

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591700

研究課題名(和文) 自閉症におけるミトコンドリア機能異常の分子機構解明

研究課題名(英文) Investigation on mitochondrial dysfunction in autism.

研究代表者

Anitha A (Ayyappan, Anitha)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・助教

研究者番号：70377753

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア機能障害は、自閉症スペクトラム障害を持つ子どもの約5パーセントに認められる。ミトコンドリアの機能が障害されると、神経発達のような高度にエネルギー依存的な生体プロセスが損なわれる可能性があり、したがって、自閉症の発症に寄与している可能性がある。そこで、本研究では、多様なミトコンドリア機能に関連する遺伝子の発現解析と関連解析を含む詳細な分析を行った。その結果、複数の遺伝子が自閉症の死後脳で部位特異的な発現変化を示すことが明らかとなり、関連解析の結果もこれを支持していた。本研究の結果から、ミトコンドリアの機能調整にかかわる遺伝子群が自閉症の新たな感受性遺伝子であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial dysfunction (MtD) has been observed in approximately five percent of children with autism spectrum disorders (ASD). MtD could impair highly energy-dependent processes such as neurodevelopment, thereby contributing to autism. In this study, we carried out detailed analyses involving gene expression and genetic association studies of genes related to diverse mitochondrial functions. As a result, several genes showed brain region-specific expression alterations in subjects with autism compared to controls. MTX2, NEFL and SLC25A27 showed consistently reduced expression in the anterior cingulate gyrus, motor cortex and thalamus of autism subjects. NEFL and SLC25A27 showed genetic association with autism in Caucasian and Japanese samples, respectively. The expression of DNAJC19, DNM1L, LRPPRC, SLC25A12, SLC25A14, SLC25A24 and TOMM20 were reduced in at least two of the brain regions of autism patients. Our study brings to light new genes associated with MtD in autism.

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：児童精神医学 死後脳研究

## 1. 研究開始当初の背景

自閉症の生化学的・脳画像学的研究から、脳のエネルギー代謝が自閉症の病態基盤の一部に存在することが示唆される。例えば、磁気共鳴スペクトル法により脳内代謝物を測定した研究によれば、自閉症の脳内ではエネルギー代謝に関与する N-アセチルアスパラギン酸とリン酸化クレアチンが減少し、嫌気性代謝の産物である乳酸が増加している。ミトコンドリアは細胞内の重要なエネルギー産生源であり、ATP のほとんどはミトコンドリアが供給している。したがって、ミトコンドリアの機能異常が自閉症の脳内エネルギー代謝の異常に関与していることが推測される。事実、自閉症の死後脳では ATP 濃度が有意に低下しているという。また、ミトコンドリアの機能異常をもつラットは自閉症類似の行動異常を示す。自閉症の遺伝学的研究においても、ミトコンドリア遺伝子の精査は主要なテーマである。最近のメタ解析によれば、自閉症者の少なくとも 5% にミトコンドリア機能異常が観察されるという。しかし、ミトコンドリアの機能に関するタンパク質の機能に関する研究はほとんどなく、その詳細は不明であった。

## 2. 研究の目的

そこで、本研究では、ミトコンドリアの機能修飾にあずかる様々な関連遺伝子について、自閉症との関連を明らかにすることとした。そのために、自閉症死後脳、および、自閉症当事者とその両親（トリオ）の DNA サンプルを用い、ミトコンドリア関連遺伝子の発現解析と関連解析を行った。

## 3. 研究の方法

### 自閉症死後脳における発現解析

Autism Tissue Project (米国) より、自閉症者の死後脳 (8 例) および健常対照者の死後脳 (13 例) を譲り受け、ミトコンドリア機能

に関連する 84 遺伝子についてアレイ解析を行った。

### ミトコンドリア遺伝子の変異解析

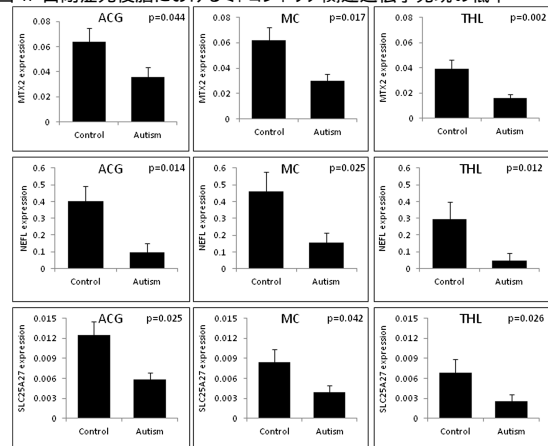
死後脳における発現解析において異常が認められた遺伝子を疾患関連分子候補とし、自閉症トリオ DNA サンプルを用いて危険因子となる一塩基遺伝子多型を検索するとともに、突然変異スクリーニングを行った。サンプルは Autism Genetic Resource Exchange (米国) から得たコーカサス系人種の DNA トリオサンプル (854 家族) および我々が収集した日本人の DNA トリオサンプル (250 家族) を用いた。

