

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390288

研究課題名(和文)脳画像解析とCNV解析の融合による孤発性自閉症と家族性自閉症の病態解明

研究課題名(英文)Clarification of pathophysiology of autism related to single-incidence family and multiple-incidence families by combining brain imaging study and CNV analysis study

研究代表者

中村 和彦 (NAKAMURA, KAZUHIKO)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80263911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：自閉症のトリオ203家系のうち191家系が孤発性、12家系が家族性であった。それらに対してCNV解析を行ったところ全部で7305か所のCNVが見つかった。その中の3728か所が遺伝子に影響を与え、89.6%が両親からの継代であった。継代しない新規のCNVは17か所であった。この部位には、神経発達や維持に関する様々な遺伝子が存在した。今まで報告されているSHNK3も含まれた。CNV解析により新規の自閉症関連遺伝子を見つけた。

研究成果の概要(英文)：Among the 203 trio autism families, 191 were simplex, while the remaining 12 were multiplex. The samples were analyzed using Affymetrix Genome-Wide Human SNP Nsp/Sty 6.0 microarray. Among a total of 7305 CNVs detected in affected children after all QC corrections, 3728 were found to be affecting genes. 89.6% of these were confirmed to be inherited from parents. Among the remaining 378 CNVs, 17 novel/ultra-rare de novo events were identified. Novel deletions were observed in genes involved in neurodevelopmental pathways such as SHANK3 et al..

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 精神神経科学

キーワード：児童・思春期精神医学

1. 研究開始当初の背景

自閉症の研究において自閉症疾患群のサブタイプ検討が必要である。自閉症は遺伝的にも表現型も heterogeneity と考えられている。そして自閉症の主なものは multiple-incidence families : 家族性 (家系内発症) ではなく single-incidence families : 孤発例 (特異性) と考えられ、遺伝形式が異なると報告されている (Am J Psychiatry Constantino et al.)

そして興味深いことは、最近の研究で、自閉症の患者の両親または兄弟を正常群と比較したところ、自閉症と同様の眼球運動の異常が認められた (Arch Gen Psychiatry.2010;67:830-840)。さらに自閉症と正常群、自閉症の罹患していない兄弟と正常群を比較したところ、兄弟についても自閉症と同様に MRI (テンサー画像) によって、白質の様々な部位に fractional anisotropy (線維走行の係数) の低下 (異常) が認められた (Arch Gen Psychiatry.2010;67:1052-1060)。つまり、孤発例において家族内や家系で自閉症と関連する phenotype (自閉症の症状はない) が存在している。残念ながら上記の研究は家族性と孤発例を区別して検討していない。この研究では初めて家族性と孤発例を区別して検討を行う。

2. 研究の目的

自閉症概念が広がり臨床医学的には概念が広がることで、当事者について早期に自閉症スペクトラムが診断され、早期支援が受けられるようになり利益となる。しかしながら、疾患の原因を明確にするためには研究上、疾患群が細分化される必要がある。現在は自閉症の症状のみで自閉症と診断されているが、自閉症群には様々なサブタイプが存在すると考えられる。我々は画像研究や臨床遺伝学的研究を施行することで、自閉症のサブタイプ (孤発性と家族性) を明確化し、病態解明することを、今回の目的とする。

3. 研究の方法

我々は、より正確な検定ができ集団の構造化の影響を受けない家族内相関解析 (Transmission disequilibrium test : TDT) (父、母、本人のサンプル) のため日本人の自閉症 DNA サンプル、約 200 家系をすでに収集した。この研究では自閉症家系について、父、母、本人の CNV 解析を行う。そして家族系代する特徴的な重要な CNV を明らかにする。手法は Affymetrix GenomeWide Human SNP 6.0 Array を使って CNV 解析を行う。解析方法はより精度の高い PennCNV 解析を行う。明らかになった CNV か所についてはサンガー法によって validation を行う。

4. 研究成果

(1) まずは日本人の自閉症 DNA サンプル 108 家系について、父、母、本人の CNV 解析を行った。そして特徴的な重要な CNV を明らかにした。父母から継代した CNV は 3321 個で、内訳は父からは 1331 個、母からは 1242 個、

両親からは 748 個である。新規の CNV は 437 個であった。継代した CNV のうち遺伝子を含むものは 1678 個でそのうち deletion は 879 個 (52.4%) であり、新規 CNV のうち遺伝子を含むものは 231 個で、そのうち deletion は 172 個 (74.5%) であった。新規 CNV は 437 に対して、Total After Quality Control を行うと 410 個になり、centromere と telomere を除外すると 231 個になり、遺伝子を含んでいるものは 140 個となり、highly confident の解析をすると 124 個になり、エクソンを含む部位は 18 個となり、新規 CNV 領域は 18 ケ所と同定できた。染色体の位置は、Ch. 1 が 2 ケ所、Ch. 6 が 3 ケ所、Ch. 7 が 1 ケ所、Ch. 8 が 2 ケ所、Ch. 9 が 1 ケ所、Ch. 11 が 2 ケ所、Ch. 12 が 1 ケ所、Ch. 14 が 1 ケ所、Ch. 17 が 3 ケ所、Ch. 19 が 1 ケ所、Ch. 22 が 1 ケ所であった。それらの部位には多くの遺伝子が存在し、機能のわかっている遺伝子は 15 個であった。

