

201027100A

厚生労働科学研究費補助金  
障害者対策総合研究事業

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 松本 直通

(横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学・教授)

平成23(2011)年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告	
超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究 ----- 松本直通 (資料) 研究全体の流れと進行状況	1
II. 分担研究報告	
1. 自閉症における <i>SHANK3</i> 異常症例の臨床的検討 ----- 岡本伸彦	11
2. 広汎性発達障害関連遺伝子による病態解明研究 ----- 橋本亮太	15
3. 年齢依存性てんかん性脳症の遺伝型と臨床型の関連性の解明 加藤光広	23
4. クレアチン欠損症の簡便なスクリーニング法の開発 --- 小坂仁	27
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	31
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	35

平成22年度厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
総括研究報告書

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

主任研究者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科教授

Copy Number Variation (CNV)の発見によりヒト脳神経疾患ゲノム解析は新たな局面を迎えている。ほぼ同一の CNV が精神遅滞症候群やてんかんあるいは自閉症などの発達障害を含む多様なヒトの疾患を惹起していることが明らかになり、これら多様な疾患群の共通項が CNV (のみ) であるという新たな「genotype-first」の時代を迎えた。本研究は、先端技術を用いてこれらの発達期の様々な障害を対象に網羅的な解析を行い CNV の視点からこれらの疾患群を再定義し、CNV を利用した新たな効率的診断法と責任分子単離を行うことを目的とする。対象疾患は、ヒト発達障害の中でも重要な、自閉症、精神遅滞症候群、てんかん関連疾患とする。症例集積は順調に進行し自閉症は 110 例・精神遅滞関連症候群 330 例・てんかん関連症候群 260 例を集積し高解像度マイクロアレーを用いた CNV 解析は 200 例を超え、数多くの興味深い CNV の知見を得ることに成功している。これらの個々の症例の詳細な解析から疾患に関与する分子群の特定を行っていく予定である。本年度は三つの疾患の責任遺伝子の解明に成功した：髄鞘形成遅延を伴う West 症候群の原因遺伝子 *SPTAN1* (Am J Hum Genet, 2010)、精神遅滞を伴う小眼球四肢異常症候群の原因遺伝子 *SMOC1* (Am J Hum Genet, 2011)、Kabuki 症候群の *MLL2* である (Nat Genet, 2010)。

分担研究者

岡本伸彦・大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科・科長

橋本亮太・大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所  
附属子どものこころの分子統御機構研究センター/大阪大学大学院医学系研究科・精神医学・特任准教授

加藤光広・山形大学医学部発達生体防御学講座・小児医科学分野・講師

小坂仁・神奈川県立こども医療センター神経内科・科長/神奈川県立がんセンター臨床研究所

発達障害を含む多様なヒトの疾患を惹起していることが明らかになり、これら多様な疾患群の共通項が CNV (のみ) であるという新たな「genotype-first」の時代となっている。

本研究は、先端技術を用いてこれらの発達期の様々な障害を対象に網羅的な解析を行い CNV の視点からこれらの疾患群を再定義し、CNV を利用した新たな効率的診断法と責任分子単離を行うことを目的とする。研究代表・松本は、商業ベースで開発の進むオリゴ DNA アレーの全てのプラットフォームに対応したアレー解析機器を用いて (Affymetrix 社・Agilent 社・NimbleGen 社の全ての高解像度アレーに対応する最新鋭アレースキャナーを完備)、ヒト発達障害の中でも重要な自閉症、精神遅滞症候群、てんかん関連疾患に対して世界最高解像度の CNV 解析と塩基レベルでの解析を行い発達障害に関与する遺伝的効果の高い遺伝子を同定する。自閉症等で全ゲノムを対象にしたアレー解析は諸外国で解析が進みつ

A. 研究目的

Copy Number Variation (CNV)の発見によりヒト脳神経疾患ゲノム解析は新たな局面を迎えた。ほぼ同一の CNV が精神遅滞症候群やてんかんあるいは自閉症などの発

つあり、いくつかの分子群が明らかに成りつつあるが、本邦では CNV を解析対象としたまとまった研究はこれまで皆無でその実体解明は急務である。初年度は自閉症、精神遅滞症例、てんかん関連疾患を対象に200例程度の解析を既に行い、超細密レベルでの染色体異常カタログ作成と候補遺伝子探索を進めている。

## B. 研究方法

### ①症例の集積

各研究分担者および遺伝医学に関する独自のネットワーク・蔵王セミナー等で形成された小児神経臨床研究ネットワークを中心に、てんかん関連疾患・精神遅滞関連症候群ならび自閉症を広く集積する。末梢血の得られた検体は基本的にリンパ芽球株化を行いゲノムDNAと併に染色体が可能なプラットフォームを形成する。

### ②高密度アレーの比較検討

Affymetrix 社 Cytogenetics Array 2.7M (全ゲノムにわたって 270 万マーカーを搭載)、Agilent 社 1M/400K (全ゲノムにわたってそれぞれ 100 万/40 万マーカー搭載)、NimbleGen 社 2.1M/700K アレー (それぞれ 210 万/70 万マーカー搭載) を用いて CNV 検出の感度や精度等を比較検討する。まず Affymetrix 社の Cytogenetics array 2.7M を全例に、さらに Agilent 社か NimbleGen 社のアレーを用いて少なくとも 2 種類のアレーにおける結果を比較する。

### ③疾患責任遺伝子の単離

髄鞘化低形成を伴う West 症候群を呈する 9q 長腕欠失から責任遺伝子を特定する。精神遅滞を伴う四肢異常眼球低形成症候群家系を用いて遺伝的マッピングから責任遺伝子を単離する。精神発達遅滞症候群の一つである Kabuki 症候群の責任遺伝子を次世代シーケンサーを用いた全エクソン領域の解析により特定する。

## C. 研究結果

### ①症例の集積

症例集積は順調に進行し既に自閉症は110例・精神遅滞関連症候群330例・てんかん関連症候群260例を超えた。本年度に責任遺伝

子が明らかになった Kabuki 症候群も既に50例を超える集積状況である。

### ②高密度アレーの比較検討と CNV 検出

Affymetrix 社の Cytogenetics array 2.7M を primary platform として、疾患ゲノム解析を進めた。既に200例を超える症例の1次解析は終了した。高解像度であるため通常1例に於いて数十カ所の CNV および染色体微細構造異常候補領域を検出するため、それぞれを個別に CNV の真偽を検証していくことは物理的・費用的にも相当困難である。検証系の効率化・簡素化の目的で他のプラットフォームの高密度アレーを用いていわゆる double arrays による解析を進めた。この過程で各種商業プラットフォームの特性と解析上の注意点が明らかになった。Affymetrix 社の cytogenetics array 2.7M では、プローブ密度は現存アレーで最高レベルであるが、専用ソフトウェア (ChAS) の version up 後に測定値が不安定なプローブがかなり削除されているため実質 2.1 M 程度に解像度が減じていた。Agilent 社のプラットフォームは個人差の大きな CNV 領域はあらかじめプローブが設定されておらず CNV まで考慮した解析には不向きである。NimbleGen 社のプラットフォームはユニーク領域・CNV 領域共に比較的均一なプローブ設定がなされておりゲノムを均等にチェックするには都合がよい。以上のようなプラットフォーム特性を考慮しながら double array の異常重複部位を陽性とし、必要に応じて個別に FISH や定量 PCR による検証も追加し異常 CNV、染色体微細構造異常領域のカタログ作成が進行中で興味深い CNV 異常が多数検出されている。

