

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15512

研究課題名(和文) 自閉スペクトラム症多発家系の大規模エクソーム解析に基づく疾患脆弱性因子の同定

研究課題名(英文) Exome sequencing of multiplex families to elucidate pathophysiology of autism spectrum disorder

研究代表者

木村 大樹(KIMURA, HIROKI)

名古屋大学・医学系研究科・講師

研究者番号：30612783

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は本研究を通じて、これまででは最大規模の日本人自閉スペクトラム症(ASD)のエクソーム解析(ASD多発17家系サンプルを含む、ASD320名とコントロールサンプル300名)を実施した。その結果、日本人のASDには、FMRPがターゲットとする遺伝子、シナプス機能に関連している遺伝子変異が集積していることが判明した。さらにはABCA13がASDに優位に多く存在する新規の候補遺伝子と考えられた。また多発家系においては、SMARCA2遺伝子を中心としたネットワークに変異が集積していることが判明した。これらの結果は、今後精神疾患の診断補助法の開発、病態解明につながることを期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉スペクトラム症(ASD)は、同一家系内に集積しうるが、これまでのASD遺伝研究は同一家系内にASDが存在しない家系を対象に新規突然変異を探ること主であった。本研究では、日本人最大規模のASD患者さんのゲノムデータから、家系内で受け継がれた変異に着目し、ASDの同一家系内集積性の原因を探った。その結果、ASDの家系内集積に関わる様々なバリエーションの同定が可能となり、新規のASD候補遺伝子となるABCA13の同定に繋がった。本結果は、ASDが家系内に集積する原因の解明、ASDを含めた精神疾患の新規診断補助法の開発、さらにはASDの病態解明並びに新規の創薬につながることを期待された。

研究成果の概要(英文)：Autism spectrum disorder (ASD) is a highly heritable, complex disorder in which rare variants contribute significantly to disease risk. Although many genes have been associated with ASD, there have been few genetic studies of ASD in the Japanese population. In whole exomes from a Japanese ASD sample of 320 cases and 299 controls including 17 ASD multiplex families, rare variants were associated with ASD within specific neurodevelopmental gene sets, including highly constrained genes, fragile X mental retardation protein target genes, and genes involved in synaptic function, with the strongest enrichment in trans-synaptic signaling ( $p = 4.4 \times 10^{-4}$ ,  $Q$ -value = 0.06). In particular, we strengthen the evidence regarding the role of ABCA13, a synaptic function-related gene, in Japanese ASD. The overall results of this exome study showed that rare variants related to synaptic function are associated with ASD susceptibility in the Japanese population.

研究分野：精神神経科学

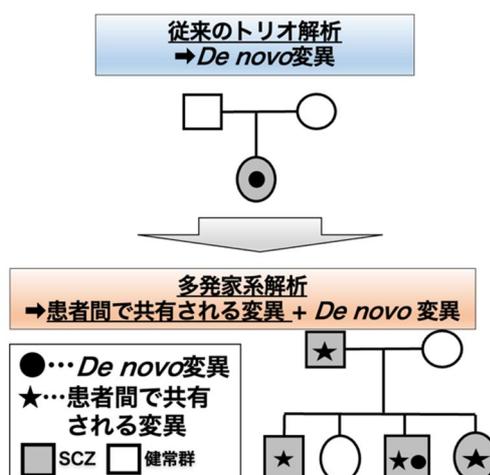
キーワード：自閉スペクトラム症 統合失調症 多発家系 エクソーム 全ゲノムシーケンシング Gene ontology 解析 ABCA13 Trans synaptic signaling

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 自閉スペクトラム症 (Autism Spectrum Disorder: ASD) は、双生児研究から遺伝率が 80%程度と推定されるなど、発症には遺伝要因が強く関わる。従って、ASD の病因・病態の解明や新規診断法開発のためには、ゲノム解析による疾患脆弱性変異の同定が有望と考えられる。

(2) Rare variants は、家系内に特有の変異で、疾患脆弱性の強い変異を効率よく同定するには、患者と健常家族を含めた家系解析が重要である。家系内で疾患脆弱性に強く寄与する変異として、( ) 両親に存在せず患者で初めて同定される変異 ( *de novo* 変異 )、( ) 多発家系における患者群に共有される変異、の 2 つが挙げられる。従来の ASD のゲノム解析は、本人と両親を対象としたトリオ解析による *de novo* 変異の同定が主で、ASD の遺伝要因の一部の解明に留まっていた。近年、上記 ( ) に関連する rare variants を抽出する方向性が注目され、ASD 多発家系のゲノム解析を実施することで、新規の疾患脆弱性変異が同定されることが期待されている。しかし、ASD 多発家系のゲノム解析の現状は、極少数の家系を対象にした結果が、わずかに報告されているに過ぎない ( 右図 )。



