

令和元年5月16日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06915

研究課題名(和文) 全ゲノム関連解析およびそのメタアナリシスによる量的自閉症形質座の確証

研究課題名(英文) Confirmation of quantitative autistic traits loci using genome-wide meta-analysis

研究代表者

西山 毅 (Nishiyama, Takeshi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：40571518

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：Subthreshold Autism Trait Questionnaire (SATQ)得点のゲノムワイド関連研究(Genome-wide Association Study, GWAS)を、岡崎研究サンプルの807人、Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC)の893人に施行した。現在、そのGWAS結果を国際チームに送付し、全30万人規模のGWASメタアナリシスが進行中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

量的自閉症形質を規定する遺伝的多型を明らかにすることによって、自閉スペクトラム症の遺伝要因を解明できるだけでなく、同形質が一般集団の健康や寿命に大きく影響する因果メカニズムの解明にもつながるため、本研究は大きな意義を有するが、現在、最終解析を施行中である。一方、量的自閉症形質以外の心理学的形質として、日常睡眠時間のGWASメタアナリシスを施行することで、飲酒量が日常睡眠時間に与える因果的影響を確証したことは、国民の健康増進に役立つ成果である。

研究成果の概要(英文)：Genome-wide Association Study (GWAS) of quantitative autistic traits using a score of the Subthreshold Autism Trait Questionnaire (SATQ) was conducted based on 807 and 893 subjects in the Okazaki Study and the Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC), respectively. Now the GWAS meta-analysis is in progress, aiming for a sample size of 300 thousand.

研究分野：心理学的形質のゲノム研究

キーワード：量的自閉症形質 ゲノムワイド関連研究 メタアナリシス 心理学的形質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ASD は、社会性およびコミュニケーション障害と常同行動を主徴とする疾患であり、双生児研究よりその成因に遺伝的要因が大きく関与することが示されている¹。さらに、ASD 患者の家族では一般集団に比べ、ASD と質的に等しいが量的に弱い形質を示すことが明らかになり、後にこの量的自閉症形質は一般集団に広く連続的に分布し(図 1)、ASD と共通する遺伝的要因により規定されることが明らかになった²。

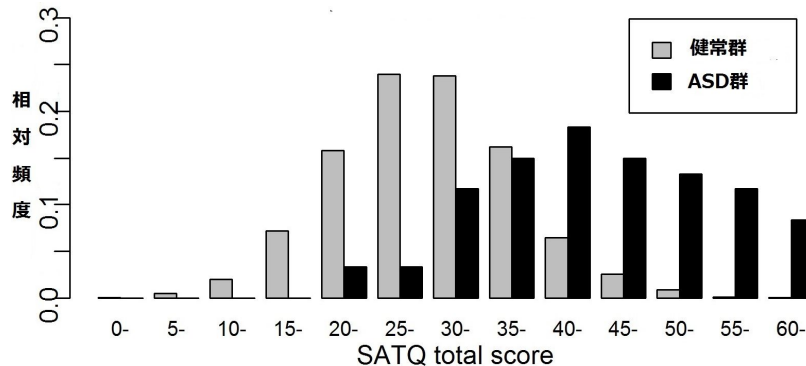


図 1. 文献 3 の fig.1 より改変引用

SATQ は量的自閉症形質を測定する自記式質問紙

近年の遺伝学の急速な進歩にともない、ASD 発症の 2 割強を説明できる遺伝的要因が明らかになったが、同定された遺伝的要因のほとんどは、コピー数多型 (Copy Number Variation, CNV) や一塩基変異 (Single Nucleotide Variant, SNV) などの、頻度が低く効果の強い遺伝的多型である⁴。一方、ASD 発症に関与する、頻度が高く効果の弱い遺伝的多型 (ポリジーン) を調べる全ゲノム関連研究 (Genome-wide Association Study, GWAS) では未だ追試に成功していない。しかし、GWAS の遺伝子型データを用いた解析より、ポリジーンによる ASD 発症に対する寄与が 50% ほどあることが明らかになった⁵。統合失調症の約 37,000 例を用いたメタアナリシスによって同疾患と関連するポリジーン同定に成功した先例⁶を考えると、ASD の 1000 ~ 2000 例を用いた今までの GWAS⁷⁻⁹ は明らかに検出力不足であり、これこそが追試失敗の主因であったと考えられる。