### ③疾患責任遺伝子の単離

#### I. 髄鞘形成遅延を伴う West 症候群

髄鞘形成遅延を伴う West 症候群の女児症例において 9q33-q34 のおよそ 2 Mb の微細欠失を同定した。この欠失内に存在する *SPTANI* 遺伝子を候補遺伝子として、同様に髄鞘形成遅延を伴う West 症候群患者で遺伝子変異を調べたところ、2例で新生突然変異を認めた (図 1)。*SPTANI* は細胞構造の



維持と膜タンパクの局在化に関わることが知られている  $\alpha$ -II スペクトリンをコードし、同定された変異を有する  $\alpha$ -II スペクトリンと  $\beta$ -II スペクトリンとのヘテロダイマーは構造的に不安定で、症例のリンパ芽球内で凝集していた。更に、変異  $\alpha$ -II スペクトリンをマウス神経細胞に発現させたところ、神経細胞の軸索起始部におけるナトリウムチャンネルの集積が障害されていた (Am J Hum Genet, 2010)。

## II. 四肢異常を伴う小眼球症候群 (Microphthalmia with limb anomalies, MLA)

MLA は視神経の形成不全と小 (無) 眼球症に四肢 (手足の合指症や乏指症など) の異常を伴う常染色体劣性疾患である。通常精神発達遅滞を伴う。日本人家系 1 例、レバノン家系 1 例、トルコ家系 1 例を対象に、マイクロアレイによる全ゲノム SNP タイピングおよびマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を行い、3 家系 4 症例に共通する原因遺伝子候補領域を第 14 番染色体上に見出した。そして同領域に位置する *SMO1* 遺伝子のホモ接合性変異を、4 人の患者さん全てに同定した (図 2)。マウスに於いて *Smoc1* は形態形成期の眼や手足で発現していた。さらに、*Smoc1* 変異マウスでは、MLA 患者で特徴的な視神経の形成不全と小眼球症、および合指症や腓骨の低形成などの四肢形成異常が認められた。さらに、発生上重要である BMP シグナルの減少が、趾間部での細胞死の減少をもたらし、合指症を惹起することが強く示唆された (Am J Hum Genet, 2011)。

## III. Kabuki 症候群

米国ワシントン大学 (シアトル) との共同研究で、Kabuki 症候群の遺伝子単離に成功した。本症候群は歌舞伎役者様顔貌、精神遅滞、成長障害、心奇形、骨格奇形、免疫系障害等を特徴とする。これまで数多くのグループの積極的な調査にもかかわらず遺伝的原因は不明だった。本年度、次世代シーケンサーを利用した全エクソン解析を用いて結果、責任遺伝子である *MLL2* の単離にようやく成功した (Nat Genet, 2010)。本研究は次世代シーケンサーの高出力を利用

して解決した点で画期的である。その後さらに、50 例を超える本邦症例の集積が進み遺伝学的解析が進行中である。

## D. 考察

小児期の重篤なてんかん症候群として位置づけられる West 症候群の原因遺伝子の一つ *SPTANI* の単離に成功した。この遺伝子は神経軸索起死部に発現する足場タンパク質の一つで Na チャンネルのクラスターリングに不可欠な分子である。症例で認められた *SPTANI* の in-frame 変異は  $\beta$  II スペクトリンや  $\beta$  III スペクトリンなどと共に異常凝集を引き起こしこのために Na チャンネルのクラスターリング異常と共に興奮性活動電位の挙動の異常が起こる可能性がある。このてんかん発症機序は従来知られてないてんかん発症のメカニズムである。

精神遅滞を伴う MLA の責任遺伝子 *SMO1* は目と四肢発生に不可欠の重要な分子である。マウスのホモ接合性異常モデルの解析により眼球発生と四肢発生異常はヒト MLA を忠実に再現しておりこの遺伝子は少なくともヒト・マウスでは発生上不可欠な遺伝子である。精神発達遅滞を惹起する機序は不明であるが、視覚異常による二次的影響の可能性もある。

比較的著名な疾患にもかかわらず遺伝学的原因解明が進んでいなかった Kabuki 症候群の責任遺伝子 *MLL2* が解明がついに解明された。今後は *MLL2* 変異の本邦症例の実態調査と遺伝型・表現型解析を積極的に進めていく予定である。

## E. 結論

CNV の観点からてんかん関連疾患・精神遅滞関連疾患・自閉症等を広く集積し高密度マイクロアレーを用いて解析し疾患関連・感受性遺伝子単離を行う目的で研究を進めた。症例集積・解析は順調で既に 700 例程度の貴重な症例群が集積しており、マイクロアレーの解析も 200 例を超えた。疾患責任遺伝子特定という観点でも本年度は三疾患で遺伝子の特定が成功しており研究初年度の進行具合は概ね順調である。

## F. 健康危険情報

本研究遂行上、健康危機に関わる問題は生

じていないが、その可能性・危険性等について把握した際には、迅速に対応していきたい。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Shiihara T, Maruyama K-i, Yamada Y, Nishimura A, Matsumoto N, Kato M, Sakazume S. A case of Baraitser-Winter syndrome with unusual brain MRI findings of pachygyria, subcortical band heterotopia and periventricular heterotopias. *Brain Dev* 32(6), 502-505, 2010.

Saitsu H, Tohyama J, Kumada T, Egawa K, Hamada K, Okada I, Mizuguchi T, Osaka H, Miyata R, Furukawa T, Haginoya K, Hoshino H, Goto T, Hachiya Y, Yamagata T, Saitoh S, Nagai T, Nishiyama K, Nishimura A, Miyake N, Komada M, Hayashi K, Hirai S, Ogata K, Kato M, Fukuda A, Matsumoto N. Dominant negative mutations in  $\alpha$ -II spectrin cause early onset West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *Am J Hum Genet* 86(6):881-889, 2010.