## 2. 研究の目的

本研究の目的は、「ASD 多発家系のエクソーム解析を国内最大規模で実施することで、ASD の分子病態解明や診断補助ツール開発につながり得る、新規の疾患脆弱性変異ならびに遺伝子ネットワーク障害を同定する」ことである。

## 3. 研究の方法

### (1) ASD 家系サンプル収集

名古屋大学およびその関連病院において、ASD 多発家系 ( 同一家系において、少なくとも 2 人以上が ASD と診断されている家系 ) の収集を行う。既に、15 家系を収集しているが、全 20 家系 ( 健常家族も含めて合計 100 名程度のゲノムサンプル ) を目標に収集する。同時に、各患者の臨床表現型 ( 発達歴、認知機能、身体合併症、治療経過など ) の取得を行う。

### (2) エクソーム解析

イルミナ社 HiSeq2500 をプラットフォームとして、エクソーム解析を行う。その後、申請者が構築したパイプラインを使用して、産出された raw data から変異を検出する。

### (3) データフィルタリング

1 人あたり平均して 10 万個程度の変異が検出される。その中から疾患脆弱性変異を抽出する目的で、( ) Read depth や call quality による抽出、( ) 欧米人と日本人のエクソームデータベースを用いて頻度が低い変異 ( 1%未満 ) を抽出、( ) ミスセンス/ノンセンス変異など、タンパク質機能に強い影響を及ぼしうる変異を抽出、( ) タンパク質機能変化予測ソフトウェア ( Polyphen2、SIFT、CADD など ) による抽出、( ) 家系解析として、*de novo* 変異に加えて家系内で患者群に共有する変異の抽出、を行う。その後、抽出された変異を Sanger 法で確認し、フィルタリングの妥当性を検証する。

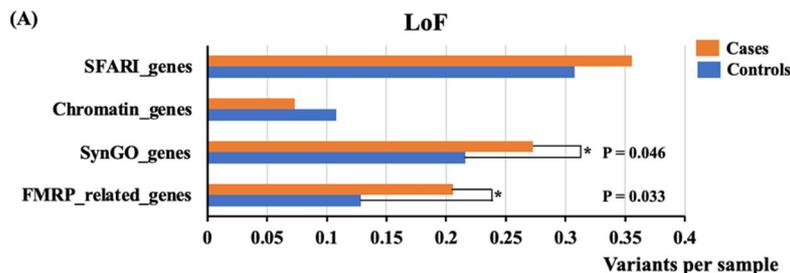
### (4) *In silico* 解析による ASD に関連する遺伝子ネットワーク障害の特定

各家系でフィルタリングされた疾患脆弱性変異を集積することで、数百個の疾患脆弱性遺伝子リストが導出されると予想される。その後、リストを基に Gene Ontology 解析、パスウェイ解析、タンパク質間相互作用解析を実施し、ASD 分子病態に特徴的な遺伝子ネットワーク障害を特定する。

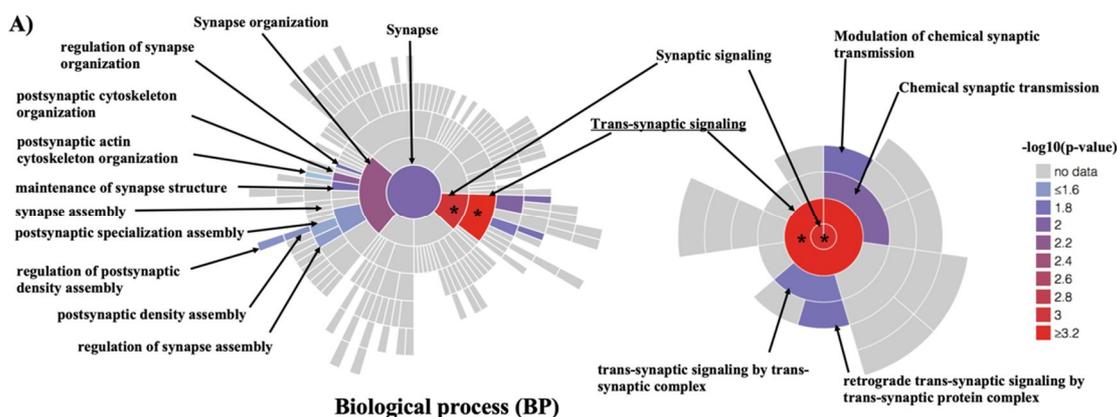
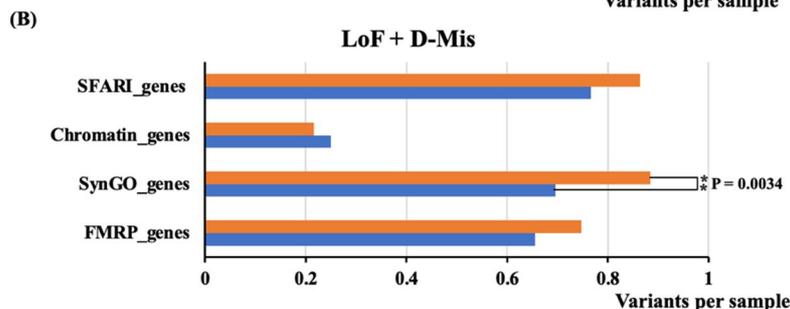
## 4. 研究成果