追試失敗のもう一つの原因として考えられるのは遺伝的異質性である。量的自閉症形質を調べた大規模な双生児研究¹⁰より、同形質の最上位 1% 群では遺伝率が 100% に近い極めて高い値をとるが、それ以外の群では遺伝率は数 10% と低く推定された。これより、量的自閉症形質の最上位群とそれ以外とは遺伝的に異質性があり、最上位群では頻度が低く効果の強い遺伝的多型が、それ以外ではポリジーンが主要な遺伝的要因となっている可能性が考えられる¹⁰。量的自閉症形質の最上位 1% 群は、ほぼ ASD 症例群に相当することから、ASD 症例を用いた従来の遺伝解析で頻度が低く効果の強い遺伝的多型のみが見出されたことも、この見解の一部裏付けとなる。

以上まとめると、今までに ASD 発症に関するポリジーンの追試に失敗した原因として、(1) 検出力不足と、(2) ASD 症例群 (量的自閉症形質の最上位群) ではポリジーンの寄与が小さい可能性があげられる。そこで、この 2 点を解決するには、量的自閉症形質の最上位群以外を対象にすべく一般集団の大規模サンプルを用いる必要がある。しかし、一般集団の量的自閉症形質を用いた GWAS は 2 つしか存在せず、その規模はそれぞれ約 4000 例¹¹ および 1000 例¹² と十分ではない。

最後に、誰もがもつ量的自閉症形質は ASD の遺伝的要因の同定に役立つだけでなく、ASD に罹患しない多数の健常者にとっても大きな意義を有する。まず、一般集団において量的自閉症形質は抑うつや不安障害¹³、社会不適応¹⁴ と強く関連する。また、量的自閉症形質の情動的側面¹⁵ を強く呈する被験者はそうでない者に比べ、驚くべきことに、死亡率が 2 ~ 4 倍も高まる^{16,17} が 2 つのコホート研究で実証されている^{16,17}。

つまり、量的自閉症形質を規定する遺伝的多型 (量的自閉症形質座) を明らかにすることによって、ASD 発症に関わるポリジーンを解明できるだけでなく、同形質が一般集団の健康や寿命に大きく影響する因果メカニズムの解明にもつながる。

2. 研究の目的

量的自閉症形質を規定する遺伝的多型 (量的自閉症形質座) を明らかにすることによって、ASD 発症に関わるポリジーンを解明し、同形質が一般集団の健康や寿命に大きく影響する因果メカニズムの解明すること。

3. 研究の方法

被験者

岡崎研究の全被験者 7,526 人 (男性 4,136 人, 女性 3,390 人)のうち, GWAS ジェノタイピングを行った 1,091 人および, Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC)の被験者のうち, GWAS ジェノタイピングを行った 926 人を本研究の対象とした.

測定

両サンプルとも, 量的自閉症形質は Subthreshold Autism Trait Questionnaire (SATQ)日本語版³を用いた. 遺伝子型情報を得るため, 血液サンプルより, buffy coat を抽出し, BioRobot M48 Workstation (Qiagen Group, Tokyo, Japan)を用いて DNA を抽出した. 岡崎研究サンプルの GWAS ジェノタイピングは, HumanOmniExpressExome-8 v1.2 BeadChip array (Illumina Inc., San Diego, CA, USA)を用いて, HERPACC 研究サンプルの GWA ジェノタイピングは, Illumina Human Core Exome 12 v1.1(Illumina Inc., San Diego, CA, USA)を用いて, それぞれ, 理化学研究所生命医科学研究センターおよび, 京都大学ゲノム医学センターにて行った.

遺伝子型情報に基づく被験者の除外基準は以下の通りである.

