

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591307

研究課題名（和文） 統合失調症における生物学的指標の探索研究

研究課題名（英文） Investigation of biological markers for schizophrenia.

研究代表者

豊田 倫子 (TOYOTA TOMOKO)

独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・専門職研究員

研究者番号：20392045

研究成果の概要（和文）：

統合失調症は重篤な精神疾患であるが、診断上の客観的指標の欠如、疾患としての異種性などにより原因遺伝子の同定は困難である。本研究では生物学的指標としてプレパルスインヒビション（prepulse inhibition:PPI）という現象に着目し、患者群、健常対照群のPPIデータを解析し、遺伝子解析試料として唾液試料の有用性を検討し、将来実施するゲノム研究のリソース拡充のための基盤整備を行った。

研究成果の概要（英文）：

The identification for causative genes of schizophrenia remains to be difficult because of the lack of objective, biological indicator on diagnoses, and its ethiological heterogeneity.

This study aimed to investigate prepulse inhibition, one of a biological marker of schizophrenia, in patients and controls. Additionally, we have examined the quality of the genomic DNAs extracted from saliva and collected them to enlarge the sample size in future genetic studies.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	0	0	0
2009年度	0	0	0
2010年度	1,600,000	480,000	
2011年度	1,300,000	390,000	
2012年度	500,000	150,000	
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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

1. 研究開始当初の背景

統合失調症は重篤な精神疾患であるが、診断

において客観的な指標を欠き、疾患としての異種性を内包するなどの問題により、原因遺伝子の同定は未だに困難な状況にある。疾患

の生物学的指標の活用はこの問題の解決の一助になると考えられる。表現型と遺伝子型との間に位置する中間表現型としてのエンドフェノタイプという概念が提唱されているが、統合失調症のエンドフェノタイプの一つとされるプレパルスインヒビション (prepulse inhibition:PPI) は、驚愕反応を惹起させる強い感覚刺激の直前に、弱い感覚刺激を提示することによって、驚愕反応が抑制される現象であるが、統合失調症患者では、健康対照者と比較してこの抑制が減弱しているという報告が様々な人種を対象とした研究において繰り返さされている。

2. 研究の目的

本研究では、統合失調症患者、健康対照者を対象として、音刺激を用いて計測した PPI データについて、喫煙歴などの各種情報と組み合わせた解析を行い、研究参加者から DNA 抽出用の試料を採取し、将来実施予定である疾患のゲノム研究におけるリソース拡充のための基盤整備を目的とした。

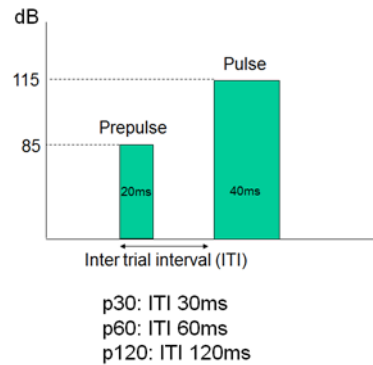
また、ゲノム研究においてはサンプル数の拡充が必須であるが、その解析対象となる DNA の抽出元の試料として、採取時に危険性の無い唾液サンプルが、血液の代替試料と成り得るか否かについても検討を行い、今後の研究リソースとしての有用性を検証した。



3. 研究の方法

統合失調症患者 21 名 (男性 10 名、女性 11 名)、健常者 25 名 (各々男性 15 名、女性 10 名) を対象とし、聴覚刺激による驚愕反応を EMG-SR system (San Diego Instruments 社) を用いて測定したデータについて、加算平均値を算出した。聴覚刺激の音圧、長さはプレパルス (pp) 85dB、20ms、パルス (p) 115dB、40ms とし、バックグラウンドノイズは 75dB とした。トライアルは、p のみ (p-alone)、pp と p の間隔 (ITI) が 30ms (p30)、60ms (p60)、

120ms (p120) とし、1 セッションあたり各々のトライアルをランダムに 16 回ずつ提示。セッションの最初と最後に、p のみ 5 回ずつのブロックを加えた。測定ウィンドウは、p 発生後 20ms~100ms の 80ms とした。

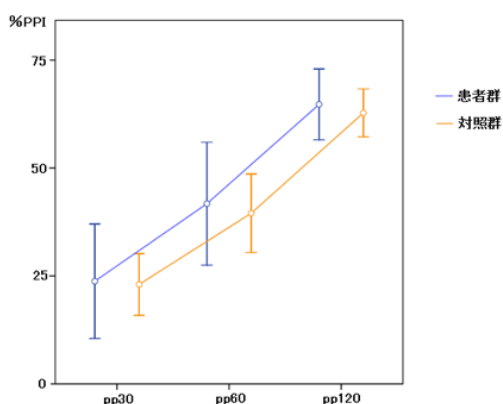


各トライアル種ごとの加算平均の最大値を反応値として採用し、p-alone と p30、p60、p120 の各々の差を p-alone で除し %PPI を算出した。患者群、対照群の p30、p60、p120 各々の %PPI の比較、年齢、性別、喫煙歴、服薬量の影響について統計解析を行った。唾液採取には、Oragene®・DNA キット (DNA Genotek 社) を使用し各々の被験者より唾液 2mL を採取した。唾液と保存液の混合溶液を試料として 1) Oragene®・DNA キットのプロトコールに準じた DNA 抽出法、2) AGENCOURT® DNAdvance Genomic DNA Isolation Kit (BECKMAN COULTER 社) を用いた DNA 抽出方法により抽出を行った。また、末梢血液を採血し、Genomic DNA extraction (TALENT 社) を用いた DNA 抽出を行った。抽出後の DNA は NanoDrop (NanoDrop Technologies) により濃度算出を行いジェノタイプピングは TaqMan 法による SNP タイピング、サンガー法によるシーケンスを行った。なお、すべての被験者に対しては書面によるインフォームドコンセントを行い同意を得た上で、研究に参加頂いた。