(1) 本研究課題によって申請者は、国内の精神科関連施設と協力してサンプリングを進め、国内最大規模の ASD のエクソーム解析 ( 17ASD 多発家系を含む ASD320 名と 299 名の健常者 ) を実施した。加えて、ASD と共通の遺伝要因と臨床表現型を有する統合失調症多発 14 家系のエクソーム解析を実施した。

(2) ASD のエクソーム解析によって、ASD 患者には、FMRP に関連する遺伝子群に加え、シナプス機能に関連する機能喪失変異が集積していることを証明(右図)した(現在論文投稿中)。

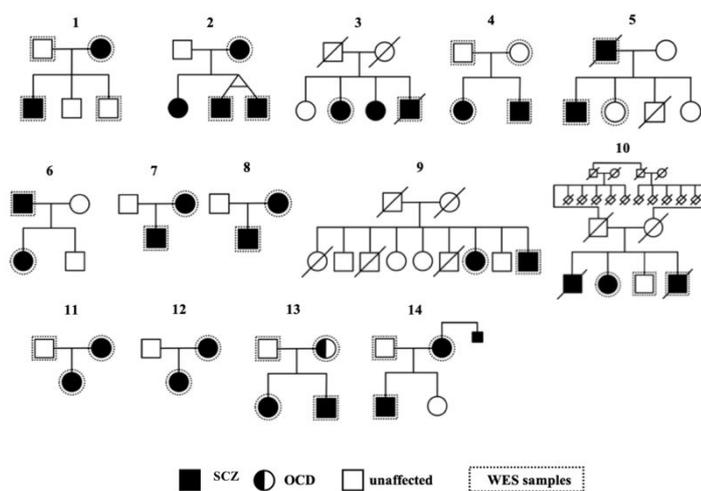


(3) また、ASD エクソーム解析にて ASD で集積が示唆されたシナプス機能関連の遺伝子群の内、Trans synaptic signaling 遺伝子群が、特に有望な遺伝子群として判明した(下図)。



(4) 本研究において、320 名の ASD 患者の中には、ABCA13 の機能喪失変異が 5 名含まれており、ABCA13 はシナプス機能に関与することから、新規の ASD 候補遺伝子であると考えられた。

(5) ASD 多発家系解析により *de novo* 変異に加え患者間で共有する変異を抽出して遺伝子ネットワーク解析を実施したところ、神経発達に重要な影響を持つ SMARCA1A を中心とする遺伝子ネットワークを同定し、現在、論文投稿準備中である。



(6) 統合失調症の多発家系(右図)においては、同一家系内にて患者群で共有されている変異に加え、新規突然変異を合わせて、Gene ontology 解析を実施した結果、カルシウムチャネル機能に関わる遺伝子群が優位に集積していることが判明した(引用文献)。

