性が高い。

この他、大学や研究機関の協力で約300例、韓国の共同研究者から約300例が利用可能となった。また多発家系、一卵性双生児不一致例の標本も含まれている。

- ②1000例を超える健常対照標本確立

(2) 染色体スクリーニング

分担研究者の松本は、FISH検証済みBAC4234クローン搭載全ゲノムマイクロアレイを作成、多発家系例を中心とするパニック障害患者42例にCGHを実施。異常が疑われた231箇所（重複90と欠失147）中、CNVデータベースに多型登録のない58クロソンのFISHを行い、明らかな重複1カ所、欠失2カ所（13番400kbと5番の400kb未満）を1例ずつ検出、追加FISHで重複領域および欠損領域を追試・確認した。その病的意義を考察するもパニック障害との明らかな関連を見出せなかった。同方法で検討した

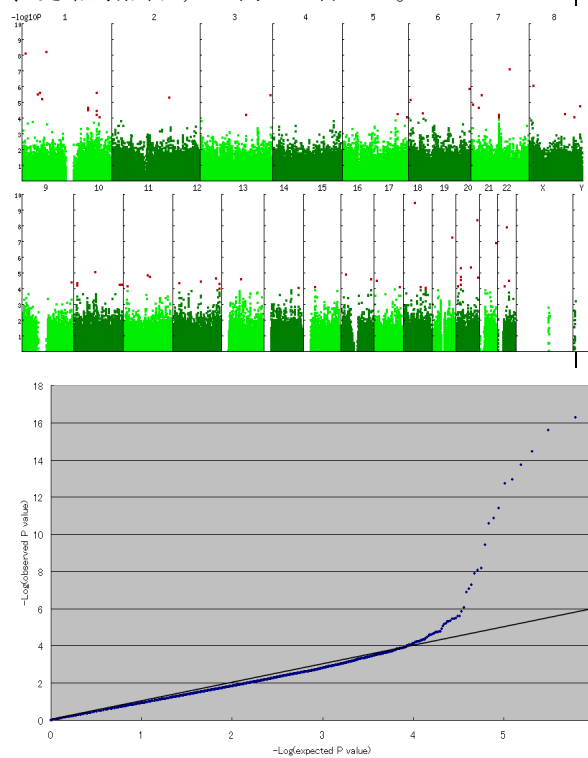
統合失調症59例の結果（異常例10%）と比較すると、病的重複・欠損変異はパニック障害（0%）より高く、CNV頻度は精神疾患により明らかに違う可能性が示された。

(3) パニック障害のgenome-wide association study (GWAS)

パニック障害のGWASは、当初Affymetrix社製の500k SNPチップ（GeneChip Human Mapping 500K Array Set）を用いて、患者200例、健常対照200例で行った。その結果、allele p値 10^{-6} 以下のレベルで、*CLU* (*Apolipoprotein J*) 遺伝子上のものなど7 SNPが見出された。

その後、同社製の900k SNPチップを用いたGWASを、患者、健常対照それぞれ約600例に実施した。data cleaning後に統計検定が実施できたのは患者560例、健常対照601例であった。data cleaningの条件をクリアしたSNPはallele p値 10^{-4} 以下のレベルのもの約60と既報のallele p値 10^{-3} 前後の約30SNPsを合わせて96サンプルを二次replication用を選択、現在、DigiTag2システムを用いたタイピング作業中。まもなく終了予定である。

なお、2次サンプルは現時点では患者806例、健常対照約1,106例にて行った。



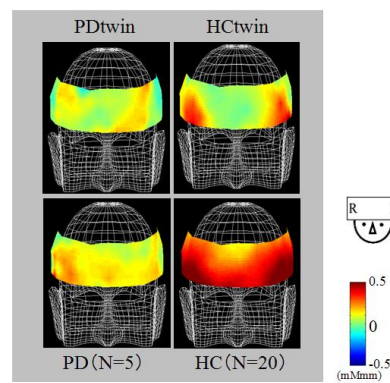
(4) パニック障害のゲノムワイドCNV解析

パニック障害患者595名、対照626名の末梢血DNAを用いて、Affymetrix Genome-Wide Human SNP array 6.0によるCNV detection, Birdsuite 1.4によるCNV determinationを行った。data cleaningの後、患者560名、対照601名に対し、PLINK 1.07を用いて、稀なCNVに対するglobal burden解析、および、common CNVに対するカイ二乗検定を行った。その結果

