

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18591277  
 研究課題名 (和文) 統合失調症の脳の形態学的変化と探索眼球運動に関連する疾患感受性遺伝子の解明  
 研究課題名 (英文) Search for susceptibility genes in relation to the abnormalities of brain morphology or exploratory eye movements in schizophrenia  
 研究代表者  
 角田 雅彦 (TSUNODA MASAHIKO)  
 富山大学・大学病院・講師  
 研究者番号：30322762

研究成果の概要：インフォームド・コンセントの得られた統合失調症患者と健常者において、高解像度三次元 MRI を撮像し各脳部位を測定し、その脳の形態学的変化と種々の候補遺伝子の多型との関係を調べた結果、非常に興味深い知見が得られた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,100,000	0	1,100,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	720,000	4,220,000

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、脳形態、疾患感受性遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 統合失調症の発症には遺伝的要因が関与していると考えられており、これまでに多くの疾患候補遺伝子が報告されたが、再現性のある結果は得られていない。その理由は、統合失調症の遺伝様式が多因子遺伝であり、影響の小さい複数の遺伝子が関与して統合失調症という多因子疾患を形成しているためと考えられる。そのため、統合失調症そのものを表現型とするよりも、統合失調症において異常が認められる神経生物学的指標の中で、遺伝的に規定される要因の大きいものを中間表現型として遺伝子との関係を検討した方が、より少ない遺伝子が関与している可能性が高く、関連する遺伝子の検出率が高

くなり、統合失調症の病態解明に寄与すると考えられる。

(2) 統合失調症における脳の形態学的異常が、主として前頭―側頭―辺縁―傍辺縁領域で報告されている。当教室でも高解像度 3-D MRI を用いた Voxel-based morphometry (VBM) (Kawasaki ら, 2004) および関心領域法 (Suzuki ら, 2002, 2005) にて、統合失調症患者におけるこれらの部位の体積減少を報告してきた (Takahashi ら, 2002, 2005)。また、統合失調症患者が図や絵を見ている時の注視点の動きをアイマークレコーダーで調べると、運動数が少なく、動く範囲が狭いことが報告されており (Kojima ら, 1990)、当教室でも報告してきた (Tsunoda ら, 2005)。

## 2. 研究の目的

本研究では、統合失調症の脳の形態学的変化や探索眼球運動異常を中間表現型として、これまでに報告のある候補遺伝子のうち、**Disrupted-in-Schizophrenia-1 (DISC1)** の **Ser704Cys** 多型、**dopamine D3 receptor (DRD3)** の **Ser9Gly** 多型、**Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)** の **Val66Met** 多型などとの関連を調べた。

## 3. 研究の方法

### (1) 対象

対象は、富山大学附属病院神経精神科に外来通院あるいは入院中の、**ICD-10 (WHO)** の診断基準を満たす統合失調症患者および健常者より文書による説明と同意の得られたものである。診断のためには構造化面接 (**Structured Clinical Interview for DSM-IV and ICD-10:SCID**) を用い、臨床症状の重症度は陽性症状評価尺度、陰性症状評価尺度により評価する。遺伝子解析のために **EDTA** 加採血管に **5ml** を採血する。**1.5T** の **MRI** スキャナ (**Siemens, Magnetom Vision**) による **3D-FLASH** 法で **1mm<sup>3</sup>** の voxel からなる高解像度三次元 **MRI**、**T1** 強調画像を撮像する。内側側頭葉構造 (扁桃核、海馬、海馬傍回など)、前頭前野領域 (上前頭回、中前頭回、下前頭回など) などの体積を、関心領域法を用いて測定した。

### (2) 遺伝子解析

#### ① 候補遺伝子の選定

統合失調症の候補遺伝子の中で、神経発達、シナプス形成、神経伝達などに影響を与える遺伝子を選定した。具体的には、神経突起の伸長に影響を与え、皮質構造形成に関わる **DISC1**、神経の新生やシナプス可塑性に関与する神経成長因子の **BDNF**、シナプス間の神経伝達に関わる **DRD3**、ドーパミン受容体や **NMDA** 受容体の下流に位置し **BDNF** などの神経成長因子の軸策伸展に影響を与える **カルシニューリン (CaN)** を選定した。

#### ② 方法

まず、血液を **EDTA** 加採血管で **5ml** 採決する。次に、**DISC1**、**BDNF**、**DRD3** に関しては、血液サンプルの中の白血球より **genomic DNA** を抽出し、関心領域を **PCR** 法で増幅しシーケンスを行う。**CaN** 遺伝子の発現量を調べる際は、血液サンプルから **total RNA** を抽出し、定量 **RT-PCR** 法により測定した。