Saitsu H, Kato M, Okada I, Orii KE, Kondo N, Wada T, Hoshino H, Kubota M, Arai H, Tagawa T, Kimura S, Sudo A, Miyama S, Takami Y, Watanabe T, Nishimura A, Nishiyama K, Miyake N, Osaka H, Hayasaka K, Matsumoto N. *STXBPI* mutations in severe infantile epilepsies with suppression-burst pattern. *Epilepsia* 51(12): 2397-2405, 2010

Sakai H<sup>#</sup>, \*Yoshida K<sup>#</sup> (<sup>#</sup>denotes equal contribution), Shimizu Y, Morita H, Ikeda S-i, Matsumoto N. Analysis of an insertion mutation in a cohort of 93 patients with spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31) from Nagano, Japan. *Neurogenet* 11(4): 409-415, 2010

Osaka H, Yamamoto R, Hamanoue H, Nezu A, Sasaki M, Saitsu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K. Disrupted SOX10 regulation of GJC2 transcription

causes Pelizaeus-Merzbacher-Like Disease. *Ann Neurol* 68(2): 250-254, 2010

Nishimura A, Hiraki Y, Shimoda H, Tadaki H, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. *De novo* deletion of 1q24.3-q31.2 in a patient with severe growth retardation. *Am J Med Genet* 152A:1322-1325, 2010

Komoike Y, Fujii K, Nishimura A, Hiraki Y, Michiko, Hayashidani M, Shimojima K, Nishizawa T, Higashi K, Yasukawa K, Saitsu H, Miyake N, Mizuguchi M, Matsumoto N, Osawa M, Kohno Y, Higashinakagawa T, Yamamoto T. Zebrafish gene knockdowns imply roles for human *YWHAG* in infantile spasms and cardiomegaly. *Genesis* 48(4): 233-243, 2010.

Doi H, Koyano S, Miyatake S, Matsumoto N, Kameda T, Tomita A, Miyaji Y, Suzuki Y, Sawaishi Y, Kuroiwa Y. Siblings with the adult-onset slowly progressive type of pantothenate kinase-associated neurodegeneration and a novel mutation, Ile346Ser, in PANK2: Clinical features and (99m)Tc-ECD brain perfusion SPECT findings. *J Neurol Sci* 290 (1-2): 172-176, 2010.

Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki T, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N. Loss of decorin dermatan sulfate impairing collagen bundle formation in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. *Hum Mut* 31(8): 966-974, 2010

Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyamab M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N. A New Ehlers-Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital

- Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-related Manifestations. *Am J Med Genet* 152A (6): 1333-1346, 2010.
- Kimura S, Saitsu H, Blanka A, Schaumann BA, Shiota K, Matsumoto N, and Ishibashi M. Rudimentary Claws and Pigmented Nail-like Structures on the Distal Tips of the Digits of *Wnt7a* Mutant Mice: *Wnt7a* Suppresses Nail-like Structure Development in Mice. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 88(6):487-496, 2010
- Kanazawa K, Kumada S, Mitsuhiro K, Saitsu H, Kurihara E, Matsumoto N. Choreo-ballistic movements in a case carrying a missense mutation in syntaxin binding protein 1 gene. *Mov Disord* 25(13):2265-2267, 2010
- Ng S, Bigham A, Buckingham K, Hannibal M, McMillin M, Gildersleeve H, Beck A, Tabor H, Cooper G, Mefford H, Lee C, Turner E, Smith J, Rieder M, Yoshiura K, Matsumoto N, Ohta T, Niikawa N, Nickerson D, Bamshad M, Shendure J. Exome sequencing identifies *MLL2* mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nat Genet* 42(9): 790-793, 2010.
- Yamada-Okabe T, Imamura K, Kawaguchi N, Sakai H, Yamashita M, Matsumoto N. Functional characterization of the zebrafish *WHSC1*-related gene, a homologue of human *NSD2*. *Biochem Biophys Res Commun* 402(2): 335-339, 2010.
- Okada I<sup>#</sup>, Hamanoue H<sup>#</sup>, (# denotes equal contribution) Terada K, Tohma T, Megarbane A, Chouery E, Abou-Ghoch J, Jalkh N, Cogulu O, Ozkinay F, Horie K, Takeda J, Furuichi T, Ikegawa S, Kiyomi Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K-i, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, \*Matsumoto N, \*Saitsu H. *SMOCL1* is essential for ocular and limb development in humans and mice. *Am J Hum Genet* 88(1): 30-41, 2011
- Tohyama J, Kato M, N, Kawasaki S, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous *ZIC1* and *ZIC4* deletion: Report of a new patient. *Am J Med Genet* 155(1): 130-131, 2011
- Furuichi T, Dai J, Cho T-J, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Baynam G, Nagai T, Miyake N, Matsumoto N, Ohashi H, Unger S, Superti-Furga A, Kim O-H, Nishimura G, \*Ikegawa S. *CANT1* is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant. *J Med Genet* 48(1): 32-37, 2011
- Saitsu H, Hoshino H, Kato M, Nishiyama N, Okada I, Yoneda Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kubota M, Hayasaka K, Matsumoto N. Paternal mosaicism of a *STXBPI* mutation in Ohtahara syndrome. *Clin Genet* (in press)
- Yano S, Bagheri A, Watanabe Y, Moseley K, Nishimura A, Matsumoto N, Baskin B, Ray PN. Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with *GPC3* mutations. *Clin Genet* (in press)
- Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitsu H, Fukushima Y, Hirahara F, \*Matsumoto N. Breakpoint determination of X;autosomal balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet* (in press)

## 2. 学会発表

第9回東北出生前医学研究会 (1月30日於仙台)・松本直通「疾患遺伝子研究の新潮流」(特別講演)

An International Workshop on Translational Science: Clinical Use, Efficacy and Translation of Basic Discoveries (Feb 1 at Yokohama) Naomichi Matsumoto “Whole Genome Approach to the Epilepsy-Related Gene” (invited lecture)

第 19 回群馬遺伝子診療研究会 (2 月 23 日  
於群馬大学、前橋)・松本直通「年齢依存性  
てんかん性脳症の最近の話題」(特別講演)

平成 21 年度厚生労働科学研究費難治性疾  
患克服研究事業研究成果発表会 (3 月 12 日  
於学術情報センター、東京) 松本直通・年  
齢依存性てんかん性脳症の分子疫学と臨床  
像の解明

第 113 回日本小児科学会学術集会 (4 月 23  
日於岩手県民情報交流センター、盛岡)・シ  
ンポジウム「先天性疾患における最近の進  
歩：病態解明から遺伝子診断へ」・松本直通  
「染色体異常からの疾患遺伝子探索」(シ  
ンポジスト)

European Human Genetic Conference 2010・  
Naomichi Matsumoto, Akira Nishimura, Yoko  
Hiraki. De novo deletion of 1q24.3-q31.2 in a  
patient with severe growth retardation. (Poster  
presentation) (June 12-15, 2010 at Gothenburg,  
Sweden)