## 4. 研究成果

### 自閉症死後脳における発現解析

Metaxin 2 (MTX2)、neurofilament light polypeptide (NEFL)、および、solute carrier family 25 member 27 (SLC25A27) は、自閉症死後脳の前部帯状回、運動領皮質、視床で一貫して有意な発現低下を示した (図 1)。

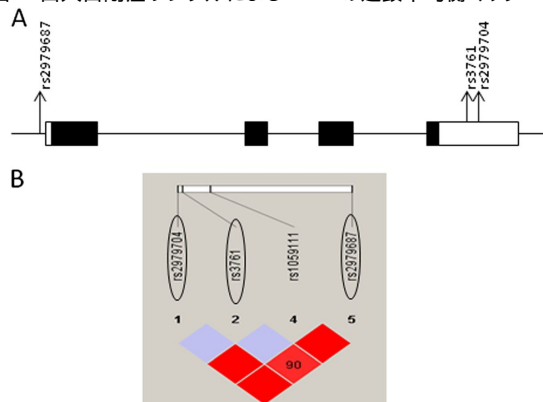
図 1. 自閉症死後脳におけるミトコンドリア関連遺伝子発現の低下



### ミトコンドリア遺伝子の変異解析

NEFL の SNP は、白人自閉症者の DNA サンプルを用いた関連解析において、自閉症との有意な関連が認められた (図 2)。一方、日本人の DNA サンプルを用いた関連解析においては、NEFL はそうではなかったが、SLC25A27 の SNP に有意な関連が認められた。

図2. 白人自閉症サンプルによる NEFL の連鎖不均衡マップ



以上から、ミトコンドリア機能の関連遺伝子は自閉症感受性遺伝子であることが初めて示された。これらの結果、および、関連する知見は英文学術誌に公表された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, et al. (2012) Brain region-specific altered expression and association of mitochondria-related genes in autism. *Mol Autism*. 3:12.
2. Anitha A, Nakamura K, Thanseem I, Matsuzaki H, et al. (2013) Downregulation of the expression of mitochondrial electron transport complex genes in autism brains. *Brain Pathol* 23: 294-302.
3. Anitha A, Thanseem I, Nakamura K, et al. (2013) Protocadherin-alpha (PCDHA) as a novel susceptibility gene for autism. *J Psychiatry Neurosci*. 38:192-198.
4. Anitha A, Thanseem I, Nakamura K, et al. (2014) Zinc finger protein 804A (ZNF804A) and verbal deficits in autism. *J Psychiatry Neurosci*. 39(4):130-126.

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Anitha A. Zinc Finger Protein 804A (ZNF804A) and Verbal Deficits in Autism. the 21<sup>st</sup> World Congress of Psychiatric

Genetics (October 17-21, 2013, Boston, USA).

2. Anitha A. Zinc Finger Protein 804A (ZNF804A) and Verbal Deficits in Autism. the 40th Annual Meeting of the Japan Brain Science Society (Sep. 28-29, 2013, Hamamatsu, Japan)
3. Anitha A. Downregulation of the Expression of Mitochondrial Electron Transport Complex Genes in Autism Brain. the 20<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society for Gene Diagnosis and Therapy (July 18-20, 2013, Hamamatsu, Japan)
4. Anitha A. Protocadherin alpha (PCDHA) as a Novel Susceptibility Gene for Autism. the 36<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (June 20-23, 2013, Kyoto, Japan)
5. Anitha A. Strong Genetic Evidence of Protocadherin-alpha (PCDHA) as a Susceptibility Gene for Autism. The 20th World Congress of Psychiatric Genetics (Oct. 14-18, 2012, Hamburg, Germany)

〔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〕

なし

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

アニータ・アヤッパン (Anitha Ayyappan)

浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任助教

研究者番号 : 70377753

(2)研究分担者

イスマール・タンシーム (Ismail Thanseem)

浜松医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：60569846

岩田圭子 (Iwata Keiko)

福井大学・子どもこころの発達研究センター・特命助教

研究者番号：30415088

松崎秀夫 (Matsuzaki Hideo)

福井大学・子どもこころの発達研究センター・教授

研究者番号：00334970

中村和彦 (Nakamura Kazuhiko)

弘前大学・医学部・教授

研究者番号：80263911