

## 平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

## 1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名		脳科学研究戦略推進プログラム
研究開発課題名		発達障害に至る分子基盤の解明
機関名		公立大学法人横浜市立大学
研究開発	所属 役職	医学研究科 教授
担当者	氏名	松本 直通

## 2. 研究開発成果の内容

## ①発達障害の原因遺伝子探索

## レット様症候群

レット様症候群の症状を示し、既知責任遺伝子に変異を認めない 47 家系 50 名を集積した。全エクソーム解析を 47 家系 50 名で施行し、うち 20 家系でトリオ解析を施行した。てんかんや発達障害を呈する関連疾患の原因遺伝子に異常を認める症例は 18 例であった。トリオ解析において、26 家系で 30 の *de novo* コールを認めた。既知の疾患遺伝子 13 個と疾患と関連の深い 4 遺伝子の異常が 22 家系で同定された (46.8%)。

## ASD

平成 27 年度 3 月までに、250 トリオで全エクソーム解析を行った。症例の内訳は公立大学法人横浜市立大学経由 37 トリオ、大阪府立母子保健総合医療センター経由 24 トリオ、国立大学法人浜松医科大学 (国立大学法人弘前大学) 経由 40 トリオ、国立大学法人名古屋大学経由 130 トリオ、国立大学法人大阪大学経由 19 トリオである。トリオ解析の利点を活かして、イントロン-エクソンのジャンクション±5bp 内の 665 個の *de novo* 変異候補を抽出した (17 個のナンセンス変異、337 個のミスセンス変異、233 個の同義置換、20 個のフレームシフト変異、4 個のインフレーム変異、20 個の 5'-/3'-UTR 変異、34 個のスプライス部位)。この内、同義置換、5'-/3'-UTR 変異以外の変異を認めた 348 個の遺伝子を Ingenuity Pathways Analysis (IPA) software を用いてパスウェイ解析したところ、124 個の遺伝子が機能的に関連するパスウェイに属することが判明した (メジャーパスウェイ)。それ以外の 6 遺伝子 (2 遺伝子×3 クラスター) は、124 個の機能関連遺伝子群とは異なるパスウェイに属していた。平成 27 年度 4 月以降に ASD を計 185 症例 (うちトリオ 116 例、症例のみ 69 例) 集積し、103 トリオの *exome* 解析が終了した。

レット様症候群と ASD はいずれも多様な発達障害関連遺伝子の変異が少数の症例 (1~3 例程度) で寄与していることが明らかとなった。

## ②マイクロドロプレット技術による多数並行 PCR 産物の次世代シーケンス法の確立

ASD との関連が報告された 327 個の遺伝子を対象に、平成 27 年度までに ASD 患者 388 例に対して解析を進めた。検出された 3915 個の variant について、in-house の日本人健常コントロール 429 例のエキソームデータで同じ遺伝子の変異の有無を検索、比較検討した。統計解析には collapsing method と aggregation method を用いた。統計学的に有意に ASD に効果の高い variant の蓄積を認める遺伝子は aggregation method を用いた場合 2 個(MLL3, SYNE1)となり、ASD 疾患関連候補遺伝子のさらなる絞込みに成功した。collapsing method からは有意な variant の蓄積を示す遺伝子は認められなかった。また、日本人健常コントロール 575 人およびデータベース(ESP6500, HGVD)に登録のない truncation mutation をともなう変異を持つ患者は 63 人 (16%) で 42 遺伝子に 50 個あった。一方 in-house の日本人健常コントロール 429 例には、ASD 患者になく日本人健常コントロール 575 人およびデータベースで 1%未満の頻度で見られる rare truncation mutation をもつのは 35 人(8%) で 25 遺伝子に 29 個あった。カイ 2 乗検定では両者の間に有意な分布の差が見られ ASD 群に多く認めた。(OR 2.18,  $p < 0.001$ )。

### ③プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、グループ内及びグループ間の会議開催等、各参画機関との連携・調整・情報共有に務めた。プロジェクト全体の進捗状況の確認と合理化を検討し、プロジェクトの推進に務めた。プロジェクトで得られた成果については、積極的に公表に努めた。