- 1)Inconsistent sex between questionnaire and genotype information
- 2)Subjects with ancestries outside of the Japanese population defined by principal component analysis of the sample and 1000 Genomes reference panel (phase 3) (Price, A. L. et al. Nat Genet 2006;38: 904-909)
- 3)Subjects with Ryukyu ancestries: Japanese population consists of two subpopulations (the Mainlander and Ryukyuan population). Our samples mostly consist of the Mainlander, and thus we excluded the Ryukyuan population.
- 4)One subject of close relationship pair detected by the identity-by-descent method
- 5)Call rate < 0.98

SNP の除外基準は以下の通りである.

- 1)Call rate < 0.98
- 2)Hardy-Weinberg equilibrium exact test P-value < 1×10^{-6}
- 3)Inconsistent MAF between the 1000 Genomes (Phase 3) EAS and Okazaki Study samples
- 4)SNPs on sex chromosome

以上の除外基準を満たした岡崎研究の 807 人, 570,162 SNP, HERPACC サンプルの 893 人, 248,185 SNP を以下の解析に用いた. 遺伝子型補完には, 1000 ゲノム計画の cosmopolitan reference panel (phase 3)を基準に, SHAPIT2 and Minimac3 ソフトウェアを用いた. 補完後, $R^2 < 0.8$ and $MAF < 0.001$ (0.1%) を除外し, 最終的に, 岡崎研究は 11,070,774 SNP, HERPACC 研究は 11,070,774 SNP を解析に用いた.

GWAS の統計解析

SATQ 得点を従属変数とし, 補完したアレルの dosage データを独立変数, 性別と年齢を共変量とした GWAS 解析を, EFACTS ソフトウェアを用いて行った.

4. 研究成果

GWAS に用いた岡崎研究と HERPACC サンプルの特徴を表 1 にまとめた. いずれも, かなり高齢であることがわかる.

表 1. 岡崎研究と HERPACC 研究の要約統計量

	岡崎研究	HERPACC
サンプル数	807	893
性別	442 (54.8%)	452 (50.6%)
年齢	62.1 (8.9)	64.5 (9.8)
SATQ 得点	39.1 (4.2)	28.1 (7.7)

質的変数は計数値 (%), 量的変数は平均値 (標準偏差)を示す.

ついで, 両サンプルの GWAS をメタアナリシスした結果のマンハッタンプロットを図 2 に示す. サンプル数の少なさから予想される通り, この 2 サンプルだけでは検出力が不足するため, ゲノムワイドに有意な座位は見つからなかった.