(2) さらに 203 家系を増やして解析を行い、自閉症のトリオ 203 家系のうち 191 家系が孤発性、12 家系が家族性であった。それらに対して CNV 解析を行ったところ全部で 7305 か所の CNV が見つかった。その中の 3728 か所が遺伝子に影響を与え、89.6% が両親からの継代であった。継代しない新規の CNV は 17 か所であった。この部位には、神経発達や維持に関する様々な遺伝子が存在した。今まで報告されている SHNK3 も含まれた。我々は CNV 解析により新規の自閉症関連遺伝子を見つけた。

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 17 件)

1. Zinc finger protein 804A (ZNF804A) and verbal deficits in individuals with autism. Anitha A, Thanseem I, Nakamura K, Vasu MM, Yamada K, Ueki T, Iwayama Y, Toyota T, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Suzuki K, Sugiyama T, Tsuji M, Yoshikawa T, Mori N. J Psychiatry Neurosci. 2014;39:130126. PMID: 24866414 (査読有)

2. N-ethylmaleimide-sensitive factor interacts with the serotonin transporter and modulates its trafficking: implications for pathophysiology in autism. Iwata K, Matsuzaki H, Tachibana T, Ohno K, Yoshimura S, Takamura H, Yamada K, Matsuzaki S, Nakamura K, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Tsuji M, Sugiyama T, Katayama T, Mori N. Mol Autism. 2014 10;5:33. PMID: 24834316 (査読有)

3. Serum levels of soluble platelet endothelial cell adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 are decreased in subjects with autism spectrum disorder. Kameno Y, Iwata K, Matsuzaki H, Miyachi T, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Iwata Y, Suzuki K, Nakamura K, Maekawa M, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. *Mol Autism*. 2013 17;4:19. PMID: 23773279 (査読有)
4. Enzymes in the glutamate-glutamine cycle in the anterior cingulate cortex in postmortem brain of subjects with autism. Shimmura C, Suzuki K, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Ohno K, Matsuzaki H, Iwata K, Kameno Y, Takahashi T, Wakuda T, Nakamura K, Hashimoto K, Mori N. *Mol Autism*. 2013 26;4:6. PMID: 23531457(査読有)
5. Microglial activation in young adults with autism spectrum disorder. Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Nakamura K, Futatsubashi M, Takebayashi K, Yoshihara Y, Omata K, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. *JAMA Psychiatry*. 2013 ;70:49-58. PMID: 23404112 (査読有)
6. Brain region-specific altered expression and association of mitochondria-related genes in autism. Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Matsuzaki H, Miyachi T, Yamada S, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Iwata Y, Suzuki K, Ichikawa H, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. *Mol Autism*. 2012 1;3:12. PMID: 23116158 (査読有)
7. Vldlr overexpression causes hyperactivity in rats. Iwata K, Izumo N, Matsuzaki H, Manabe T, Ishibashi Y, Ichitani Y, Yamada K, Thanseem I, Anitha A, Vasu MM, Shimmura C, Wakuda T, Kameno Y, Takahashi T, Iwata Y, Suzuki K, Nakamura K, Mori N. *Mol Autism*. 2012;3:11. PMID: 23110844 (査読有)
8. Downregulation of the expression of mitochondrial electron transport complex genes in autism brains. Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, Matsuzaki H, Miyachi T, Tsujii M, Iwata Y, Suzuki K, Sugiyama T, Mori N. *Brain Pathol*. 2013;23:294-302. PMID: 23088660 (査読有)
9. Protocadherin α (PCDHA) as a novel susceptibility gene for autism. Anitha A, Thanseem I, Nakamura K, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Iwata Y, Suzuki K, Sugiyama T, Tsujii M, Yoshikawa T, Mori N. *J Psychiatry Neurosci*. 2013 ;38:192-8. PMID: 23031252 (査読有)
10. Elevated transcription factor specificity protein 1 in autistic brains alters the expression of autism candidate genes. Thanseem I, Anitha A, Nakamura K, Suda S, Iwata K, Matsuzaki H, Ohtsubo M, Ueki T, Katayama T, Iwata Y, Suzuki K, Minoshima S, Mori N. *Biol Psychiatry*. 2012;71:410-8. PMID: 22030357 (査読有)
11. Investigation of the serum levels of anterior pituitary hormones in male children with autism. Iwata K, Matsuzaki H, Miyachi T, Shimmura C, Suda S, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Suzuki K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Sugiyama T, Sato K, Mori N. *Mol Autism*. 2011;2:16. PMID: 22011527 (査読有)
12. Alteration of plasma glutamate and glutamine levels in children with high-functioning autism. Shimmura C, Suda S, Tsuchiya KJ, Hashimoto K, Ohno K, Matsuzaki H, Iwata K, Matsumoto K, Wakuda T, Kameno Y, Suzuki K, Tsujii M, Nakamura K, Takei N, Mori N. *PLoS One*. 2011;6:e25340. PMID: 21998651 (査読有)
13. Association of transcription factor gene LMX1B with autism. Thanseem I, Nakamura K, Anitha A, Suda S, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Tsujii M, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. *PLoS One*. 2011;6:e23738. PMID: 21901133 (査読有)
14. Decreased expression of axon-guidance receptors in the anterior cingulate cortex in autism. Suda S, Iwata K, Shimmura C, Kameno Y, Anitha A, Thanseem I, Nakamura K, Matsuzaki H, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Iwata Y, Suzuki K, Koizumi K, Higashida H, Takei N, Mori N. *Mol Autism*. 2011;2:14. PMID: 21859478 (査読有)
15. Plasma cytokine profiles in subjects with high-functioning autism spectrum disorders. Suzuki K, Matsuzaki H, Iwata K, Kameno Y, Shimmura C, Kawai S, Yoshihara Y, Wakuda T, Takebayashi K, Takagai S, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. *PLoS One*. 2011;6:e20470. PMID: 21647375 (査読有)

