

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20751

研究課題名（和文）大規模家系ゲノムデータ解析によるDenovo遺伝子変異の父年齢効果関連遺伝子座の同定

研究課題名（英文）Identification of loci associated with paternal age effects of de novo mutations by analysis of large family genomic data

研究代表者

水野 翔太（Mizuno, Shota）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・特別研究員

研究者番号：80962969

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、子のゲノムのみで検出される新規の遺伝子変異であるDe novo変異（DNM）に関する父年齢効果（PAE）のGWAS解析を実施した。研究期間中にSPARKコホート約3000家系についてDNMコールを実施し、常染色体上における平均59（SD±13）個のDNMを新たに同定した。データQC後の家系の父親について、約800万ヶ所のSNPを用いたPAEのGWASを実施し、弱い関連性（ $P < 1E-5$ ）を示すSNP95ヶ所を同定したが、ゲノムワイド有意水準（ $P < 5E-8$ ）を満たすSNPは得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

主に父親の生殖細胞での突然変異に由来するDNMは、集団における選択圧に影響されないことから、多様なヒト疾患で大きなリスクとなる。DNM数の父年齢依存的な増加には家系間での大きな差異が報告されているが、その要因は明らかとされていない。本研究が発展する事により、DNMの増減に関連する遺伝子座や関連する分子機構を明らかとされ、DNM発生リスクの推定やゲノム医療への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this project, we performed a genome-wide association study (GWAS) of the magnitude of paternal age effect (PAE) on de novo mutations (DNMs), genetic variants newly generated and detected only in the genome of the child. DNM calls were conducted by using data from approximately 3,000 families in the SPARK cohort during the project period, and a mean of 59 (SD ± 13) DNMs on autosomal chromosomes were identified. By using this dataset of DNM counts in children and the genotype data of approximately 8 million SNPs in fathers with appropriate data quality control, we performed a PAE GWAS and identified 95 SNPs that showed suggestive association ($P < 1E-5$), whereas no SNPs reached the genome-wide significance ($P < 5E-8$).

研究分野：ゲノム医科学

キーワード：父年齢効果 デノボ変異 GWAS ゲノム

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

De novo 変異 (DNM) は、子のゲノムからは検出されるが、両親のゲノムからは検出されない新規の遺伝子変異である。DNM は、基本的に集団における選択圧に影響されない遺伝的変異であることから、ASD やてんかんなど、多様なヒト疾患において大きなリスク要因となる事が報告されており、DNM の発生機構の詳細や発生頻度に影響を及ぼす要因の解明は重要な課題である (Acuna-Hidalgo et al., *Genome Biol.*, 2016)。主に DNМ は両親の生殖細胞における突然変異に由来するが、そのうち約 8 割は父親の精子由来である (Campbell and Eicher, *Trends Genet.* 2013)。この偏りの理由としては、卵子が各月経周期に減数分裂停止から脱出した卵母細胞の減数分裂によって生成されるのに対し、精子は約 16 日ごとに有糸分裂を行う精子幹細胞によって継続的に生成されるため、DNA 複製などの遺伝子に突然変異を生じる機会が多いためと考えられる。そのため精子由来の DNМ の数は父親の年齢依存的な増加が見られ、これは「父親年齢効果 (Paternal Age Effect; PAE)」として知られている (Risch et al., *Am J Hum Genet.*, 1987)。しかしながら、父親の年齢 1 年あたりの DNМ 数の増加は、1~3 個と家系間での差異が報告されており、PAE に影響を与える詳細な要因は明らかとなっていない (Acuna-Hidalgo et al., *Genome Biol.*, 2016)。

2. 研究の目的

本研究は PAE に影響を与える遺伝的要因を明らかとするため、(1) 大規模ゲノムデータベース SPARK (Simons Foundation Powering Autism Research) における家系 WGS データによる DNМ 解析と各父親における PAE の推定、(2) 父親の SNP データによる PAE のゲノムワイド関連解析 (GWAS) の 2 項目について研究を実施した。

3. 研究の方法

上述の 2 つの目的に対応する形式で以下に記載する。

(1) 家系 WGS データによる DNМ 解析と各父親における PAE の推定

本研究では、ASD 研究コンソーシアムである SFARI (Simons Foundation Autism Research Initiative) により運用されるデータベース SPARK を使用した。SPARK は ASD 患者と両親および健常者兄弟のゲノムデータを収集・公開を行っており、2 人以上の子供を持つ数千家系について Whole-genome sequence (WGS) データならびに一塩基変異 (SNP) アレイデータが登録されている (SPARK Consortium, *Neuron.*, 2018)。SPARK の各家系の WGS データについて、GATK best practice (Broad Institute) に従い、variant call を行い、Variant Quality Score Recalibration (VQSR) による Quality Check (QC) を実施した。QC をパスした variant について、TrioDeNovo を使用し、各家系での DNМ の検出を行った (Wei et al., *Bioinformatics.*, 2015; Werling et al., *Nat Genet.*, 2018)。その後、2 人の子供を持つ家系 (quad family) について、子の出生日の差から出生時の父年齢の差を計算し、2 人の子がそれぞれ保持する DNМ 数の差に基づいて線形回帰分析を行った。計算された線分の傾きを父親の PAE として推定し、以降の解析に使用した。

