

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 24 年 6 月 6 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591341

研究課題名（和文） オリゴDNAアレイCGH法を用いた自閉症の分子遺伝学基盤の解明

研究課題名（英文） Delineation of molecular basis of autism using array CGH

研究代表者

小崎 里華 (KOSAKI RIKA)

独立行政法人 国立成育医療研究センター・器官病態系内科部遺伝診療科・医長

研究者番号：50234745

研究成果の概要（和文）：

自閉症は社会的な相互交渉の質的な障害・コミュニケーション機能の質的な障害・活動と興味の範囲の著しい限局性の3つを主な特徴とする発達障害である。強い遺伝的素因を伴う生物学的基盤があると考えられているが、原因を特定できる症例は10%程度に限られている。

自閉症スペクトラム群と評価された患者を対象とし、症例を集積し解析を行った。

<自閉症の解析に特化したオリゴDNAデザインアレイによる解析>

60塩基程度の合成DNAプローブをスライドガラス上に配置する。ゲノム全域に計6万個程度のプローブを配置するが、とくに、①X染色体上の遺伝子、②欠失によって発達遅滞をともなう奇形症候群を発症する遺伝子（コルネリア・デランゲ症候群、ルビンシュタイン・タイビ症候群等30種の症候群）上に特異的にプローブを高密度に配置したアレイ（244,000~1,000,000）③自閉症関連遺伝子（*NLGN3*, *NGLN4*, *NRXN1*, *SHANK3*, *CNTNAP2*, *PCDH10*, *CNTN3*, *NHE9*, *NHE6*, *DIAL1*, *A2BP1*）およびその相同遺伝子や、上流・下流に位置する遺伝子、全ゲノム上で、計71個の遺伝子の近傍にプローブを重点的に配置したデザインアレイを設計した。①~③のアレイフォーマットを用いて検体解析を行った。

解析の結果、染色体①6q14.2-15領域に約5.4Mbの中間部重複を検出した。重複領域内にはGABA受容体 *GABRB3* 遺伝子を含んでいた。②2p16.3領域に約6.6Mbの中間部欠失を同定した。欠失領域内には神経シナプス前終末に存在する *NRXN1* 遺伝子を含んでいた。

NRXN はシナプス後膜の *NLGN* と複合体を形成し、後膜のGABA受容体やグルタミン受容体を介する神経伝達において重要な役割を果たす。これらの遺伝子欠失が臨床症状 自閉症の発症機構において重要な関与を示唆するものであることが推察された。

研究成果の概要（英文）：

Autism is a complex developmental disability that typically appears during the first three years of life and is the result of a neurological disorder that affects the normal functioning of the brain, impacting development in the areas of social interaction and communication skills. Presumably, genetic background contributes to autism. Yet, only 10% of patients exhibit definitive genetic abnormalities. We designed a custom array with 60000 probes. Probes were densely allocated at genes on X chromosome, genes of which mutations are known to cause multiple malformation syndromes with developmental delay (i.e. Cornelia de Lange syndrome, Rubinstein-Taybi syndrome), and genes already known

to be related with autism (*NLGN3*, *NGLN4*, *NRXN1*, *SHANK3*, *CNTNAP2*, *PCDH10*, *CNTN3*, *NHE9*, *NHE6*, *DIA1*, and *A2BP1*) and their homologous / upstream / downstream genes. We have identified two critical cases: One patient who had a duplication of 5.4MB at 6q14.2-15 including the GABA receptor *GABRB3*; the other patient had a deletion of 6.6MB at 2p16.3 including *NRXN1*. *NRXN* forms a complex with *NLGN* on the post synaptic membrane and plays a critical role on neural transmission mediated through GABA receptors and glutamine receptors. We suggest that duplication of *GABRB3* and deletion of *NRXN1* contributes to autism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
平成 22 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
平成 23 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総 計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児神経学・オリゴDNAアレイ・CGH法・自閉症・遺伝・アレイCGH

1. 研究開始当初の背景

自閉症は社会的な相互交渉の質的な障害・コミュニケーション機能の質的な障害・活動と興味の範囲の著しい限局性の3つを主な特徴とする発達障害である。強い遺伝的素因を伴う生物学的基盤があると考えられているが、原因を特定できる症例は10%程度に限られている。