久留米大学 Pediatric Ground Rounds・松本直  
通「年齢依存性てんかん性脳症の新知見」  
(招待講演)(久留米大学医学部、7 月 16  
日)

BioJapan2010 アカデミックシーズ発表  
会・松本直通「デルマタン 4-O-硫酸基転移  
酵素-1 は新しいタイプのエーラス・ダンロ  
ス症候群を引き起こす」パシフィコ横浜、9  
月 30 日)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop,  
“A new era of genetic diseases” (organized by  
Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi  
Matsumoto) (National Research Center, Cairo,  
Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto  
“Microarray technologies: Highways to  
genomic aberrations” (invited lecture)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop,  
“A new era of genetic diseases” (organized by  
Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi  
Matsumoto) (National Research Center, Cairo,  
Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto  
“Isolation of the gene responsible for a new  
type of Ehlers-Danlos syndrome” (invited  
lecture)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop,  
“A new era of genetic diseases” (organized by  
Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi  
Matsumoto) (National Research Center, Cairo,  
Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto  
“Haploinsufficiency of *STXBPI* causes  
Ohtahara syndrome” (invited lecture)

The 4<sup>th</sup> Asian Chromosome Colloquium  
(Beijing, China, Oct 11-14) Naomichi  
Matsumoto “Identification of two  
epilepsy-related genes from a 2.25-Mb deletion  
in one patient.” (invited lecture)

日本人類遺伝学会第 55 回大会 (大宮、10  
月 30 日) 松本直通「疾患ゲノム解析：遺伝  
性疾患のエクソーム解析」(次世代シーケン  
サーを用いたヒト (疾患) ゲノム解析の現  
状セッション・シンポジスト・座長)

第 22 回 NIH 金曜会 (National Institute of  
Health, Bethesda, MD 11 月 5 日) Naomichi  
Matsumoto 「Identification of two genes  
responsible for age-dependent epileptic  
encephalopathy」(invited lecture)

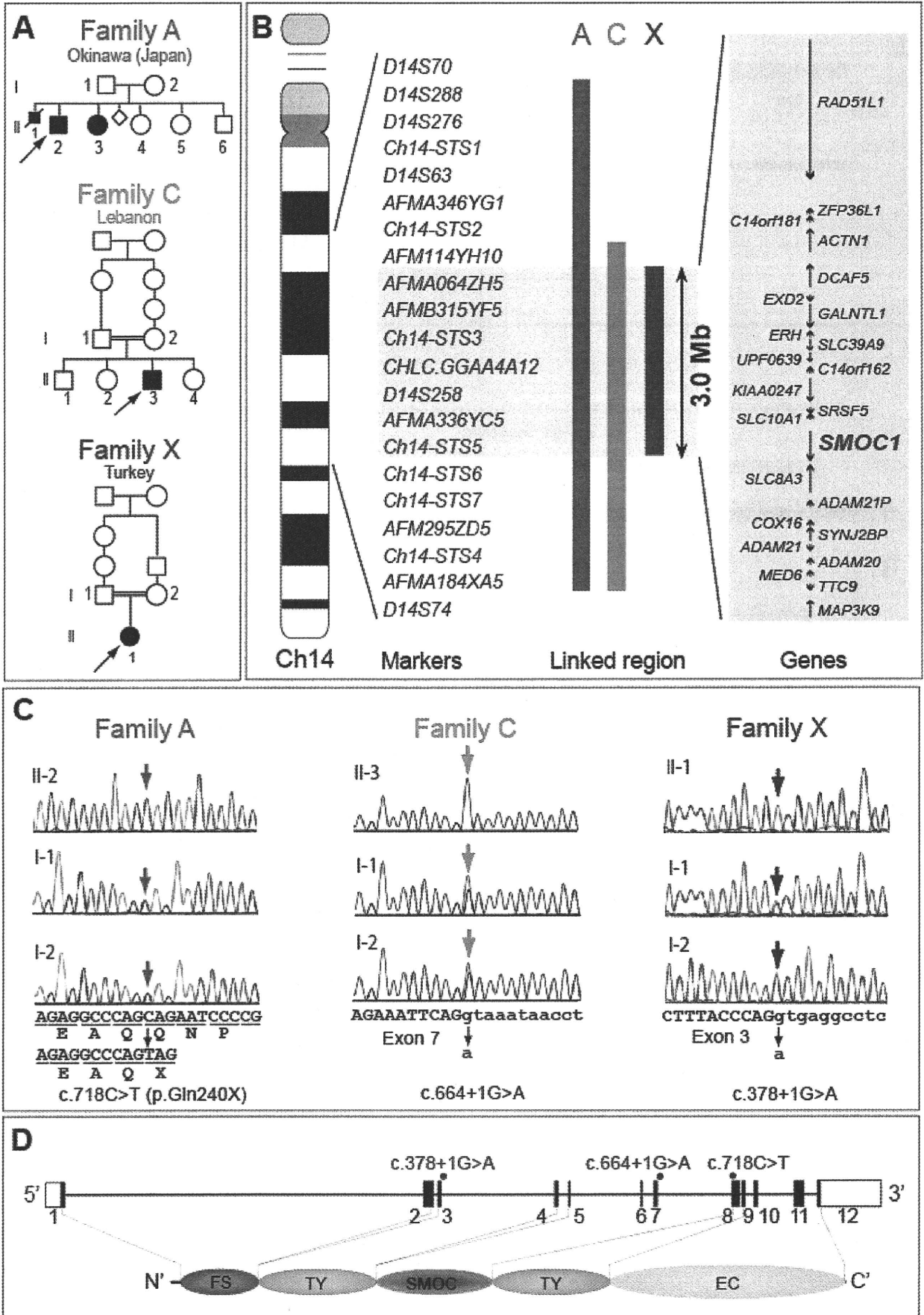
H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2010-106974・松本直通・Waardenburg  
無眼球症候群の検出方法・横浜市立大  
学・平成 22 年 5 月 7 日