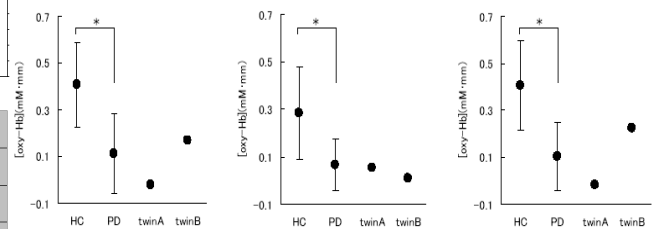
、3,434 deletionsと1,889 duplicationsの計5,323のCNVが見出された。rare CNVとしては915 deletionsと1,635duplicationsが、common CNVとしては2,519 deletionsと254 duplicationsが見出された。Common CNVのdeletionで、1番染色体、14番染色体、19番染色体で補正後にも有意な関連が見出され、common CNVがPDのリスクを増加させる可能性が示された。現在詳しい解析を行っている

(5) NIRSによる脳機能解析：中間表現型としての利用可能性

今後の疾患感受性遺伝子同定に役立つ中間表現型の確立を目的に、患者、対照、遺伝負因を有する患者、一卵性双生児不一致例において、MRI測定ならびにNIRSを用いた脳機能評価を行った。

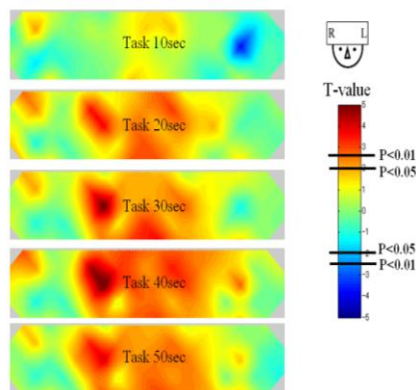


右外側PFC 内側PFC 左外側PFC



その結果、パニック障害患者では健常対照者と比較して、前頭前野（PFC）での脳機能低下を認め、このうち正中前部における低下は、一卵性双生児不一致例での所見から考えてtrait dependentである可能性があり、中間表現型の有力な候補と考えられた。このことはパニック障害患者における家族歴の有無による比較からも支持された。

NIRSは臨床現場などでの施行が比較的容易であり、実際に今後、NIRSのデータを備えた対象を多数をリクルートすることで、疾患感受性遺伝子の同定にさらに役立つ研究の遂行が期待される。



家族歴 (-) vs. 家族歴 (+) t値のマップ

(6) その他

上述のように2008年より米国のNIMHを中心とする共同研究チームで始められたパニック障害の新たな大規模GWAS (pooling DNAを利用、Illumina社製 550kチップを使用)に参加している。この結果が間もなく得られる見通しである。その結果から候補として考えられるSNPについても、二次サンプルでの確認を進める予定である。

(7) 国内外での成果の位置づけ

①到達点

国際的にパニック障害の遺伝子研究は、アルツハイマー病、統合失調症、双極性障害に比較すると遅れている。しかし、まとまった表現型であり、社会的にも高率な発症、救急受診高頻度などにより医療費も少なくないことから、病態と根本的な治療法等への期待が大きい。実際の遺伝子研究は欧米が先行しているが、これまではいずれも小規模で、アジアでは韓国から発表された関連研究が最大の研究であった。今回本研究では、東京・名古屋での収集数約1,000例のほか、国内の他の研究施設から300例、韓国のサンプル300例を収集、パニック障害研究では現在世界最大規模のサンプルを擁するに至った。

