

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	脳神経科学領域 精神・神経分子科学教育研究分野 氏名 坂本 由唯
(論文題目) Copy number variations in Japanese children with autism spectrum disorder (日本の自閉スペクトラム症児におけるコピー数多型)	
(内容の要旨) 背景 自閉スペクトラム症 (Autism spectrum disorder : ASD) は神経発達障害で、社会性やコミュニケーションの障害、こだわり、限定的な興味関心などが特徴である。ASD の病因には遺伝要因と環境要因の両者が複雑に関与しているとされているが未解明である。双生児研究によると ASD 発症の一致率は一卵性で 60～92%、二卵性で 0～10% であることなどから、ASD の病因の約 50～60% は遺伝要因に起因すると考えられており、遺伝要因は ASD 発症に大きな影響を与えるといえる。 ASD の発症には、コピー数多型 (Copy number variations: CNV) や一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism : SNP) などのゲノム変異が関与するとされている。過去の報告によると、ASD 症例でゲノム変異が認められるのは 0～54% (平均 7.4%) であった。ASD 関連遺伝子のデータベースである SFARI GENE には、1089 種の遺伝子と 2170 種の CNV が登録されている。CNV は 1 kilobase (kb) から数 megabase (Mb) の DNA の重複 (duplication) や欠失 (deletion) を伴うゲノム構造変異である。代表的な ASD 関連 CNV は 15q11-q13 duplication で ASD 患者の 1～3% で認められる。 ASD 患者は世界中にいるにもかかわらず、CNV 研究の多くは欧米人を対象としている。CNV の人種差を報告した研究もあることから、我々は日本人における ASD 関連 CNV が欧米人とは異なる可能性があると考え研究を行った。 方法 弘前大学大学院医学研究科倫理委員会の承認を得て本研究を実施した。対象者は 2013 年から 2016 年の間に弘前市 5 歳児発達健診の二次健診に参加した 559 人からリクルートした。ASD 群 68 人 (男児 45 人、女児 23 人、平均月齢 65.1 ± 3.1)、対照群 124 人 (男児 62 人、女児 62 人、平均月齢 65.0 ± 3.0) を解析対象とした。末梢血から DNA を抽出したのち、吸光度を測定し、 A_{260}/A_{280} 比が 1.8～2.0 を満たすサンプルを解析対象とした。DNA の精製度や断片化の有無を確認後、Genome-Wide Human SNP Array 6.0 キットを用いて DNA マイクロアレイを行った。一次解析にて Quality control > 0.4 かつ Median of the Absolute values of all Pairwise Differences < 0.4 を満たしたサンプルを Penn CNV で解析し、コピー数 (CN) = 2 を正常、 $CN \geq 3$ を重複、 $CN \leq 1$ を欠失とした。1 kbp より大きい CNV 領域を解析対象とし、CNV の平均数と平均サイズを算出した。統計はカイ二乗検定と Fisher の正確確率検定を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。 結果 5 歳児健診からリクルートしたため ASD 群と対照群との間に有意な年齢差は認められなかった。知的障害の併存率は ASD 群で有意に高かった (33.8% vs 15.3%、 $\chi^2 = 8.79588$ 、 $P = 0.0056$)。平均 CNV 数は ASD 群とコントロール群との間に有意差はなかった。ASD に関連する CNV として、12p11.1 欠失、4q13.2 重複、8p23.1 重複、18q12.3 重複が検出された ($P = 0.015$ 、0.024、0.009、0.004。オッズ比 = 2.91、3.11、6.15、8.13)。最もオッズ比が高かったのは 18q12.3 重複の 8.13 であった。ASD 群における 12p11.1 欠失、4q13.2 重複、8p23.1 重複、18q12.3 重複の平均サイズは、それぞれ	

れ 5,621 bp、67,503 bp、487,020 bp、5,322 bp で、これらはすべて微小欠失または微小重複であった。

考察 本研究では、日本の 5 歳児における ASD 関連 CNV として、12p11.1 欠失、4q13.2 重複、8p23.1 重複、18q12.3 重複の 4 つが検出された。これらの CNV はサイトバンドレベルでは欧米の報告と一致していたが、詳細な位置やサイズは一致していなかった。ENCODE at UCSC で CNV 領域に含まれる遺伝子を確認すると、4q13.2 重複と 8p23.1 重複領域は複数の遺伝子を含んでいたが、既知の ASD 関連遺伝子は含まれていなかった。ただし、本研究はサンプルサイズが少ないこと、知的障害や注意欠如・多動症など他の発達障害の合併による影響を排除できていないこと等を考慮する必要がある。

結論 本研究は日本の 5 歳児における ASD 関連 CNV として 12p11.1 欠失、4q13.2 重複、8p23.1 重複、18q12.3 重複という 4 つの CNV を検出した。これらの CNV は日本人 ASD 児において特徴的なものである可能性があり、日本人 ASD 患者が欧米人とは異なる CNV を保有している可能性を示唆した。