

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10246

研究課題名(和文) 自閉スペクトラム症の複数罹患同胞家系エクソーム解析を基盤としたリスク遺伝子確定

研究課題名(英文) To identify risk genes for Autism Spectrum Disorder : Whole-exome sequencing in three pairs of affected siblings.

研究代表者

澁谷 雅子 (Shibuya, Masako)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：70631620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：自閉スペクトラム症(ASD)の罹患者が複数いる家系においては、その発症に重要な役割を果たしている稀な変異が存在する可能性が高いと考えられる。ASDの発症に大きな影響力をもつ稀な候補リスク変異を同定するために、ASD罹患同胞対3ペアのエクソーム解析を実施した。候補リスク変異として、ひとつの家系においてANK2遺伝子Tyr3907Ser変異が選択され、非罹患者の父から罹患同胞2人に伝達されていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一般的には収集が困難である貴重なサンプルを用いたアプローチ、すなわち、ASD罹患同胞対3家系のエクソーム解析による候補リスク遺伝子の同定により、ASDの発症に大きな効果をもつ稀なリスク遺伝子を探索する点に本研究の学術的な特色がある。本研究で得られる成果を基盤として、将来的にはASDの発症機序解明やサブグループ分類から、新たな診断・治療法の開発や療育のオーダーメイド化につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文)：Rare inherited variations in multiplex families with Autism Spectrum Disorder (ASD) are suggested to play a role in the genetic etiology of ASD. To further investigate the role of rare inherited variations, we performed whole-exome sequencing (WES) in three pairs of affected siblings. WES identified a rare ANK2 variation, p.(Tyr3907Ser), shared by two affected siblings and their father within families.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：自閉スペクトラム症 エクソーム解析 多発罹患家系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症 (Autism Spectrum Disorder, ASD) は、遺伝要因と環境要因が相互に影響して発症する多因子疾患である。ASD の遺伝率は 52.4% と見積もられており、その大部分は頻度の高いリスク多型によって説明されるものと推定されている。ASD リスク多型の同定を目指したゲノムワイド関連解析が実施されているが、個々のリスク多型が ASD の発症に与える効果は小さいことから、ゲノムワイド関連解析の成果を病態解明へとつなげるには大きな困難がある。

ASD の病態解明につながる分子基盤を得るには、頻度は稀だが相対危険度の高い変異を同定することが重要である。近年、高速シーケンサーの登場によって、ゲノム中の全エクソンを網羅的にシーケンスするエクソーム解析が実施され、ASD の発症に大きな効果をもつリスク変異を効率的に同定できるようになった。大規模な白人サンプル (発症者・両親トリオおよび症例・対照) を用いたエクソーム解析とコピー数変異解析では、71 のリスク変異が同定されている。

ASD のエクソーム解析に関する分野で日本は大きな後れを取ってしまっているが、本土日本人は遺伝的な均質性が高いという利点がある。ASD の発症に大きな効果をもつ稀なリスク遺伝子を同定するために、日本人においてもエクソーム解析を行う必要がある。

2. 研究の目的

応募者らは、自施設で ASD 罹患同胞が複数いる 7 家系の遺伝子サンプルを収集し、これまでに 3 家系 (家系 #1 ~ #3) のエクソーム解析を実施した。

家系 #2 では、CLN8 遺伝子 R24H 変異が、疾患と共分離することを見出している。さらに、CLN8 遺伝子のリシーケンスおよび関連解析を行ったが、ASD との有意な関連を見出すことはできなかった。

応募者らのこれまでの研究成果を進展させ、ASD の発症に大きな影響力をもつ稀な候補リスク変異を同定するために、ASD 罹患同胞対 3 ペアのエクソーム解析を実施した。

3. 研究の方法

本研究は新潟大学遺伝子倫理審査委員会で承認されており、対象者または親権者から書面にて研究参加の同意を得た。

対象は ASD 罹患同胞対 3 ペアの計 6 人である (図 1)。

匿名化された DNA サンプルを外部委託先 (タカラバイオ株式会社) に送付し、エクソーム解析を実施した。具体的には、SureSelect Human All Exon v6 キットにより全エクソンを濃縮した後、タグ配列を付加した上で 6 サンプルを混合し、高速シーケンサー (Illumina HiSeq2000/2500) を用いて 100bp ペアエンド・シーケンスを行った。