## 4. 研究成果

(1) 統合失調症患者 33 名と健常者 29 名において、高解像度三次元 **MRI** を撮像し、内側側頭葉構造 (扁桃核、海馬、海馬傍回など)、前頭前野領域 (上前頭回、中前頭回、下前頭

回など) などの体積を、関心領域法を用いて測定し、**BDNF** の **Val66Met** 多型との関連を調べた。健常対照者では、**Met carriers** は、**Val homozygotes** よりも両側の海馬傍回 (post hoc test,  $p=0.014$ ) と左側の上前頭回 (post hoc test,  $p=0.010$ ) で有意に小さかった。**Met** アレルを持つ統合失調症患者は **Val/Val** の統合失調症患者よりも右側の海馬傍回が有意に小さかった (post hoc test,  $p=0.022$ ) が、**Met** アレルは統合失調症患者の前頭前野領域には影響していなかった。これらの所見は、**BDNF** の遺伝子型の違いが、統合失調症患者と健常対照者では脳形態に異なった影響を及ぼしている可能性があることを示していると考えられた (Takahashi ら, 2008a)。

(2) 統合失調症患者 33 名と健常者 29 名において高解像度三次元 **MRI** を撮像し、前頭一頭頂一側頭一辺縁一傍辺縁領域の広範な範囲の体積測定を関心領域法を用いて測定し、**DISC1** の **Ser704Cys** 多型との関連を調べた。健常者で **Cys** アレルを持っている者は、**Ser/Ser** の者よりも **medial superior frontal gyrus** と **short insular cortex** の体積が有意に大きかった。統合失調症患者で **Cys** アレルを持っている者は、**Ser/Ser** の者よりも **supramarginal gyrus** が小さい傾向にあった。**Ser/Ser** の統合失調症患者では、右側の **medial superior frontal gyrus** 体積が、抗精神病薬の服薬量と有意な相関があった。これらの結果は、**DISC1** の **Ser704Cys** 多型の遺伝子型の違いが統合失調症患者や健常者の脳形態に少なくとも部分的には関係することを示しており、また、統合失調症の脳形態の服薬の影響にも **DISC1** 遺伝子型が関与する可能性も示していた (Takahashi ら, 2009)。

(3) 統合失調症患者では、内側側頭葉構造や **adhesio interthalamica (AI)** のような中心構造の神経発達障害が報告されているが、それらの遺伝子メカニズムは明らかになっていない。そこで、統合失調症患者 33 名と健常対照者 29 名に **3-D MRI** を撮像し、**AI** の長さや内側側頭葉構造の体積を計測し、それらと **dopamine D3 receptor (DRD3)** の **Ser9Gly** 多型や **BDNF** の **Val66Met** 多型との関連を調べた。その結果、**DRD3** の **Ser/Ser** 型と **BDNF** の **Met** アレルを持つ組み合わせ (ハイリスク組み合わせ) の患者は、持たない患者よりも **AI** が長く、その傾向は健常者では認めなかった。また、ハイリスクの組み合わせを持つ者は持たない者よりも海馬後部の体積が小さかった。これらの結果から、2つの遺伝子多型の組み合わせが、脳の中心構造や内側側頭葉構造に影響を与えているのではないかと考えられた (Takahashi ら, 2008b)。

(4) Calcineurin(CaN)は統合失調症の候補遺伝子と考えられているが、死後脳を用いた研究が多く末梢血を用いた研究はほとんどない。そこで、われわれは統合失調症患者 16 名と健常者 16 名において全血を採取し total RNA を抽出、CaN A gamma 遺伝子 と CaN B gamma 遺伝子を定量 RT-PCR 法で測定した。そして、それらの発現量と Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS)で評価した精神症状との関連を調べた。その結果、CaN A gamma 遺伝子の発現量は BPRS スコアと有意な相関があり、CaN A gamma 遺伝子は精神病の進行の良い指標になる可能性があると考えられた(Murata et al, 2008)。

