

令和元年6月10日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05242

研究課題名(和文) 表現型クラスター化と超高次元変数選択法による自閉症スペクトラム障害の原因解明

研究課題名(英文) Elucidation of autism etiology by combination of phenotype clustering and high-dimensional variables selection method

研究代表者

栗山 進一 (KURIYAMA, SHINICHI)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：90361071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：ビタミンB6反応性を予測する因子を検討した。統計学的検定及び機械学習アルゴリズムを適用したところ、音への過敏と不器用さを同時に有し、血中グルタミン濃度が低値であることがビタミンB6反応性を示唆することを見出した。さらに、Simons Simplex Collectionの登録者のデータを用いて、Genome Wide Association Studyを行ったところ、全症例 vs 対照では有意な遺伝子座は観察されなかった。一方、機械学習によって表現型をクラスター毎に分けたのちに行った解析では、有意なSNPが複数観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ビタミンB6反応性を予測する因子に関する研究は、われわれの知る限り、特定の治療法に反応する自閉スペクトラム症のサブグループの同定を試みた世界初のものであり、本研究結果は自閉スペクトラム症を治療反応性によって個別化する精密医療の先駆けとなるものである。

表現型によってクラスターに分けたのちにGenome Wide Association Studyを行う研究では、自閉スペクトラム症のように多様な特徴を示す疾患症例群をクラスターリングによって分割し、よりホモな集団に近づけることで特徴に応じた危険因子を同定できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether machine learning methods could potentially identify a subgroup of persons with autism spectrum disorder (ASD) who show vitamin B6 responsiveness by selected phenotype variables. We analyzed the existing data from our intervention study with 17 persons. The affinity propagation analysis showed good classification of three potential vitamin B6-responsive persons with ASD. The k-medoids analysis also showed good classification.

We show a two-step genome-wide association study (GWAS). In the first step, we observed no significant associations in a GWAS including 597 cases and 370 controls. In the second step, we conducted a cluster analysis using k-means with 15 clusters based on Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) scores and history of vitamin treatment. We then conducted GWAS by each subgroup of cases vs all controls (cluster-based GWAS) and identified significant associations with 93 chromosomal loci that satisfied the genome-wide significance threshold.

研究分野：分子疫学

キーワード：自閉スペクトラム症 遺伝子 クラスター ビタミンB6 ゲノムワイド関連解析

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

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症は、単一の疾患というより症候群的要素の強い疾患群である。これまでの原因探索研究は同症を単一の疾患とみなし、遺伝要因と環境要因を検討してきた。その結果、自閉スペクトラム症と関連する候補遺伝子領域は少なくとも 24 箇所を数えながら、遺伝要因の 70% 以上は不明のままである (Neuron 2011; 70:806-8.)。環境要因に至っても、「自閉症心因説」、「MMR ワクチン説」、「水銀原因説」、「妊娠中の母のストレス説」など多くの説が流布され、世間の混乱を招いてきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、自閉スペクトラム症をその多彩な表現型によってクラスター化して症候群を疾患概念に分割し、かつ、原因候補となる遺伝要因の解明を行うことである。

3. 研究の方法

(1) 自閉スペクトラム症においてビタミン B6 服用が有効であるかどうかは議論が続いている。研究代表者らはこれまで、異なる疾患であると考えられてきた 2 つの疾患、自閉スペクトラム症とビタミン B6 依存性痙攣の類似性を指摘した。ビタミン B6 依存性痙攣と診断されている児の精神的・身体的特徴には自閉スペクトラム症と類似の徴候が多く、痙攣のみならず、自閉傾向、音に対する過敏、言語の表出障害、統合運動障害等多彩な徴候がみられると報告され、さらに、ビタミン B6 の大量投与により痙攣が消失するのみならず、その知的能力までも改善する (IQ 上昇) と同時に報告されている (Dev Med Child Neurol. 1996; 38: 998-1006)。そこで研究代表者らは、自閉スペクトラム症と診断される子ども達の中に、痙攣のないタイプのビタミン B6 依存症をもつ児が含まれている可能性があることを推測し、予備的ランダム化比較試験により、自閉スペクトラム症と診断される子ども達で、音に対する過敏、言語の表出障害、統合運動障害を有する子どもに対するビタミン B6 大量投与の有効性を報告した (Dev Med Child Neurol. 2002; 44: 284-286)。これまでに得られたビタミン B6 依存性痙攣に関する表現型を精査し、自閉スペクトラム症との類似性をさらに検討して、自閉スペクトラム症がビタミン B6 依存性痙攣の亜型ではないかとの仮説を検証する。ビタミン B6 反応性を予測する因子研究として、自閉スペクトラム症患者 17 人を対象とし、ビタミン B6 反応性を示す患者の徴候およびバイオマーカーを機械学習の手法を用いて明らかにする。

(2) ビタミン B6 に反応していると考えられる自閉スペクトラム症の患者とその家族について全エクソーム解析を行い、原因遺伝子の探索を行う。

(3) 解析対象者は自閉スペクトラム症の子どもとその家族をリクルートした Simons Simplex Collection の登録者の内、主成分分析で遺伝的背景が異なる児を除外した白人男児、症例: 592 人、対照: 336 人である。症例を自閉症診断面接改訂版 (ADI-R) のスコアとビタミン B6 による治療の有無を用いて機械学習の一つである k-means 法でクラスタリングした。クラスター数は 2、3、4、5、10、15、20 と 7 通り指定した。解析は 1) 全症例 vs 対照、2) 各クラスター vs 対照で Genome Wide Association Study をそれぞれ sibling-based transmission disequilibrium test、Cochran-Armitage trend test で実施した (有意水準: $p < 5.0 \times 10^{-8}$)。なお、常染色体 2,383,385 SNPs の内、minor allele frequency < 0.01 、call rate < 0.95 、Hardy-Weinberg equilibrium test $p < 1.0 \times 10^{-6}$ のいずれかに該当するものは除外した。