(2) 父親の SNP データによる PAE のゲノムワイド関連解析 (GWAS)

各父親の推定 PAE 値を表現型とした GWAS 解析を実施した。父親の genotype について、研究開始時は、SNP アレイデータを使用することを想定していたが、SPARK で使用された SNP アレイがエクソーム領域のみを対象としたものであったため、ゲノム上の網羅性を向上させる目的で、GATK により variant call された WGS 由来の genotype 情報を使用した。GWAS 解析では、SPARK の人種背景情報に基づき、最大割合を占めるヨーロッパ人種のみを対象とした層別化を行った。解析は plink により実施され、Genotype のフィルターとして genotype call rate 98%以上、minor allele frequency 0.01%以上、ハーディワインベルグ平衡 p 値 1.0×10^{-6} 以下を適用し、共変量として第一子出産時の父年齢、母年齢、第一子と第二子との年齢差、SPARK における解析バッチ、genotype の主成分分析の上位 10 成分を含めた。さらに、同一の解析パイプラインを Simons Foundation の過去のゲノムデータベースである SSC (Simons Simplex Complex) のヨーロッパ人種について実施し、GWAS 解析ならびに SPARK と SSC の inverse-variance weighted meta-analysis を METAL によって実施した。

4. 研究成果

(1) 家系 WGS データによる DNМ 解析と各父親における PAE の推定

これまでに SPARK batch4 までのデータ取得を行い、variant call ならびに DNМ の検出を実施した。各家系の子から常染色体上における平均 59 (SD ± 13) 個の DNМ 情報を新規に取得した。本結果をもとに、PAE の推定を行った結果、ヨーロッパ人種における PAE は全体として 1 年あたり 1.3 (SD ± 6.0) 個であった。

(2) 父親の SNP データによる PAE のゲノムワイド関連解析 (GWAS)

SPARK のヨーロッパ系家系の父親について、PAE の GWAS 解析を実施した。その結果、弱い関連性 ($P=1E-5$) を満たすマーカー SNP を 95 ヶ所同定したが、ゲノムワイド有意水準 ($P=5E-8$) を満たすマーカー SNP は得られなかった (図 A)。また、SSC についても同一パイプラインで解析を実施したが、弱い関連性を満たすマーカー SNP を 40 ヶ所同定したが、ゲノムワイド有意水準を満たすマーカー SNP は得られなかった (図 B)。この SPARK と SSC の GWAS 要約統計量を用いて逆分散メタ分析を実施した。その結果、弱い関連性を満たすマーカー SNP を 80 ヶ所同定したが、ゲノムワイド有意水準を満たすマーカー SNP は得られなかった (図 C)。