Manhattan Plot of Autistic Traits in Okazaki Cohort & HERPACC

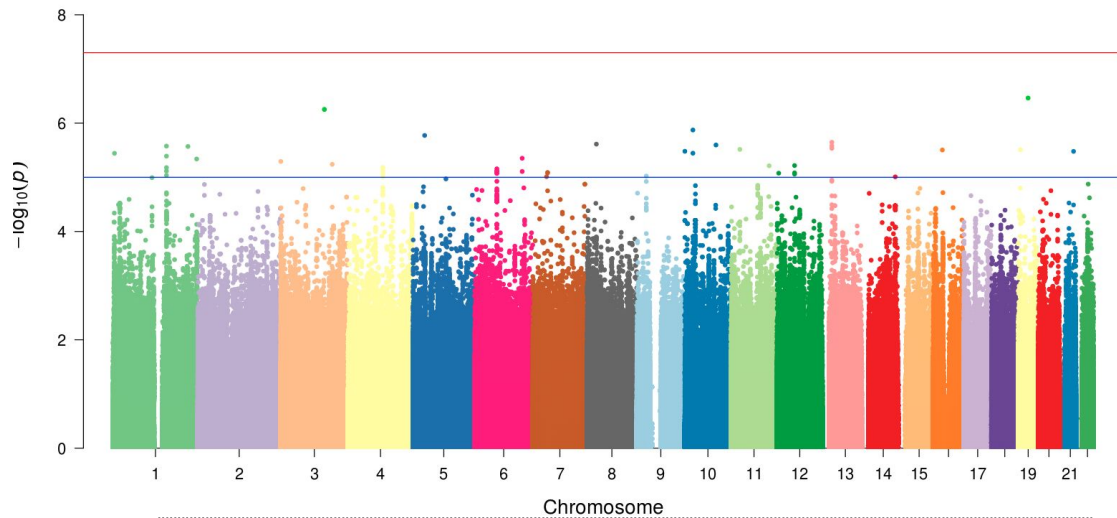


図2. 岡崎研究サンプルとHERPACC サンプルを用いた GWAS メタアナリシスのマンハッタンプロット

現在，上記 GWAS データを国際チームに送付し，計 30 万人規模のメタアナリシスの進捗を待っている状況である。

一方，量的自閉症形質以外の心理形質として，日常睡眠時間の GWAS メタアナリシスを，Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort (J-MICC) study と Japan Public Health Center-based Prospective (JPHC) Study，Tohoku Medical Megabank (TMM) Project の計 31,677 人を用いて施行し ADLH2 座位が飲酒量を通じて睡眠時間を延長することを確認した(発表論文 2)。

<引用文献>

1. Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, Bolton P, Simonoff E, Yuzda E, Rutter M. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study. *Psychol Med* 1995;25:63-77.
2. Constantino JN, Todd RD. Intergenerational transmission of subthreshold autistic traits in the general population. *Biol Psychiatry* 2005;57:655-660.
3. Nishiyama T, Suzuki M, Adachi K, Sumi S, Okada K, Kishino H, Sakai S, Kamio Y, Kojima M, Suzuki S, Kanne SM. Comprehensive comparison of self-administered questionnaires for measuring quantitative autistic traits in adults. *J Autism Dev Disord* 2014;44:993-1007.
4. Huguet G, Ey E, Bourgeron T. The genetic landscapes of autism spectrum disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2013;14:191-213.
5. Gaugler T, Klei L, Sanders SJ, Bodea CA, Goldberg AP, Lee AB, Mahajan M, Manaa D, Pawitan Y, Reichert J, Ripke S, Sandin S, Sklar P, Svantesson O, Reichenberg A, Hultman CM, Devlin B, Roeder K, Buxbaum JD. Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nature genetics* 2014;46: 881-885.
6. Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 2014;511:421-427.
7. Wang K, Zhang H, Ma D, Bucan M, Glessner JT, *et al.* Common genetic variants on 5p14.1 associate with autism spectrum disorders. *Nature* 2009;459:528-533.
8. Weiss LA, Arking DE; Gene Discovery Project of Johns Hopkins & the Autism Consortium, Daly MJ, Chakravarti A. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. *Nature* 2009;461: 802-808.
9. Anney R, Klei L, Pinto D, Regan R, Conroy J, Magalhaes TR, *et al.* A genome-wide scan for common alleles affecting risk for autism. *Hum Mol Genet* 2010;19:4072-4082.
10. Frazier TW, Thompson L, Youngstrom EA, Law P, Hardan AY, Eng C, Morris N. A twin study of heritable and shared environmental contributions to autism. *J Autism Dev Disord* 2014;44:2013-2025.
11. St Pourcain B, Skuse DH, Mandy WP, Wang K, Hakonarson H, Timpson NJ, Evans DM, Kemp JP, Ring SM, McArdle WL, Golding J, Smith GD. Variability in the common genetic architecture of

social-communication spectrum phenotypes during childhood and adolescence. *Mol Autism* 2014;5:18.