図 2. 四肢異常を伴う眼球低形成症候群の責任遺伝子単離



岡本・大阪府立母子  
保健総合医療センター

橋本・大阪大学  
精神医学

加藤・山形大学  
小児科

小坂・神奈川県立  
こども医療センター

横浜市立大学医学部ゲノム研究倫理委員会の承認

横浜市立大学医学研究科環境分子医科学・松本

平成  
22年

A. 解析症例の集積：自閉症・精神遅滞症候群・てんかん関連疾患などの発達障害

B. **アフィメトリクス 2.7M**    **ニンプルゲン 2.1M**    **アジレント 1M**

世界最高レベルのアレー解析ファシリティーを用いた染色体微細構造異常解析

平成  
23年

C. **染色体FISH解析**    **リアルタイム定量PCR**    **超細密カスタムアレー**

複数の手法で検出された染色体微細構造異常解析を確認しさらに細密化する

平成  
24年

D. PCRとシーケンスによる染色体微細構造異常の塩基レベルでの構造決定

E. **染色体微細構造異常症候群の確立**    **疾患責任・関連遺伝子の特定**

F. **画期的診断法の確立**    **知的財産権の確保**    **新規バイオマーカーの確立**

現時点

症例集積と詳細な臨床情報収集

平成22年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
分担研究報告書

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

分担研究課題：自閉症における *SHANK3* 異常症例の臨床的検討

分担研究者 岡本伸彦 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科

研究要旨：*SHANK3* は、生後シナプス形成・成熟期に多く発現し、神経細胞の発達に重要なグルタミン酸受容体ファミリーのひとつである AMPA 受容体と相互作用する。自閉症の一部で *SHANK3* 異常が報告されている。一方、自閉症や精神遅滞を呈する 22q13.3 欠失症候群は *SHANK3* 遺伝子の欠失が関係する。*SHANK3* 遺伝子欠失を合併した 22q13.3 欠失例 7 例を臨床的に検討した。

#### A. 研究目的

自閉症(MIM 209850)は生後3年までに症状があきらかとなる発達障害である。国際疾病分類では広汎性発達障害 (PDD: pervasive developmental disorder) に大きく分類され、アスペルガー症候群も PDD に分類される。最近では自閉症スペクトラムという表現がよく用いられる。自閉症の3大症状は、①対人的相互関係の問題、②コミュニケーション能力の問題、③行動範囲や興味の限定である。自閉症は出生1000人中6人の罹患率で、アスペルガー症候群も含めると全出生の1%をしめる。自閉症の罹患率は男女で大きく異なり、4:1程度で男児が多い。自閉症の原因は後述するように遺伝因子が主であるが、それに環境因子も関与する。自閉症罹患率の増加の背景に、環境因子の関与を危惧する意見があるが、現状では未解明な点が多い。

自閉症の遺伝に関する論文は多数存在する。同胞で自閉症に罹患する率は5~10%で、一卵性双生児の一致率は90%に上る。家族内で自閉症と高機能自閉症が同時に存

在する場合もある。

自閉症は染色体異常症や先天異常症候群に伴う場合がある。他に単一遺伝子異常による非症候群性の自閉症が注目を集めている。*Neurexin*、*CNTNAP2*、*Neurologin*、*SHANK3*<sup>1) 2)</sup>、*SHANK2* などのシナプスを構成する分子群の異常が、自閉症に関与する。また、自閉症では、マイクロアレイ法で染色体の微細な欠失や重複 (CNV) が多数みつかることが注目されている。

*SHANK3* は、生後シナプス形成・成熟期に多く発現し、神経細胞の発達に重要なグルタミン酸受容体ファミリーのひとつである AMPA 受容体と相互作用する。自閉症で *SHANK3* 異常が報告されている。一方、自閉症や精神遅滞を呈する 22q13.3 欠失症候群<sup>3)</sup> は *SHANK3* 遺伝子の欠失が関係する。22q13.3 欠失例 7 例を臨床的に検討した。

#### B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター受診の自閉症例（知的障害合併例および高機能例から22q13欠失例を検討した。*SHANK3*遺伝

子のSH3、PDZ等重要領域を含む、FISH解析を行った。22q11.2欠失症候群のFISH診断では22q13に位置するARSEをコントロールプローブとして用いるが、これも応用した。

### C. 研究結果

22q13.3欠失症候群4例とring22症候群3例をみいだした。カルテの記載から臨床的考察を行った。

また自閉症128例においてSHANK3変異解析を行い、微細欠失、ミスセンス変異、イントロンのGC-rich領域に塩基の重複・欠失を認めたが、その病的意義は別途論文で報告した<sup>4)</sup> (共同研究共同研究者 国立精神・神経センター神経研究所代謝研究部 和賀央子、内野茂夫)。

【症例1】10歳男児。在胎39週2720gにて出生。両側停留精巣、尿道下裂を認めた。先天性喘鳴あり、喉頭軟化症で酸素投与を受けた。哺乳不良で鼻腔栄養を受けた。筋緊張は低く、運動発達は顕著に遅延した。10歳でも歩行は不安定。有意語はなく、重度精神発達遅滞。自閉症も合併した。脳波、頭部MRIに異常なし。痛覚鈍麻あり。足の趾は小さめで巻き爪あり。手は肉厚。耳介は低位で大きい。眼瞼下垂、眼瞼裂下斜あり。小顎。扁平足。G-bandで核型は46,XY,del(22)(q13.3)であった。FISH法でもARSAの領域の欠失を確認した。身長、体重はほぼ-1SDに沿っており頭囲は正常範囲)であった。てんかん発作あり、内服治療中。

【症例2】10歳女児。在胎39週2240gにて出生。ファロー4徴症、特徴的顔貌、骨髄異形成症候群、喉頭軟化症、左多嚢胞腎あり。G-bandとSKY法で異常はなかった。他院にてファロー4徴症で手術を受けた際22q11.2欠失のFISH法で偶然ARSA欠失を認めた。核

型は46,XY,del(22)(q13.3)である。筋緊張低下し、1歳で寝返り可であるが、座位は不可。重度精神運動発達遅滞である。体格はほぼ-2SDに沿い、頭囲は標準範囲であった。

【症例3】10歳女児。38週、2642gで出生。身長46.5cm、頭囲31cm。フロッピーインファントで精査となる。頸定1歳。顔面正中部低形成、小下顎、口角下垂、眼瞼下垂、大きな耳介、人中低形成、など特徴的顔貌、右水腎症、左多嚢胞腎を認めた。4歳で独歩可能となった。自閉症を伴う重度精神運動発達遅滞で有意語なし。身長体重はほぼ-2SDに沿い、頭囲は-1.3SDであった。G-分染法で異常なかったが、FISH法で22番染色体サブテロメア領域とARSAの欠失を認めた。

【症例4】7歳女児。40週2200gで出生。乳児期より発達遅滞あり、2歳で歩行開始。言語発達は顕著に遅れ、現在も有意語なし。自閉症の基準をみたした。7歳の身長117cm(-0.4SD)、体重19.2kg(-0.9SD)であった。染色体検査で46,XX,add(22)(q13.3)と判明した。頭部CT,MRI,脳波に特記すべき異常なし。内臓疾患の合併はなかった。新版K式発達テストで発達指数は30と重度精神遅滞であった。FISHの結果、SHANK3を含む欠失であった。

