

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	井上 絵美子
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 753 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Resequencing and association analysis of CLN8 with autism spectrum disorder in a Japanese population. (自閉スペクトラム症における CLN8 遺伝子のリシークエンスおよび関連解析)
論文審査委員	主査 教授 那波 宏之 副査 教授 池内 健 副査 教授 染矢 俊幸

博士論文の要旨

【背景と目的】自閉スペクトラム症 (Autism Spectrum Disorder; ASD) は、社会的コミュニケーションの欠陥、限定され反復的な行動や興味の様式などの特徴をもつ神経発達障害である。ASD は遺伝要因と環境要因が相互に影響して発症に至る多因子疾患であり、その大部分は頻度の高いリスク多型に起因すると推定されているが、個々のリスク多型が ASD の発症に与える影響は小さい。ASD の病態解明につながる分子基盤を得るには、頻度は稀だが相対危険度の高い変異を同定することが重要と考えられる。近年では全エクソーム解析が実施されるようになり、稀なリスク変異が同定されるようになってきた。

申請者らは、ASD 罹患同胞がそれぞれ 3 人いる 2 家系の全エクソーム解析により、ASD の候補リスク遺伝子として ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8 (CLN8) 遺伝子を同定した。すなわち、家系#2 では、CLN8 遺伝子の稀なミスセンス変異 (R24H) が罹患患者である父から罹患患者である 3 人の子に伝達し、ASD との共分離を認めた。そこで、CLN8 遺伝子が ASD の発症脆弱性に関与している可能性を検証することを目的として、リシークエンスと関連解析を行った。

【方法】本研究は新潟大学および名古屋大学の医学部遺伝子倫理審査委員会により承認されており、ヘルシンキ宣言に則って行われた。全ての対象者およびその家族から書面にて研究参加の同意を得た。対象者は全て日本人である。ASD (自閉性障害、アスペルガー障害、特定不能の広汎性発達障害) の診断は精神疾患の診断・統計マニュアル第 4 版 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth edition: DSM-IV) の基準に従って行った。

ASD 罹患患者 256 人について CLN8 遺伝子コード領域をリシークエンスした。これにより同定されたアレル頻度 0.01 未満の稀な非同義変異について、リシークエンスした 256 人を含む新潟サンプル (症例 256・対照 667) と名古屋サンプル (症例 312・対照 352) を用いて関連解析を行った。遺伝子型判定には TaqMan 法を用いた。

【結果】ASD 罹患患者 256 人のリシークエンスにより、CLN8 遺伝子のコード領域に 5 つの稀な非同義変異、すなわち、g.1719291G>A (R24H)、rs201670636 (F39L)、rs116605307 (R97H)、rs143701028 (T108M)、

rs138581191 (N152S) を同定した。これらの変異を新潟サンプルでタイピングしたところ、対照群に比し患者群で高い変異アレル頻度を示したが、ASD との有意な関連を認めなかった。さらに、名古屋サンプルでこれらの変異をタイピングしたところ、F39L と R97H は対照群に比し患者群で高い変異アレル頻度を示したが、ASD との有意な関連を認めなかった。新潟サンプルと名古屋サンプルを合わせた患者 568 人と対照者 1017 人でタイピングしたところ、5 つの変異全てが対照群に比し患者群で高い変異アレル頻度を示したが、ASD との有意な関連は認められなかった。

【考察】本研究では、CLN8 遺伝子に 5 つの稀な非同義変異を同定したが、ASD との有意な関連を認めず、CLN8 遺伝子が ASD の発症脆弱性に関与しているという証拠は得られなかった。

CLN8 の機能はよく分かっていないが、CLN8 遺伝子の稀なホモ接合変異が、知的障害、てんかん、視力障害などを呈する進行性神経変性疾患である神経セロイドリポフスチン症を惹き起こすことが知られている。今回の研究で同定された 5 つの非同義変異はいずれもヘテロ接合変異であり、変異保有者に神経セロイドリポフスチン症の既往歴および家族歴は認められなかった。一方で、CLN8 遺伝子を含む 8p23.2-pter における欠失が、自閉症、てんかん、重度知的障害をもつ男児で同定された報告があり、CLN8 遺伝子が ASD の発症脆弱性に関与している可能性が示唆されている。

本研究のサンプル数は患者 568 人と対照者 1017 人であるが、5 つの非同義変異のアレル頻度が対照群で 0-0.0010 と非常に低いため、これらの変異と ASD との関連を同定するためには検出力が十分ではなかった可能性がある。今後はより多くの施設との共同研究を行うことで、検出力の向上をはかる必要がある。

【結論】本研究では CLN8 遺伝子の稀な非同義変異が ASD の発症脆弱性に寄与している可能性は支持されなかった。

審査結果の要旨

申請者らは自閉スペクトラム症 (ASD) の遺伝要因を解明する目的で、ASD 2 家系の全エクソーム解析を実施し、ASD の候補リスク遺伝子として ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8 (CLN8) 遺伝子を同定した。そこで申請者は CLN8 遺伝子が ASD の発症脆弱性に関与している可能性を検討するため、リシークエンスと得られた変異の関連解析を行った。

申請者は遺伝子倫理規定に基づき ASD 罹患者 256 人について CLN8 遺伝子コード領域をリシークエンスしたことで、稀な非同義変異 5 つを見出している。新潟サンプル DNA (症例 256・対照 667) と名古屋サンプル DNA (症例 312・対照 352) を用いて TaqMan 法を用いその変異の ASD 関連性を判定した。結果、当該変異率の絶対値は ASD 患者群で高値であったものの、統計学的には ASD との関連を認めなかった。

残念ながら ASD 罹患者群で同定された変異が稀すぎたため、用いたサンプル数では検出力不足になって、関連性についての確証を得るには至らなかった。しかし CLN8 遺伝子のホモ接合変異は知的障害などを伴う神経セロイドリポフスチン症を引き起こすことが報告されている。そこで申請者は今後も ASD 発症における CLN8 遺伝子の役割や関連を探索する意義を提示している。

このように本研究を通して孤発性 ASD 患者のゲノムの中に CLN8 遺伝子の稀な非同義変異を見出し、関連遺伝子候補としての可能性を示したことに、博士論文としての価値を認める。