12. Jones RM, Cadby G, Melton PE, Abraham LJ, Whitehouse AJ, Moses EK. Genome-wide association study of autistic-like traits in a general population study of young adults. *Front Hum Neurosci* 2013;7:658.
13. Rosbrook A, Whittingham K. Autistic traits in the general population: What mediates the link with depressive and anxious symptomatology? *Res Autism Spectr Disord* 2010;4:415-424.
14. Hsiao M-N, Tseng W-L, Huang H-Y, Gau SSF. Effects of autistic traits on social and school adjustment in children and adolescents: the moderating roles of age and gender. *Res Dev Disabil* 2013;34:254-65.
15. Berthoz S, Lalanne C, Crane L, Hill EL. Investigating emotional impairments in adults with autism spectrum disorders and the broader autism phenotype. *Psychiatry Res* 2013;208:257-264.
16. Kauhanen J, Kaplan GA, Cohen RD, Julkunen J, Salonen JT. Alexithymia and risk of death in middle-aged men. *J Psychosom Res* 1996;41:541-549.
17. Kojima M1, Hayano J, Suzuki S, Seno H, Kasuga H, Takahashi H, Toriyama T, Kawahara H, Furukawa TA. Depression, alexithymia and long-term mortality in chronic hemodialysis patients. *Psychother Psychosom* 2010;79:303-311.
18. Cohen J. The cost of dichotomization. *Applied Psychological Measurement*. *Appl Psychol Meas* 1983;7: 249-253.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Kikuchi N, Nishiyama T, Sawada T, Wang C, Lin Y, Watanabe Y, Tamakoshi A, Kikuchi S. Perceived Stress and Colorectal Cancer Incidence: The Japan Collaborative Cohort Study. *Scientific Report* 7:40363 (2017).
2. Nishiyama T, Nakatochi M, Goto A, Iwasaki M, Hachiya T, Sutoh Y, Shimizu A, Wang C, Tanaka H, Watanabe M, Hosono A, Tamai Y, Yamada T, Yamaji T, Sawada N, Fukumoto K, Otsuka K, Tanno K, Tomita H, Kojima K, Nagasaki M, Hozawa A, Hishida A, Sasakabe T, Nishida Y, Hara M, Ito H, Oze I, Nakamura Y, Mikami H, Ibusuki R, Takezaki T, Koyama T, Kuriyama N, Endoh K, Kuriki K, Turin TC, Naoyuki T, Katsuura-Kamano S, Uemura H, Okada R, Kawai S, Naito M, Momozawa Y, Kubo M, Sasaki M, Yamamoto M, Tsugane S, Wakai K, Suzuki S. Genome-wide association meta-analysis and Mendelian randomization analysis confirm the influence of ALDH on sleep duration in the Japanese population. *Sleep* [in press].

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Nishiyama T, Nakatochi M, Hosono A, Tamai Y, Tsujimura N, Suzuki S, Hishida A, Wakai K, Kubo M, Tanaka H, Matsuo K. Genome-wide Association study of Sleep Duration in 14000 Japanese general population. American Society of Human Genetics, Vancouver, Canada, Oct 06.
2. Nishiyama T, Wang C, Fujii R, Nakatochi M, Hishida A, Matsuo K, Suzuki S. Multi-trait linear mixed-effect modeling of five psychological traits. 日本人類遺伝学会, 横浜, 08 年 10 月.
3. 西山毅, 中柄昌弘, 渡邊美紀, 中川弘子, 鈴木貞夫. アルコールおよびコーヒー摂取量が日常睡眠時間に与える因果効果に関するメンデルランダム化研究. 日本疫学会, 東京, 2019 年月.

〔図書〕(計 2 件)

1. 西山毅 (監訳), 菱田朝陽, 中柄昌弘, 室谷健太, 平川晃弘. 実践でわかる! R による統計遺伝学. 丸善出版, 06 年.
2. 神尾陽子, 西山毅. 日本版 SRS-対人応答性尺度. 日本文化科学社, 07 年.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等: 特になし

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 鈴木 貞夫

ローマ字氏名: SUZUKI Sadao

所属研究機関名: 名古屋市立大学

部局名: 大学院医学研究科

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 20226509

(2)研究分担者

研究分担者氏名 : 松尾 恵太郎

ローマ字氏名 : MATSUO Keitaro

所属研究機関名 : 愛知県がんセンター研究所

部局名 : がん予防医療研究領域

職名 : 部長

研究者番号 (8 桁): 80393122

(1)連携研究者

研究協力者氏名 : 松田 文彦

ローマ字氏名 : MATSUDA Fumihiko

(2)連携研究者

研究協力者氏名 : 岸野 洋久

ローマ字氏名 : KISHINO Hirohisa

(1)研究協力者

研究協力者氏名 : Beate St Pourcain

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : Gemma Cadby

(3)研究協力者

研究協力者氏名 : Alejandro Arias Vásquez

(平成30年度より研究協力者)

(4)研究協力者

研究協力者氏名 : Marieke Klein

(平成30年度より研究協力者)

(5)研究協力者

研究協力者氏名 : Varun Warriar

(平成30年度より研究協力者)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。