【症例5】9歳女児。39週3080gで出生。乳児期より発達遅滞あり、精査の結果、46,XXと46,XX,r(22)(p13q13)のモザイクで半々の割合であった。重度精神遅滞。3歳で歩行開始となるが、9歳時点で有意語なく、重度精神運動発達遅滞。対人関係、社会性の遅れも顕著で自閉症を合併していた。モザイクのため皮膚に伊藤白斑を認めた。

【症例6】9歳女児。在胎41週、胎児仮死



徴候あり、頭位自然分娩、出生体重2356g、身長46.5cm、頭囲32.4cmで出生。新生児期より低緊張、哺乳不良あり。1歳からてんかんあり。46,XY,r(22)(p13q13)。体重27.5cm (-0.3SD)、身長143.5cm (+2SD)、頭囲51cm (-0.6SD) 高口蓋あり、関節弛緩性あり。特異顔貌あり、有意語なく、重度精神遅滞。*SHANK3*を含む欠失と考えられた。

【症例7】6歳女児。38週2900gで出生。心室中隔欠損症、肺動脈閉鎖で手術を受けた。左先天性股関節脱臼を認めた。乳児期より発達遅滞あり、2歳半で歩行開始した。言語発達は顕著に遅れ、現在も有意語はない。重度精神運動発達遅滞であった。身長、体重、頭囲は-2SD近辺で推移した。染色体検査で46,XY,r(22)(p11.2q13)と判明した。

#### D. 考察

自閉症児において染色体異常を認める例は、数%から10%程度である。染色体異常例では、知的障害やてんかん、内臓疾患を伴う率がやや高くなる。外表奇形や特徴的顔貌を認める例では、G分染法が正常でも、FISHやマイクロアレイを用いた解析で異常が見つかる可能性がある。特に、母親由来の15q11-q13の領域の重複は自閉症との関連が注目されている。この領域は、プラダー・ウィリ症候群ないしアンジェルマン症候群で欠失する領域である。自閉症の1~3%で、母親由来の同領域が重複するか、過剰なマーカー染色体として存在する場合がある。

微細欠失症候群であるウィリアムズ症候群、22q11.2欠失症候群においても、自閉症合併例は一定数存在し、言語遅滞の顕著な場合は自閉症の合併を考慮する。ウィリアムズ症候群の責任領域(7q23)の重複例では、知的障害と自閉症を合併する。

興奮性シナプスの後シナプス部で重要な役割を持つ*SHANK3*遺伝子は22q13に座位がある。サブテロメア異常の代表疾患のひとつの22q13欠失症候群では*SHANK3*のハプロ不全による知的障害と自閉症を合併する。*SHANK3*異常は、自閉症の1%をしめるといわれている。22q13欠失症候群以外に、*SHANK3*遺伝子の多様な変異がみだされており、これらを総合すると重要な自閉症の責任遺伝子と考えることができる<sup>1)</sup> <sup>2)</sup>。なお、*SHANK3*重複は知的障害を呈するが自閉症は認めないことは以前報告した<sup>5)</sup>。

今回提示した7例はいずれも重度の精神運動発達遅滞に自閉症状を伴った。軽度の成長障害、先天性心疾患や腎疾患を合併するものもあった。リング染色体の場合もG-bandで異常を認めないような22q13端部欠失の場合も発達遅滞の程度に大きな差はなかった。これは*SHANK3*遺伝子がこの領域では特に重要であることを示唆する。

*SHANK3*は、生後シナプス形成・成熟期に多く発現し、神経細胞の発達に重要なグルタミン酸受容体ファミリーのひとつであるAMPA受容体と相互作用する。興奮性シナプスのPSD(post synaptic density)で重要な構成要素であり、scaffold protein(足場蛋白)と呼ばれている。シナプス異常が自閉症と関連が注目され、特に、Neurexin-Neurologin-SHANKの経路が重要視されている。しかし、シナプスに存在する蛋白質の種類は非常に多い。自閉症の責任遺伝子はさらに多数存在する可能性があり、個々の患者でどの遺伝子異常が主要因か決定するのは現状では容易ではない。また、単一の遺伝子異常があっても自閉症に

罹患するかどうかは、他の遺伝子の多型、エピジェネティックな変化や環境因子などの総合的な結果で決定されると考えられる。単一遺伝子病の自閉症も確かに存在するが、多因子ないし Oligogenic な疾患と考えるべきかもしれない。

#### E. 結論

*SHANK3* を含む 22q13 欠失の 6 例を報告した。重度知的障害と自閉症を合併する例が多かった。*SHANK3* 遺伝子は自閉症の原因として最も重要な遺伝子のひとつである。

#### 文献

- 1) Durand CM, Betancur C, Boeckers TM, Bockmann J, Chaste P, Fauchereau F, Nygren G, Rastam M, Gillberg IC, Anckarsäter H, Sponheim E, Goubran-Botros H, Delorme R, Chabane N, Mouren-Simeoni MC, de Mas P, Bieth E, Rogé B, Héron D, Burglen L, Gillberg C, Leboyer M, Bourgeron T. 2007. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein *SHANK3* are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* 39:25–27.
- 2) Moessner R, Marshall CR, Sutcliffe JS, Skaug J, Pinto D, Vincent J, Zwaigenbaum L, Fernandez B, Roberts W, Szatmari P, Scherer SW. 2007. Contribution of *SHANK3* mutations to autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 81:1289–1297.
- 3) Phelan MC, Rogers RC, Saul RA, Stapleton GA, Sweet K, McDermid H, Shaw SR, Claytor J, Willis J, Kelly DP. 22q13

deletion syndrome. *Am J Med Genet.*

2001;101:91-9.

- 4) Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto Y, Kohsaka S, Uchino S. Novel variants of the *SHANK3* gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatric Genetics* (in press)
- 5) Okamoto N, Kubota T, Nakamura Y, Murakami R, Nishikubo T, Tanaka I, Takahashi Y, Hayashi S, Imoto I, Inazawa J, Hosokai N, Kohsaka S, Uchino S. 22q13 Microduplication in two patients with common clinical manifestations: a recognizable syndrome? *Am J Med Genet A.* 2007;143A:2804-9.