なお2008年10月のWorld Congress on Psychiatric Geneticsでは、米国のNIMHを中心に、北米、欧10余りの研究グループの協力で多様な民族からなる白人サンプルでのGWASの研究計画が発表された。この計画と比較しても、本研究で収集したパニック障害サンプルは、一民族のものとしては最も規模が大きい。なお我々は上述のように、この欧米のグループとの共同研究も進めているところである。

②達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

GWASとそのreplicationは、東大人類遺伝学教室・SNPタイピングセンターのご協力により無事進めてこられた。ただし諸々の事情から、900k SNPチップでのGWASのreplicationが2009年4月終了となったため、同定された疾患感受性遺伝子・多型の機能解

析は現在進行中である。

(8) 今後の課題

今後の課題は、以下の通りである。

1. 900k SNPチップの結果から選択した96 SNPsの、2次サンプルでのreplication study (DigiTag2システムによる)を速やかに完了する。

2. NIMHとの共同研究で得られる候補SNPsについても2次サンプルでのreplicationを行う。

3. これらで同定されたSNPs、遺伝子の機能等についての実験を進めること。

4. NIRSによる所見 (e.g., 前頭内側部の機能低下)を中間表現型としたデータの収集・解析を開始・継続する。

5. 結果の論文化

(1) ①パニック障害不一致一卵性双生児の所見、②NIRSによる中間表現型の候補知見、③パニック障害200対200例の解析結果等を以下のように発表した。

(2) 今後、900K SNPチップとそのreplicationについての論文化を進める

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計17件)

①音羽健司、佐々木司 (2010) パニック障害の遺伝子. 分子精神医学 10:46-50.

査読: 無

②佐々木司 (2010) パニック障害に対する薬物療法. 内科 105:259-262. 査読: 無

③Tanii H, Nishimura Y, Inoue K, Hara N, Nishida A, Okada M, Kaiya H, Okazaki Y Frontal lobe dysfunction in panic disorder: a comparison of multichannel near-infrared spectroscopy in monozygotic twins discordant for panic disorder. Neuropsychiatry Clin Neurosci, in press 査読: 有

④Yukika Nishimura, Koji Sugisaki, Noriko Hattori, Yasushi Inokuchi, Masayuki Komachi, Yoshihiro Nishimura, Mariko Ogawa, Motohiro Okada, Yuji Okazaki, Waro Taki, Tetsuro Yamamoto, Etsuko Yoshida, Seiki Ayano. Brain Res (in press) 査読: 有

⑤Kakiuchi C, Ishiwata M, Kato T XBP1 induces WFS1 through endoplasmic reticulum stress response element (ERSE)-like motif in SH-SY5Y cells. Journal of Neurochemistry (in press) 査読: 有

⑥Tanii H, Nishimura Y, Inoue K, Koshimizu H, Matsumoto R, Takami T, Hara N, Nishida A, Okada M, Kaiya H, Okazaki Y Asymmetry of prefrontal cortex activities and catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype in patients with panic disorder during a verbal fluency task: near infrared spectroscopy study. *Neurosci Lett*. 2009; 452: 63-67 査読：有

⑦Otowa T, Yoshida E, Yasuda S, Sugaya N, Nishimura Y, Inoue K, Tochigi M, Umekage T, Miyagawa T, Nishida N, Tokunaga K, Tanii H, Sasaki T, Kaiya H, Okazaki Y Genome-wide association study of panic disorder in the Japanese population. *J Hum Genet*. 2009; 54: 122-126 査読：有

⑧Nishimura Y, Tanii H, Hara N, Inoue K, Kaiya H, Nishida A, Okada M, Okazaki Y Relationship between the prefrontal function during a cognitive task and the severity of the symptoms in patients with panic disorder: a multi-channel NIRS study. *Psy Res. - Neuroimaging*, 172(2):168-172, 2009. 査読：有

⑨Nishimura Y, Tanii H, Hara N, Inoue K, Nishida A, Okada M, Kaiya H, Okazaki Y Specific panic attack symptoms in panic disorder patients with putative genetic factor. *Psy Clin Neurosci*, 63:251-252, 2009 査読：有