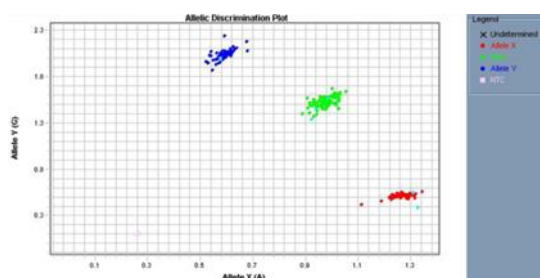


4. 研究成果

疾患群、対照群間における p30、p60、p120 の%PPI に有意差はなく、性別、年齢、喫煙率の影響は検定上認められなかった。服薬量についても%PPI への明らかな影響は認めなかった。



唾液から抽出した DNA の平均濃度は、1)法 : 390 ng/μL、2)法 : 150ng/μL と差異があったが、RNA の混入が影響していると考えられた。また、OD 値より 1)法では、2)法よりもタンパク含有量が多いことが推察された。これら試料をテンプレートとした TaqMan 法によるジェノタイピングでは、唾液から抽出された DNA 群は、末梢血から抽出された DNA 群と同じ3つのクラスター上に分かれた。また、サンガー法によるシーケンスでは約 400bp に渡る配列について、アライメントも問題なく正確に判読することが出来た。



このため、統合失調症患者、健常者からの唾液サンプル収集を継続した。PPI に関しては、今回のケースでは疾患群と対照群との間に明らかな差異を認めることが出来なかったが、被験者数を増やして検討を続けていく必要があると考える。統合失調症の病態解明研究においては、生理学、生化学、遺伝学など多方面からのアプローチが今後も必要である。より多くの参加者の協力を得る上で、サンプリング時の侵襲度が低い唾液が、遺伝子解析研究において有用な試料となりうることを確認した。

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 6 件)

1. Toyosima M, Maekawa M, Toyota T, Iwayama Y, Arai M, Ichikawa T, Miyashita M, Arinami T, Itokawa M, Yoshikawa T. Schizophrenia with the 22q11.2 deletion and additional genetic defects: case history. Br J Psychiatry. 2011 Sep;199(3):245-6. PubMed PMID: 21881099. 査読有。

2. Yamada K, Iwayama Y, Hattori E, Iwamoto K, Toyota T, Ohnishi T, Ohba H, Maekawa M, Kato T, Yoshikawa T. Genome-wide association study of schizophrenia in Japanese population. PLoS One. 2011;6(6):e20468. Epub 2011 Jun 6. PubMed PMID: 21674006; PubMed Central PMCID: PMC3108953. 査読有。

3. Jitoku D, Hattori E, Iwayama Y, Yamada K, Toyota T, Kikuchi M, Maekawa M, Nishikawa T, Yoshikawa T. Association study of Nogo-related genes with schizophrenia in a Japanese case-control sample. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011 Jul;156B(5):581-92. doi: 10.1002/ajmg.b.31199. Epub 2011 May 11. PubMed PMID: 21563301. 査読有。

4. Iwata Y, Yamada K, Iwayama Y, Anitha A, Thanseem I, Toyota T, Hattori E, Ohnishi T, Maekawa M, Nakamura K, Suzuki K, Matsuzaki H, Tsuchiya KJ, Suda S, Sugihara G, Takebayashi K, Yamamoto S, Iwata K, Mori N, Yoshikawa T. Failure to confirm genetic association of the FXR1 gene with schizophrenia: the Japanese population and meta-analysis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010 Sep;153B(6):1221-7. PubMed PMID: 20468077. 査読有。

5. Arai M, Yuzawa H, Nohara I, Ohnishi T, Obata N, Iwayama Y, Haga S, Toyota T, Ujike H, Arai M, Ichikawa T, Nishida A, Tanaka Y, Furukawa A, Aikawa Y, Kuroda O, Niizato K, Izawa R, Nakamura K, Mori N, Matsuzawa D, Hashimoto K, Iyo M, Sora I, Matsushita M, Okazaki Y, Yoshikawa T, Miyata T, Itokawa M. Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia.

Arch Gen Psychiatry. 2010
Jun;67(6):589-97. PubMed PMID: 20530008.
査読有。

6. Iwayama Y, Hattori E, Maekawa M, Yamada K, Toyota T, Ohnishi T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kikuchi M, Hashimoto K, Iyo M, Inada T, Kunugi H, Ozaki N, Iwata N, Nanko S, Iwamoto K, Okazaki Y, Kato T, Yoshikawa T. Association analyses between brain-expressed fatty-acid binding protein (FABP) genes and schizophrenia and bipolar disorder. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010 Mar 5;153B(2):484-93. PubMed PMID: 19554614. 査読有。

〔学会発表〕（計 0 件）

〔その他〕
特記なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊田 倫子 (TOYOTA TOMOKO)
独立行政法人理化学研究所・分子精神科学研究チーム・専門職研究員
研究者番号：20392045

(2) 研究分担者

吉川 武男 (YOSHIKAWA TAKEO)
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

(3) 連携研究者

なし