F. 健康危険情報  
特になし。

G. 論文発表

Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto Y, Kohsaka S, Uchino S. Novel variants of the *SHANK3* gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatric Genetics* (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

平成22年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
分担研究報告書

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

分担研究課題：広汎性発達障害関連遺伝子による病態解明研究

研究分担者 橋本 亮太

大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所

附属子どものこころの分子統御機構研究センター 特任准教授

研究要旨

広汎性発達障害は、自閉性障害やアスペルガー障害などの自閉症スペクトラム障害を指し、環境因子と遺伝因子による多因子疾患と考えられている。広汎性発達障害の一卵性双生児の一致率は60～90%、遺伝率が90%とされており、統合失調症などの他の精神疾患と比較して、遺伝因子の関与が非常に大きい。今までに、いくつかの遺伝子が広汎性発達障害の原因遺伝子として報告されている。本研究では、広汎性発達障害関連遺伝子の発現レベルを35例の広汎性発達障害群と健常者群の不死化リンパ芽球において測定した。その結果、*SHANK3*と*NLG3*の発現レベルが低かった。この二つの遺伝子のmutationはloss of functionであるため、孤発例の広汎性発達障害においても発現が低下していることは、意義深いと思われる。今後、さらにサンプル数を拡大し、検討していきたいと考えている。

A. 研究目的

【目的】広汎性発達障害は、自閉性障害やアスペルガー障害などの自閉症スペクトラム障害を指し、環境因子と遺伝因子による多因子疾患と考えられている。広汎性発達障害の一卵性双生児の一致率は60～90%、遺伝率が90%とされており、統合失調症などの他の精神疾患と比較して、遺伝因子の関与が非常に大きい。これまでに、X染色体上にあるNeurologin3(*NLG3*)とNeurologin4(*NLG4*)遺伝子や、22番染色体上の*SHANK3*遺伝子が自閉症の原因遺伝子として報告された。今回我々は、広汎性発達障害者35例と健常発達者35例の末梢血より樹立した不死化リンパ芽球を用いて、これら3つの遺伝子のmRNAの発現量を比較検討した。

B. 研究方法

大阪大学医学部附属病院にて広汎性発達障害患者46例に加えて11例をリクルートした。健常者の研究参加に関しては、大阪大学医学部附属病院神経科精神科の関連スタッフや近隣のボランティアの協力を得て、昨年まで蓄積したデータに加えて90名をリクルートした。これらのサンプルのうちから、広汎性発達障害患者群35例(男：女=27:8, 平均年齢(±S.D.)=12.9(±12.4)才)と、性別をマッチさせた健常者群35例(男：女=26:9, 平均年齢(±S.D.)=34.8(±9.7)才)の末梢血より不死化リンパ芽球を樹立し、

real-time quantitative-PCR法を用いてmRNAを定量した。得られた結果をMann-WhitneyのU検定を用いて解析し、有意確率 $p < 0.001$ (両側)を有意とした。本研究は、大阪大学倫理審査委員会の承認に基づいて行われた。

(倫理面への配慮)

本研究は、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究である。試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行った。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報への厳重な管理(匿名化)などを徹底させた。また、遺伝子解析研究においては、大阪大学倫理審査委員会において承認を受けている。

本研究の説明を行う過程や試料等提供の過程で、強制的な態度や同意の強要をしないことはいくまでもない。試料提供の依頼を拒否したからといって、診療行為等に不合理または不公平なことが行われることは全くない。また、同意はいつでも文書によって撤回することができ、その場合、試料等は廃棄

される。治療中の患者様に関しては、試料提供を依頼することが主治医によって不適切であると判断された場合は、試料提供の依頼は行わない。強制入院（医療保護入院や措置入院）している患者様は対象から除外する。

### C. 研究結果

*SHANK3* と *NLG3* の mRNA は、広汎性発達障害患者群で健常発達群と比較して、有意に発現が低かった (*SHANK3* ;  $p < 0.4 \times 10^{-4}$ 、 *NLG3* ;  $p < 0.2 \times 10^{-3}$ )。 *NLG4* は測定感度以下で定量が不可能であった。

### D. 考察

今回の結果より、広汎性発達障害者の不死化リンパ芽球における、*NLG3* と *SHANK3* の mRNA の発現量の減少がその病態に関与している可能性が示唆された。今後さらに他の遺伝子についても同様の検討を行うとともに、今回 mRNA が減少していたサンプルについて、ミスセンス変異の同定などのより詳細な検証が必要であると考えられる。

### E. 結論

我々は、ヒト発達障害研究に不可欠な発達障害患者を精神医療現場で診療しつつ、研究への同意を取得し、研究参加していただくシステムの構築に成功している。そして、その血液サンプルより不死化した細胞を用いて広汎性発達障害関連遺伝子の発現異常を孤発性の広汎性発達障害において同定した。これらの結果は、新たな診断・治療法のシーズと考えられる。このように本研究は、医療行政上、大変有意義であり、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1) Hayashi N, Kazui H, Kamino K, Tokunaga H, Takaya M, Yokokoji M, Kimura R, Kito Y, Wada T, Nomura K, Sugiyama H, Yamamoto D, Yoshida T, Currais A, Soriano S, Hamasaki T, Yamamoto M, Yasuda Y, **Hashimoto R**, Tanimukai H, Tagami S, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Morihara T, Takeda M. KIBRA genetic polymorphism influences episodic memory in Alzheimer's disease, but does not show association

with disease in a Japanese cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 30(4):302-8, 2010.

2) Delawary M, Tezuka T, Kiyama Y, Yokoyama K, Inoue T, Hattori S, **Hashimoto R**, Umemori H, Manabe T, Yamamoto T, Nakazawa T. NMDAR2B tyrosine phosphorylation regulates anxiety-like behavior and CRF expression in the amygdala. *Mol Brain.*3(1):37, 2010.

3) Takeda M, Martínez R, Kudo T, Tanaka T, Okochi M, Tagami S, Morihara T, **Hashimoto R**, Cacabelos R. Apolipoprotein E and central nervous system disorders: reviews of clinical findings. *Psychiatry Clin Neurosci.* 64(6):592-607, 2010.

4) **Hashimoto R**, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Iwase M, Iike N, Azechi M, Ikezawa K, Takaya M, Takahashi H, Yamamori H, Okochi T, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Kazui H, Iwata N, Takeda M. The Impact of a Genome-Wide Supported Psychosis Variant in the *ZNF804A* Gene on Memory Function in Schizophrenia. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 153B(8):1459-64, 2010.

5) Yasuda Y, **Hashimoto R**, Ohi K, Fukumoto M, Takamura H, Iike N, Kiribayashi M, Yoshida T, Hayashi N, Takahashi H, Yamamori H, Morihara T, Tagami S, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Kamino K, Ishii R, Iwase M, Kazui H, Takeda M. Association study of *KIBRA* gene with memory performance in a Japanese population. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 11(7):852-7.2010.