4. 研究成果

(1) 統計学的検定及び機械学習アルゴリズムを適用したところ、音への過敏と不器用さを同時に有し、血中グルタミン濃度が低値であることがビタミン B6 反応性を示唆することを見出した (図 1)。われわれの知る限り、本研究は特定の治療法に反応する自閉スペクトラム症のサブグループの同定を試みた世界初のものであり、本研究結果は自閉スペクトラム症を治療反応性によって個別化する精密医療の先駆けとなるものである。

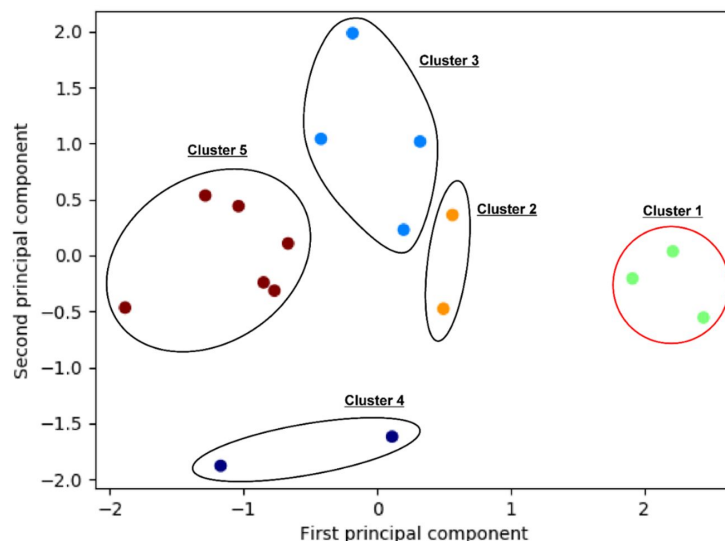


図 1

(2) 自閉スペクトラム症患者とその家族合計 16 人より唾液の提供を受け、全エクソーム解析を実施した。原因遺伝子の探索を行ったところ 1 つの遺伝子が候補に挙げられたが、機能面からみて妥当なものとはいいがたく、今後さらに検討を進めることとした。

(3) 全症例 vs 対照では有意な遺伝子座は観察されなかった。一方、クラスター毎の有意な遺伝子座の数は、クラスター数が 2 と 3 では 0、4 と 5 では 2、10 では 16、15 では 84、20 では 199 と分類したクラスター数の増加に伴い増加傾向であった。Genomic inflation factor はクラスターを 15 に分けた時が最も妥当であった。その際、2 つのクラスターで既報の候補遺伝子と一致する 5 つの遺伝子が有意であった (MED13L、LRFN2、FHIT、DOCK1、GSK3B) (図 2)。自閉スペクトラム症のように多様な特徴を示す疾患症例群をクラスタリングによって分割し、よりホモな集団に近づけることで特徴に応じた危険因子を同定できる可能性が示唆された。



図 2

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Obara T, Ishikuro M, Tamiya G, Ueki M, Yamanaka C, Mizuno S, Kikuya M, Metoki H, Matsubara H, Nagai M, Kobayashi T, Kamiyama M, Watanabe M, Kakuta K, Ouchi M, Kurihara A, Fukuchi N, Yasuhara A, Inagaki M, Kaga M, Kure S, Kuriyama S. Potential identification of vitamin B6 responsiveness in autism spectrum disorder utilizing phenotype variables and machine learning methods. Sci Rep. 2018;8:14840. (査読あり) doi:1038/s41598-018-33110-w.

Ueki M, Kawasaki Y, Tamiya G; for Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Detecting genetic association through shortest paths in a bidirected graph. GenetEpidemiol. 2017;41:481-497. (査読あり) doi: 10.1002/gepi.22051.

〔学会発表〕(計 2 件)

永井雅人、成田暁、水野聖士、荻島創一、田宮元、植木優夫、櫻井利恵子、牧野悟士、小原拓、石黒真美、山中千鶴、松原博子、村上慶子、小林朋子、小林美佳、寶澤篤、菊谷昌浩、目時弘仁、呉繁夫、栗山進一 「機械学習を用いたクラスタリングによる自閉スペクトラム症の原因遺伝子の探索」第29回日本疫学会学術総会，2019年

水野聖士、永井雅人、成田暁、山中千鶴、松原博子、田宮元、寶澤篤、荻島創一、栗山進一 「自閉スペクトラム症患者のフェノタイプを用いたクラスタリングに基づく全ゲノム関連解析」日本人類遺伝学会第63回大会，2018年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：田宮 元

ローマ字氏名：(Tamiya Gen)

所属研究機関名：東北大学

部局名：東北メディカル・メガバンク機構

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 10317745

研究分担者氏名：呉 繁夫

ローマ字氏名：(Shigeo Kure)

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 10205221

研究分担者氏名：瀬戸 俊之

ローマ字氏名：(Seto Toshiyuki)

所属研究機関名：大阪市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：准教授

研究者番号 (8 桁): 60423878

研究分担者氏名：吉川 貴仁

ローマ字氏名：(Yoshikawa Takahito)

所属研究機関名：大阪市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 10381998

(2)研究協力者

研究協力者氏名：山中 千鶴

ローマ字氏名：(Yamanaka Chizuru)

研究協力者氏名：松原 博子

ローマ字氏名：(Matsubara Hiroko)

研究協力者氏名：永井 雅人

ローマ字氏名：(Nagai Masato)

研究協力者氏名：小原 拓

ローマ字氏名：(Obara Taku)

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。