<引用文献>

Miho Toyama, Yuto Takasaki, Aleksic Branko, Hiroki Kimura(責任著者), Hidekazu Kato, Yoshihiro Nawa, Itaru Kushima, Kanako Ishizuka, Teppei Shimamura, Tomoo Ogi, Norio Ozaki. Exome sequencing of Japanese schizophrenia multiplex families supports the involvement of calcium ion channels. PLoS One. 2022 May 10;17(5):e0268321.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kato Hidekazu, Kimura Hiroki, Ozaki Norio	4. 巻 10
2. 論文標題 Rare genetic variants in the gene encoding histone lysine demethylase 4C (KDM4C) and their contributions to susceptibility to schizophrenia and autism spectrum disorder	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-020-01107-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nawa Yoshihiro, Kimura Hiroki, Ozaki Norio	4. 巻 7
2. 論文標題 Rare single-nucleotide DAB1 variants and their contribution to Schizophrenia and autism spectrum disorder susceptibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-020-00125-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Hiroki, Mori Daisuke, Aleksic Branko, Ozaki Norio	4. 巻 -
2. 論文標題 Elucidation of molecular pathogenesis and drug development for psychiatric disorders from rare disease-susceptibility variants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2020.11.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka Kanako, Yoshida Tomoyuki, Kawabata Takeshi, Imai Ayako, Mori Hisashi, Kimura Hiroki, Inada Toshiya, Okahisa Yuko, Egawa Jun, Usami Masahide, Kushima Itaru, Morikawa Mako, Okada Takashi, Ikeda Masashi, Branko Aleksic, Mori Daisuke, Someya Toshiyuki, Iwata Nakao, Ozaki Norio	4. 巻 12
2. 論文標題 Functional characterization of rare NRXN1 variants identified in autism spectrum disorders and schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurodevelopmental Disorders	6. 最初と最後の頁 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s11689-020-09325-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sekiguchi Mariko, Sobue Akira, Kushima Itaru, Wang Chenyao, Arioka Yuko, Kimura Hiroki, Aleksic Branko, Yamamoto Takashi, Sakuma Tetsushi, Aida Tomomi, Tanaka Kohichi, Mori Daisuke, Ozaki Norio	4. 巻 10
2. 論文標題 ARHGAP10, which encodes Rho GTPase-activating protein 10, is a novel gene for schizophrenia risk	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-020-00917-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 名和 佳弘, 木村 大樹, 尾崎 紀夫	4. 巻 48
2. 論文標題 ゲノム医学からみた総合失調症 一病態に基づく診断体系構築に向けて	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 そだちの科学	6. 最初と最後の頁 11-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Adachi Y, Kimura H, Kimura H, Tokura T, Ozaki N	4. 巻 8
2. 論文標題 Trajectories and Predictors of Post-Treatment Depression in Patients with Head and Neck Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuropsychiatry	6. 最初と最後の頁 739-744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishizuka K, Kimura H, Kushima I, Inada T, Okahisa Y, Ikeda M, Iwata N, Mori D, Aleksic B, Ozaki N.	4. 巻 28
2. 論文標題 Assessment of a glyoxalase I frameshift variant, p.P122fs, in Japanese patients with schizophrenia.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Psychiatr Genet	6. 最初と最後の頁 90-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/YPG.0000000000000204	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kushima I, Aleksic B, Kimura H, Arioka Y, Yoshimi A, Takasaki Y, Yu Y, Nakamura Y, Yamamoto M, Iidaka T, Iritani S, Inada T, Ogawa N, Shishido E, Torii Y, Kawano N, Omura Y, Yoshikawa T, Uchiyama T, Yamamoto T, Ikeda M, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Someya T, Itokawa M, Arai M, Iwata N, Ozaki N	4. 巻 24
2. 論文標題 Comparative Analyses of Copy-Number Variation in Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia Reveal Etiological Overlap and Biological Insights.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 2838-2856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.08.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Arioka Y, Shishido E, Kubo H, Kushima I, Yoshimi A, Kimura H, Ishizuka K, Aleksic B, Maeda T, Ishikawa M, Kuzumaki N, Okano H, Mori D, Ozaki N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Single-cell trajectory analysis of human homogenous neurons carrying a rare RELN variant.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transl Psychiatry	6. 最初と最後の頁 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-018-0177-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yu Y, Lin Y, Takasaki Y, Wang C, Kimura H, Xing J, Ishizuka K, Toyama M, Kushima I, Mori D, Arioka Y, Uno Y, Shiino T, Someya T, Egawa J, Usami M, Kodaira M, Yoshimi A, Oya-Ito T, Aleksic B, Ohno K, Ozaki N.	4. 巻 8
2. 論文標題 Rare loss of function mutations in N-methyl-D-aspartate glutamate receptors and their contributions to schizophrenia susceptibility.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transl Psychiatry	6. 最初と最後の頁 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-017-0061-y,	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 木村大樹	4. 巻 60
2. 論文標題 ゲノム変異を用いた精神医学診断・評価システムの構築	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 精神医学	6. 最初と最後の頁 43-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 木村大樹	4. 巻 18
2. 論文標題 注目の遺伝子「RTN4R」	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 分子精神医学	6. 最初と最後の頁 50-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 木村 大樹
2. 発表標題 脳と心を橋渡しする、精神療法と薬物療法の併用(教育研修セミナー)
3. 学会等名 第61回日本精神分析学会(招待講演) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村 大樹
2. 発表標題 精神疾患のゲノム要因における稀な変異の意義と方向性について
3. 学会等名 第40回日本生物学的精神医学会・第61回日本神経化学会合同年 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroki Kimura
2. 発表標題 Target sequencing of genes involved in neurodevelopment from whole genome copy number variation analysis of Schizophrenia
3. 学会等名 26th World Congress of Psychiatric Genetics, UK, Dec 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 木村 大樹	4. 発行年 2018年
2. 出版社 理工図書	5. 総ページ数 25
3. 書名 メディカルスタッフ専門基礎科目シリーズ; 精神医学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------