#### 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 7 件)

- ① Takahashi T, Suzuki M, Tsunoda M, Maeno N, Kawamura Y, Zhou S-Y, Hagino H, Niu L, Tsuneki H, Kobayashi S, Sasaoka T, Seto H, Kurachi M, Ozaki N: The Disrupted-in-Schizophrenia-1 Ser704Cys polymorphism and brain morphology in schizophrenia. *Psychiatry Research: Neuroimaging* 172: 128-135, 2009. 査読有り.
- ② Suzuki M, Takahashi S, Matsushima E, Tsunoda M, Kurachi M, Okada T, Hayashi T, Ishii Y, Morita K, Maeda H, Katayama S, Kawahara R, Otuka T, Hirayasu Y, Sekine M, Okubo Y, Motoshita M, Ohta K, Uchiyama M, Kojima T: Exploratory eye movement dysfunction as a discriminator for schizophrenia: A large sample study using a newly developed digital computerized system. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259: 186-194, 2009. 査読有り.
- ③ Takahashi T, Suzuki M, Tsunoda M, Kawamura Y, Takahashi N, Tsuneki H, Kawasaki Y, Shi-Yu Zhou, 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: 34-39, 2008a. 査読有り.
- ④ Takahashi T, Suzuki M, Tsunoda M, Kawamura Y, Takahashi N, Maeno N,

Kawasaki Y, Shi-Yu Zhou, Hagino H, Niu L, Tsuneki H, Kobayashi S, Sasaoka T, Seto H, Kurachi M, Ozaki N: The association of genotypic combination of the DRD3 and BDNF polymorphisms on the adhesion interthalamica and medial temporal lobe structures. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32: 1236-1242, 2008b. 査読有り.

- ⑤ Murata M, Tsunoda M, Sumiyoshi T, Sumiyoshi C, Matsuoka T, Suzuki M, Ito H, Kurachi M: Calcineurin A gamma and B gene expression in the whole blood in Japanese patients with schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 32: 1000-1004, 2008. 査読有り.
- ⑥ Matsuoka T, Tsunoda M, Sumiyoshi T, Takasaki I, Tabuchi Y, Seo T, Tanaka K, Uehara T, Itoh H, Suzuki M, Kurachi M: Effect of MK-801 on gene expressions in the amygdala of rats. *Synapse* 62: 1-7, 2008. 査読有り.
- ⑦ Tsuneki H, Kobayashi S., Takagi K., Kagawa S., Tsunoda M., Murata M., Matsuoka T., Wada T., Kurachi M., Kimura I. and Sasaoka T.: Novel G423S mutation of human  $\alpha 7$  nicotinic receptor promotes agonist-induced desensitization by a protein kinase c-dependent mechanism. *Mol. Pharmacol.* 71, 777-786, 2007. 査読有り.

[学会発表] (計 3 件)

- ① Tsunoda M: Association between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and brain morphology in a Japanese sample of schizophrenia and healthy comparisons. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress and 30th Annual Meeting of JSBP, 2008, 9, Toyama.
- ② Tsunoda M, Suzuki M, Kawamura Y, Takahashi N, Maeno N, Kawasaki Y, Shi-Yu Zhou, Hagino H, Niu L, Tsuneki H, Kobayashi S, Sasaoka T, Seto H, Kurachi M, Ozaki N: The association of genotypic combination of the DRD3 and BDNF polymorphisms on the adhesion interthalamica and medial temporal lobe structures. 2nd WFSBP Asia-Pacific Congress and 30th Annual Meeting of JSBP, 2008, 9, Toyama.

- ③ Matsuoka T, Tsunoda M, Sumiyoshi T, Takasaki I, Tabuchi Y, Seo T, Tanaka k, Uehara T, Itoh H, Suzuki M, Kurachi M: Effect of MK-801 on gene expressions in the amygdale of rats. CINP, 2008, 7, Munchen.
- ④ Suzuki M: Structural brain changes underlying vulnerability to schizophrenia. In symposium (organized by Yui K. and Suzuki M.): Stress in the Development of Schizophrenia. The 2nd World Conference of Stress, 2007, 8, Budapest.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

角田 雅彦 (TSUNODA MASAHIKO)  
富山大学・大学病院・講師  
研究者番号：30322762

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

鈴木 道雄 (SUZUKI MICHIO)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・教授  
研究者番号：40236013

住吉 太幹 (SUMIYOSHI TOMIKI)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・准教授  
研究者番号：80286062

高橋 努 (TAKAHASHI TSUTOMU)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・助教  
研究者番号：60345577

倉知 正佳 (KURACHI MASAYOSHI)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・教授  
研究者番号：80019603

恒枝 宏史 (TSUNEKI HIROSHI)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・准教授  
研究者番号：20332661