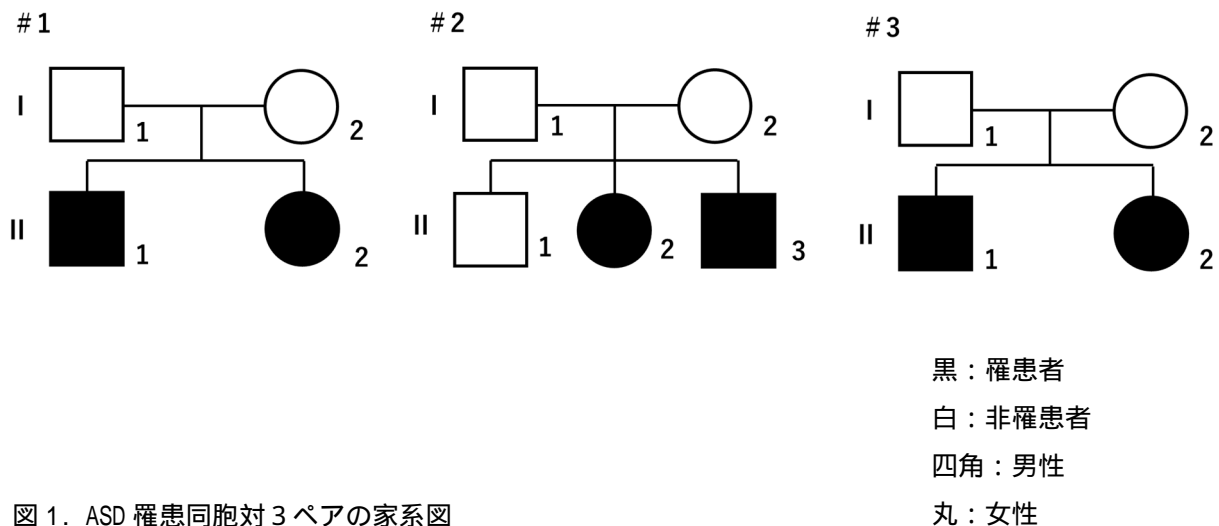


図 1. ASD 罹患同胞対 3 ペアの家系図

エクソーム解析により検出された変異のなかで、以下の 4 つの条件を満たすものを候補リスク変異として選択した (表 1)。

各家系内で罹患同胞 2 人が共有する

機能的意義を有する可能性が高い (ナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライス部位変異、ミスセンス変異)

アレル頻度が 1% 未満

ASD リスク遺伝子のデータベース (SFARI Gene) においてカテゴリ 1 (高信頼度) に分類される遺伝子の変異

表 1. 候補変異のフィルタリング

候補変異のフィルタリング	#1	#2	#3
検出された変異	63,258	63,713	61,474
①各家系内で罹患同胞 2 人が共有する	32,900	33,436	36,521
②機能的意義を有する可能性が高い ：ナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライス 部位変異、ミスセンス変異	521	530	568
③アレル頻度が 1 %未満	317	323	408
④ASDリスク遺伝子のデータベース (SFARI Gene) においてカテゴリー1 (高信頼度) に分類される遺伝 子の変異	1	0	0

選択された候補リスク変異については、キャピラリー・シーケンシング・システム(ABI 3130x1)を用いた直接シーケンス法により、エクソーム解析データが正しいことを確認した。

4. 研究成果

ANK2 遺伝子 Tyr3907Ser 変異が、家系#1 の罹患同胞 2 人において同定され、非罹患者の父から伝達されていた。この変異は、機能予測ソフト(PolyPhen-2、SIFT)により有害と予測された。

ANK2 遺伝子がコードするアンキリン B は、グルタミン酸神経系のシナプス後肥厚に発現しており、シナプスの可塑性に関与している¹⁾。ANK2 遺伝子 Tyr3907Ser 変異は、シナプスの可塑性の異常を惹き起こし、最終的に ASD の発症に至るのではないかと考えられる。

引用文献

1) Smith KR, Penzes P. Ankyrins: Roles in synaptic biology and pathology. Mol Cell Neurosci. 2018; 91: 131-139

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 澁谷雅子、渡部雄一郎、保谷智史、森川亮、江川純、杉本篤言、井桁裕文、林剛丞、染矢俊幸
2. 発表標題 自閉スペクトラム症罹患同胞対3ペアのエクソーム解析
3. 学会等名 第115回日本精神神経学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
連携研究者	江川 純 (Egawa Jun) (80648527)	新潟大学・研究推進機構・講師 (13101)	