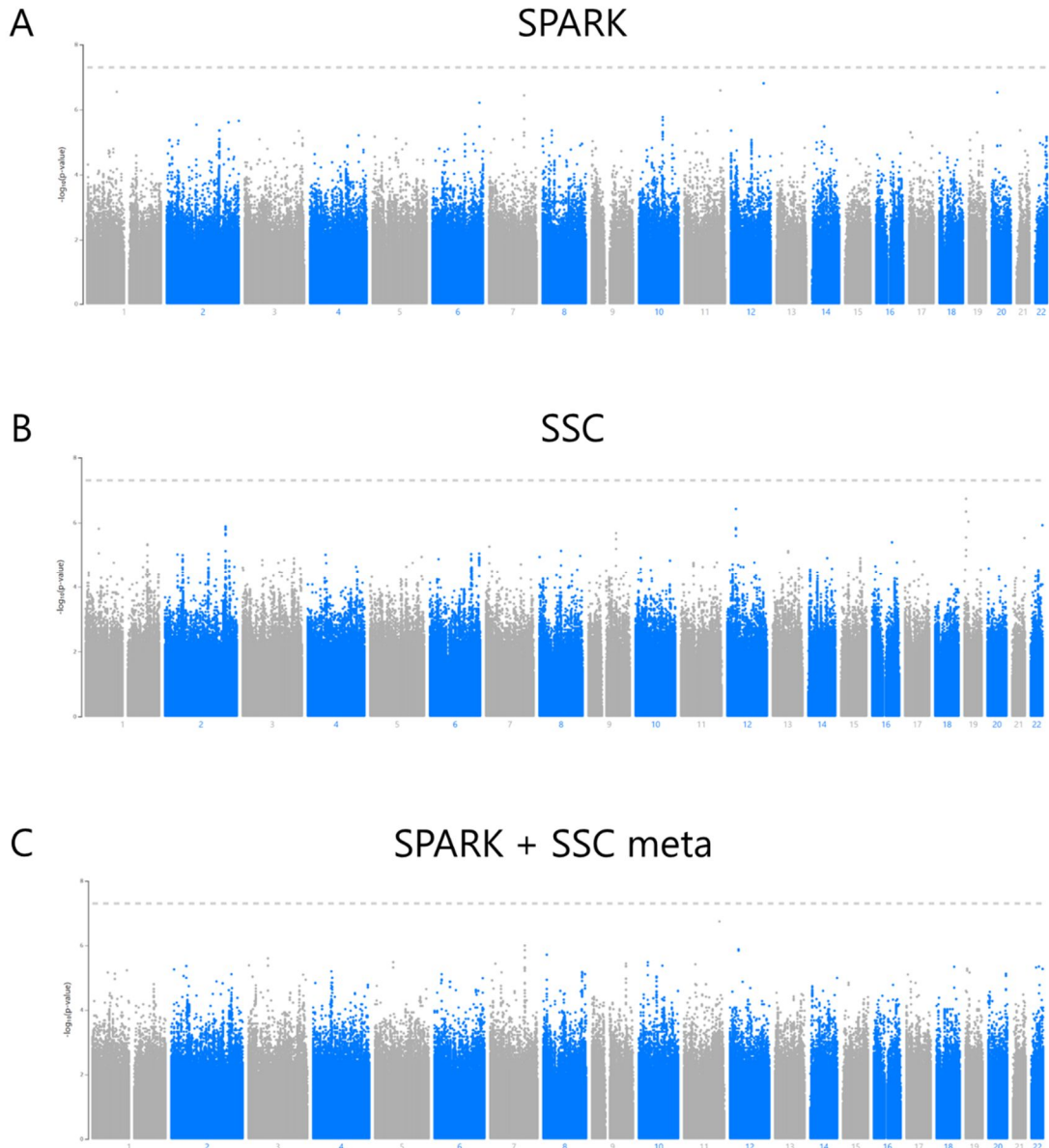


図 PAE のゲノムワイド関連解析結果 : (A) SPARK のヨーロッパ系家系における GWAS 結果。variant QC 後の 8,025,794 ヶ所の SNP を対象に解析し、 $P=1E-5$ を満たすマーカー SNP 95 ヶ所が同定された。(B) SSC のヨーロッパ系家系における GWAS 結果。variant QC 後の 8,145,201 ヶ所の SNP を対象に解析し、 $P=1E-5$ を満たすマーカー SNP 40 ヶ所が同定された。(C) SPARK と SSC の GWAS 要約統計量によるメタ解析結果。合計 8,591,159 ヶ所 (内非共通 SNP は 1,011,323 ヶ所) の SNP を対象に解析し、 $P=1E-5$ を満たすマーカー SNP 80 ヶ所が同定された。灰色の点線はゲノムワイド有意水準 ($P=5E-8$) を示す。

(3) その他の関連する研究成果

本研究で同定された DNM を使用した関連研究として、自閉スペクトラム症とプロモーター領域における DNM の関連性について、クロマチン 3 次元構造 (TAD) の情報に基づいた解析を実施し、特定の TAD におけるプロモーター領域の疾患リスクを明らかとした。本研究成果について、論文を投稿した (Nakamura, Ueda, Mizuno et al., Cell Genomics 2024)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakamura Takumi, Ueda Junko, Mizuno Shota, Honda Kurara, Kazuno An-a, Yamamoto Hirona, Hara Tomonori, Takata Atsushi	4. 巻 4
2. 論文標題 Topologically associating domains define the impact of de novo promoter variants on autism spectrum disorder risk	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Genomics	6. 最初と最後の頁 100488 ~ 100488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xgen.2024.100488	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Mizuno S., Nakamura T., Ueda J., Honda K., Kazuno A. A., Yamamoto H., Hata T., & Takata A.
2. 発表標題 Topologically associating domains define the impact of de novo promoter variants on autism spectrum disorder risk
3. 学会等名 Human Genetics Asia 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 水野翔太、中村匠、上田順子、本田久楽々、数野安亜、山本明那、原伯徳、高田篤
2. 発表標題 自閉スペクトラム症におけるプロモーター領域de novo変異はクロマチン3次元構造を介した遺伝子制御によって疾患リスクに寄与する
3. 学会等名 第45回日本生物学的精神医学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mizuno S., Nakamura T., Ueda J., Honda K., Kazuno A. A., Yamamoto H., Hata T., & Takata A.
2. 発表標題 Topologically associating domains define the impact of de novo promoter variants on autism spectrum disorder risk
3. 学会等名 The 52nd Annual Meeting of Society for Neuroscience（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Mizuno S.
2. 発表標題 De novo promoter variants contribute to autism spectrum disorder risk through topologically associating domains
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of Japanese Neuroscience Society
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------