⑩Otowa T, Shimada T, Kawamura Y, Liu X, Inoue K, Sugaya N, Minato T, Nakagami R, Tochigi M, Umekage T, Kasai K, Kato N, Tanii H, Okazaki Y, Kaiya H, Sasaki T. No association between the Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and panic disorder in Japanese population. *J Hum Genet* 54(8):437-9, 2009. 査読：有

⑪Yu Kakimoto, Yukika Nishimura, Naomi Hara, Motohiro Okada, Hisashi Tanii, Yuji kazaki. :Intrasubject reproducibility of prefrontal cortex activities during a verbal fluency task over two repeated sessions using multi-channel near-infrared spectroscopy. *Psychiatr Clin Neurosci*. 63(4):491-499, 2009. 査読：有

⑫音羽健司、佐々木司 (2009) パニック障害の全ゲノム関連研究. *医学のあゆみ* 229, 191-194. 査読：無

⑬音羽健司、佐々木司 (2009) 不安障害とゲノミックス. *臨床精神医学* 38: 1021-29. 査読：無

⑭谷井久志・西村幸香・音羽健司・佐々木司・

貝谷久宣・岡崎祐土：パニック障害研究の現状と展望. *実験医学* 25: 167-172, 2007

⑮Kato T, Iwayama Y, Kakiuchi C, Iwamoto K, Yamada K, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Nanko S, Yoshikawa T. (2005) Gene expression and association analyses of LIM (PDLIM5) in bipolar disorder and schizophrenia. *Mol Psychiatry* 10: 1045-55. 査読：有

⑯Tadafumi Kato, Kazuya Iwamoto, Chihiro Kakiuchi, Go Kuratomi, Yuji Okazaki : Genetic or epigenetic difference causing discordance between monozygotic twins as a clue to molecular basis of mental disorders. *Mol Psychiatry*, 10(7):622-630, 2005 査読：有

⑰Kaiya H, Umekage T, Harada S, Okazaki Y, Sasaki T. Factors associated with the development of panic attack and panic disorder: a survey in the Japanese population. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 59:177-82, 2005. 査読：有

[学会発表] (計 10 件)

①谷井久志：Bio-Psycho-Social-Spiritual Perspective of Panic Disorder, Up to Date of Psychobiology 第2回日本不安障害学会学術大会 2010年3月6日 大阪

②Takeshi Otowa, Takanobu Minato, Nagisa Sugaya, Ken Inoue, Takafumi Shimada, Yoshiya Kawamura, Mamoru Tochigi, Tadashi Umekage, Hisashi Tanii, Taku Miyagawa, Nao Nishida, Katsushi Tokunaga, Yuji Okazaki, Hisanobu Kaiya and Tsukasa Sasaki: Replication of a genome-wide association study of panic disorder in a Japanese population. XVII World Congress of Psychiatric Genetics, San Diego, California, U.S Nov 4-6, 2009.

③谷井久志、石栗知美、西村幸香、原直美、井上 顕、岡田元宏、貝谷久宣、岡崎祐土：パニック障害における広場恐怖やうつ病の合併に関する性格特性と性差に関する検討. 第 105 回日本精神神経学会 2009 年 8 月 21 日 神戸市

④谷井久志、西村幸香、井上 顕、細川琴美、小西喜昭、貝谷久宣、岡崎祐土：パニック障害における Sigma1 受容体遺伝子多型と NIRS による脳機能測定との関連性について. 第 1 1 回光脳機能イメージング研究会 2009 年 7 月 18 日、東京

⑤谷井久志、細川琴美、西村幸香、石栗知美、前田阿紀、萩原康輔、井上顕、小西喜昭、原直美、岡田元宏、貝谷久宣、岡崎祐土：パ

ニック障害における遺伝子多型と知的機能検査に関する検討. 第31回日本生物学的精神医学会 2009年4月23日、京都市

⑥ Tanii H, Sasaki T, Otowa T, Kato T, Yoshikawa T, Arinami T, Kunugi H, Someya T, Matumoto N, Kaiya H, Okazaki Y: Risk Genes for Panic Disorder: a GWAS Study. 第51回日本神経化学学会大会, 2008年9月11-13日, 富山市

⑦ Okazaki Y, Sasaki T, Tanii H, Kaiya H: Genome-wide association study of panic disorder in Japanese. 2008 International Conference on Pharmacogenomics. April 9-12, 2008, Busan, Korea.