16. Reduced acetylcholinesterase activity in the fusiform gyrus in adults with autism spectrum disorders. Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Nakamura K, Tsuji M, Futatsubashi M, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Takebayashi K, Wakuda T, Yoshihara Y, Suda S, Kikuchi M, Takei N, Sugiyama T, Irie T, Mori N. Arch Gen Psychiatry. 2011 ;68:306-13.PMID: 21383265 (査読有)

17. Replication study of Japanese cohorts supports the role of STX1A in autism susceptibility. Nakamura K, Iwata Y, Anitha A, Miyachi T, Toyota T, Yamada S, Tsuji M, Tsuchiya KJ, Iwayama Y, Yamada K, Hattori E, Matsuzaki H, Matsumoto K, Suzuki K, Suda S, Takebayashi K, Takei N, Ichikawa H, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.2011;35(2):454-8.PMID:2111870 (査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Nakamura K, Suzuki K, Ouchi Y, Tsuji M, Sugihara G, Iwata Y, Matsumoto K, Takebayashi K, Wakuda T, Sugiyama T, Yoshihara Y, Mori N, Microglial activation in adults with Autism Spectrum Disorders, 11th Annual International Meeting For Autism Research, 2012.May17-19,Toronto

2. Yoshihara Y, Sugihara G, Ishizuka A, Yogo H, Nakamura K, Sugiyama T, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Suzuki K, Takei N, Tsuji M, Mori N, Glutamate dysfunction in the basal ganglia of Autism Spectrum Disorders:an MRS study, 11th Annual International Meeting For Autism Research, 2012.May17-19,Toronto

3. Nakamura K, Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Tsuji M, Sugihara Y, Iwata Y, Matsumoto K, Takebayashi K, Wakuda T, Yoshihara Y, Suda S, Kikuchi M, Takei N, Sugiyama T, Mori N, Reduced Acetylcholinesterase Activity In the Fusiform Gyrus In Adults Spectrum Disorders, 10th Annual International Meeting For Autism Research, 2011.May12-14,San Diego

4. 中村和彦. 自閉症の生物学的研究について (PET 他). 第 16 回グリア研究会. 平成 23 年 10 月 22 日.名古屋

5. 中村和彦. 自閉症の生物学的研究について: PET 画像研究他. 第 52 回日本児童青年精神医学会総会. 平成 23 年 11 月 10 日~12 日・徳島

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 和彦(NAKAMURA KAZUHIKO)

弘前大学医学研究科・教授

研究者番号: 80263911

(2)研究分担者

尾内 康臣(OUCHI YASUOMI)

浜松医科大学・学内共同利用施設等・教授

研究者番号: 40436978

辻井 正次(TSUZII MASATSUGU)

中京大学・現代社会学部・教授

研究者番号: 20257546

岩田 泰秀(IWATA YASUhide)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 10285025

鈴木 勝昭(SUZUKI KATSUAKI)

浜松医科大学・学内共同利用施設等・准教授

研究者番号: 00285040

森 則夫(MORI NORIO)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号: 00174376

竹林 淳和 (TAKEBAYASHI KIYOKAZU)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 50397428