2. 研究の目的

オリゴDNAアレイCGH法を用いた自閉症の分子遺伝学基盤の解明を行う。

3. 研究の方法

自閉症スペクトラム群と評価された患者を対象とし、症例を集積し、新規遺伝学的手法アレイCGH法を用いて解析を行った。

<自閉症の解析に特化したオリゴDNAデザインアレイによる解析>

60塩基程度の合成DNAプローブをスライドガラス上に配置する。ゲノム全域に計6万個程度のプローブを配置するが、とくに、①X染

色体上の遺伝子、②欠失によって発達遅滞をとともなう奇形症候群を発症する遺伝子（コルネリア・デランゲ症候群、ルビンシュタイン・タイビ症候群等30種の症候群）上に特異的にプローブを高密度にプローブを配置したアレイ（244,000~1,000,000）③自閉症関連遺伝子（*NLGN3*, *NGLN4*, *NRXN1*, *SHANK3*, *CNTNAP2*, *PCDH10*, *CNTN3*, *NHE9*, *NHE6*, *DIA1*, *A2BP1*）およびその相同遺伝子や、上流・下流に位置する遺伝子、全ゲノム上で、計71個の遺伝子の近傍にプローブを重点的に配置したデザインアレイを設計した。①~③のアレイフォーマットを用いて検体解析を行った。

4. 研究成果

解析の結果、①6q14.2-15領域に約5.4Mbの中間部重複を検出した。重複領域内にはGABA受容体*GABRB3*遺伝子を含んでいた。染色体異常を伴う自閉症スペクトラム障害の中で、最も頻度が高い異常はGABA受容体である。

GABA 受容体の *GABRB3* の重複が認められたことは、自閉症の発症機構における GABA 受容体の関与を示唆するものである。

②2p16.3 領域に約 6.6Mb の中間部欠失を同定した。欠失領域内には *NRXN* 遺伝子を含んでいた。*NRXN* 遺伝子は、細胞接分子 neurexin family に属し、神経シナプス前終末に存在する。*NRXN* はシナプス後膜の NLGN と複合体を形成し、後膜の GABA 受容体やグルタミン受容体を介する神経伝達において重要な役割を果たす。*NRXN* 遺伝子欠失が臨床症状 自閉症の発症機構において重要な関与を示唆するものであることが推察された。

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 8 件)

Kosaki K, Saito H, Kosaki R, Torii C, Kishi K, Takahashi T. Branchial arch defects and 19p13.12 microdeletion: defining the critical region into a 0.8 M base interval. *Am J Med Genet A*. 155A(9):2212-4. 2011

Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital

anomalies. *J Hum Genet*. 56(2):110-24 2011

Fujita H, Torii C, Kosaki R, Yamaguchi S, Kudoh J, Hayashi K, Takahashi T, Kosaki K. Microdeletion of the Down syndrome critical region at 21q22. ; *Am J Med Genet A*. 152A(4):950-3. 2010

Izumi K, Okuno H, Maeyama K, Sato S, Yamamoto T, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Interstitial microdeletion of 4p16.3: contribution of WHSC1 haploinsufficiency to the pathogenesis of developmental delay in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*.

152A(4):1028-32. 2010

Fujita H, Yanagi T, Kosaki R, Torii C, Bamba M, Takahashi T, Kosaki K. : Transverse limb defect in a patient with Jacobsen syndrome: concurrence of malformation and disruption. *Am J Med Genet A*. 152A(4):1033-5. 2010

Ohnuki Y, Torii C, Kosaki R, Yagihashi T, Sago H, Hayashi K, Yasukawa K, Takahashi T, Kosaki K. Cri-du-Chat Syndrome Cytogenetically Cryptic Recombination Aneusomy of Chromosome 5: Implications in Recurrence Risk Estimation. *Mol Syndromol*. 1(2):95-98. 2010

Kosaki R, Fujita H, Ueoka K, Torii C, Kosaki K. Overgrowth of prenatal onset associated with submicroscopic 9q22.3 deletion. *Am J Med Genet A*. 155(4):903-5. 2011

Kosaki R, Fujita H, Takada H, Okada M, Torii C, Kosaki K Monozygotic twins of Rubinstein-Taybi syndrome discordant for glaucoma. Am J Med Genet A. 155A(5):1189-91. 2011

〔学会発表〕（計4件）

藤田秀樹 鳥居千春 緒方勤 小崎健次郎
小崎里華 : 当院で経験した未診断の発達遅滞・先天性多発奇形症例のアレイCGH解析胎第55回日本人類遺伝学会 2010

藤田秀樹 小崎里華 : 閉症患者検体を用いたアレイCGH解析による原因遺伝子の検討 第51回日本先天異常学会学術集会 2011. 7. 22

藤田秀樹 小崎里華 : G分染法で de novo 均衡型と診断されたてんかん・発達遅滞症例のアレイCGH解析 日本小児遺伝学会学術集会 2011. 8. 11

Kosaki R., Okuno N. Torii C. Kosaki, K. : Holoprosencephaly, ectrodactyly, and bilateral cleft lip-palate syndrome and Xq microduplication : A clue to understanding the genetic cause. American Society of Human Genetics, 2010

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小崎 里華 (KOSAKI RIKA)
独立行政法人 国立成育医療研究センター・器官病態系内科部遺伝診療科・医長
研究者番号：50234745

(2) 研究分担者

無し ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

無し ()

研究者番号：