⑧ 佐々木司: シンポジウム「網羅的解析から創薬へ」パニック障害の全ゲノム解析 第15回日本精神・行動遺伝医学会 2007年11月17日 小平市

⑨ 高見鉄平・西村幸香・谷井久志・貝谷久宣・岡崎祐土: パニック障害患者における初発パニック発作症状の遺伝学的解析 第15回日本精神・行動遺伝医学会 2007年11月17日 小平市

⑩ 谷井久志・井上 顕・西村幸香・横山知加・加藤忠史・岡田元宏・貝谷久宣・岡崎祐土: パニック障害に関する一卵性双生児不一致ペアに関する検討. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会合同年会 2007年7月13日, 札幌

〔図書〕(計5件)

① 栃木衛, 佐々木司 (2009) 遺伝子解析. 松本英夫, 飯田順三編: 子どもの精神病性障害. I. 統合失調症. pp94-101, 中山書店(東京)

② 西村幸香・滝沢龍・笠井清登: 2章 精神医学におけるNIRS, 4. データの再現性. 福田正人編 「精神疾患とNIRS」、中山書店, pp. 79-89, 2009

③ 西村幸香・横山知加・谷井久志・笠井清登・貝谷久宣・岡崎祐土: 3章 精神疾患への応用, 7. パニック障害・不安障害. 福田正人編 「精神疾患とNIRS」、中山, 東京, pp. 144-153, 2009

④ 岡崎祐土・糸川昌成: 疾患の分子病態学—統合失調症、双極性障害. 図説 分子病態学 (一瀬白帝・鈴木宏治 編) pp. 346-353, 2008

⑤ 西村幸香・岡崎祐土: パニック障害. 精神疾患と脳画像 (福田正人編), pp. 111-120, 2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡崎 祐土 財団法人東京都医学研究機構
東京都精神医学総合研究所
客員研究員
研究者番号: 40010318

(2) 研究分担者

佐々木 司 東京大学保健センター 准教授
研究者番号: 50235256
谷井 久志 三重大学大学院医学系研究科
准教授 研究者番号: 40346200
加藤 忠史 独立行政法人理化学研究所
精神疾患老化研究グループ
グループリーダー
研究者番号: 30214381
松本 直通 横浜市大学院 医学(系)研究科(研究院) 教授
研究者番号: 80325638
吉川 武男 独立行政法人理化学研究所分子
精神科学研究チーム チームリーダー
研究者番号: 30249958
功刀 浩 国立精神神経センター
神経研究所 部長
研究者番号: 40234471
有波 忠雄 筑波大学大学院・人間総合科学
研究科 教授
研究者番号: 10212648
染矢 俊幸 新潟大学医歯(薬)学総合研究科
教授 研究者番号: 50187902

(3) 連携研究者 なし

() 研究者番号:

(4) 研究協力者

貝谷 久宣 医療法人和楽会
パニック障害研究センター
井上 顕 藤田保健衛生大学医学部
西村 幸香 東京大学医学部
財団法人精神神経科学振興
西田 淳志 財団法人東京都医学研究機構
東京都精神医学総合研究所
梅景 正 東京大学保健センター
栃木 衛 東京大学大学院医学系研究科
音羽 健司 東京大学大学院医学系研究科
河村 代志也 東京大学大学院医学系研究科
今村 明 長崎大学医歯薬学総合研究科
垣内 千尋 東京大学医学部附属病院
精神神経科
石渡 みずほ 独立行政法人理化学研究所
脳科学総合研究センター
穂吉 条太郎 大分大学医学部
清水 栄司 千葉大学大学院医学研究院