6) Takebayashi M, **Hashimoto R**, Hisaoka K, Tsuchioka M, Kunugi H. Plasma levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in patients with major depressive disorders. *J Neural Transm.* 117(9):1119-22. 2010.9Mori K, Okochi M, Tagami S, Nakayama T, Yanagida K, Kodama T, Tatsumi S, Fujii K, Tanimukai H, **Hashimoto R**, Morihara T, Tanaka T, Kudo T,

- Funamoto S, Ihara Y, Takeda M. The production ratios of AICDe51 and A $\beta$ 42 by intramembrane proteolysis of  $\beta$ APP do not always change in parallel. *Psychogeriatrics*. 10(3):117-23, 2010.
- 8) Numata S, Nakataki M, Iga J, Tanahashi T, Nakadoi Y, Ohi K, **Hashimoto R**, Takeda M, Itakura M, Ueno S, Ohmori T. Association study between the pericentrin (PCNT) gene and schizophrenia. *NeuroMolecular Medicine*, 12(3):243-7. 2010
- 9) Takahashi H, Iwase M, Canuet L, Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Iike N, Nakahachi T, Ikezawa K, Azechi M, Kurimoto R, Ishii R, Yoshida T, Kazui H, **Hashimoto R**, Takeda M. Relationship between prepulse inhibition of acoustic startle response and schizotypy in healthy Japanese subjects. *Psychophysiology*, 47(5):831-7. 2010
- 10) Koide T, Aleksic B, Ito Y, Usui H, Yoshimi A, Inada T, Suzuki M, **Hashimoto R**, Takeda M, Iwata N, Ozaki N. A two-stage case-control association study of the dihydropyrimidinase-like 2 gene (DPYSL2) with schizophrenia in Japanese subjects. *J Hum Genet*. 55(7):469-72. 2010
- 11) Takeda M, **Hashimoto R**, Kudo T, Okochi M, Tagami S, Morihara T, Sadick G, Tanaka T. Laughter and humor as complementary and alternative medicines to dementia patients. *BMC Complement Altern Med*. 10(1):28, 2010.
- 12) Schulze T, Alda M, Adli M, Akula N, Ardaur R, Chillotti C, Cichon S, Czerni P, Zompo M, SDeTera-Wadleigh S, Grof P, Gruber O, **Hashimoto R**, Hauser J, Hoban R, Iwata N, Kassem L, Kato T, Kittel-Schneider S, Kliwicky S, Kelsoe J, Kusumi I, Laje G, Leckband S, Manchia M, MacQueen G, Masui T, Ozaki N, Perlis R, Pfennig A, Piccardi P, Richardson S, Rouleau G, Reif A, Rybakowski J, Sasse J, Schumacher J, Severino G, Smoller J, Squassina A, Turecki G, Young T, Yoshikawa T, Bauer M, McMahon F. The International Consortium on Lithium Genetics (ConLiGen): An Initiative by the NIMH and IGSLI to Study the Genetic Basis of Response to Lithium Treatment, *Neuropsychobiology*, 62(1):72-78, 2010.
- 13) **Hashimoto R**, Fukuda S, Ohi K, Yamaguti K, Nakatomi Y, Yasuda Y, Kamino K, Takeda M, Tajima S, Kuratsune H, Nishizawa Y, Watanabe Y. A functional polymorphism in the disrupted-in schizophrenia 1 gene is associated with chronic fatigue syndrome. *Life Sci*, 86(19-20):722-725, 2010.
- 14) Munesue T, Yokoyama S, Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Hayashi K, Asaka T, Liu HX, Jin D, Koizumi K, Islam MS, Huang JJ, Ma WJ, Kim UH, Kim SJ, Park K, Kim D, Kikuchi M, Ono Y, Nakatani H, Suda S, Miyachi T, Hirai H, Salmina A, Pichugina YA, Soumarokov AA, Takei N, Mori N, Tsujii M, Sugiyama T, Yagi K, Yamagishi M, Sasaki T, Yamasue H, Kato N, **Hashimoto R**, Taniike M, Hayashi Y, Hamada J, Suzuki S, Ooi A, Noda M, Kamiyama Y, Kido MA, Lopatina O, Hashii M, Amina S, Malavasi F, Huang EJ, Zhang J, Shimizu N, Yoshikawa T, Matsushima A, Minabe Y, Higashida H. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res*, 67:181-191, 2010.
- 15) Amagane H, Watanabe Y, Kaneko N, Nunokawa A, Muratake T, Ishiguro H, Arinami T, Ujike H, Inada T, Iwata N, Kunugi H, Sasaki T, **Hashimoto R**, Itokawa M, Ozaki N, Someya T. Failure to find an association between myosin heavy chain 9, non-muscle (MYH9) and schizophrenia: a three-stage case-control association study. *Schizophr Res*, 118(1-3):106-12, 2010.
- 16) Ohnuma T, Shibata N, Baba H, Ohi K, Yasuda Y, Nakamura Y, Okochi T, Naitoh H, **Hashimoto R**, Iwata N, Ozaki N, Takeda M, Arai H. No association between DAO and schizophrenia in a Japanese patient population: A multicenter replication study. *Schizophr Res*. 118(1-3):300-2, 2010.
- 17) Aleksic B, Kushima I, Ito Y, Nakamura Y, Ujike H, Suzuki M, Inada T, **Hashimoto R**, Takeda M, Iwata N, Ozaki N. Genetic association study of KREMEN1 and DKK1 and schizophrenia in Japanese population. *Schizophr Res*, 118(1-3):113-7, 2010.



## 2. 学会発表

- 1) Hashimoto H, Meltzer HY, **Hashimoto R**, Jayathilake K, Takano-Hayata A, Ogata K, Shintani N, Takeda M, Baba A. Possible implication of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in schizophrenia: regulation of spine formation and genetic association. The 49th ACNP (American College of Neuropsychopharmacology) Annual Meeting, Miami Beach, Florida, USA, Dec 5-9(7), 2010, poster
- 2) **Hashimoto R**, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Iwase M, Iike N, Azechi M, Ikezawa K, Takaya M, Takahashi H, Yamamori H, Okochi T, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Kazui H, Iwata N, Takeda M. The Impact of a Genome-Wide Supported Psychosis Variant in the ZNF804A Gene on Memory Function in Schizophrenia. The 49th ACNP (American College of Neuropsychopharmacology) Annual Meeting, Miami Beach, Florida, USA, Dec 5-9(7), 2010, poster
- 3) Nakae A, **Hashimoto R**, Maeda S, Oku T, Fukumoto M, Ohi K, Yasuda Y, Yamamori H, Sakai N, Sakaue G, Ishigaki S, Kamide H, Hagihira S, Takeda M, Shibata M, Mashimo T. Pain sensitivity changes in patients with schizophrenia, Neuroscience 2010, San Diego, Nov 13-17(16) 2010, poster
- 4) Iwase M, Azechi M, Ikezawa K, Ishii R, Takahashi H, Nakahachi T, Canuet L, Aoki Y, Kurimoto R, Kazui H, Fukumoto M, Iike N, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, **Hashimoto R**, Takeda M. Two-channel near infrared spectroscopy (NIRS) activation curves of oxyhemoglobin during frontal lobe tasks in schizophrenia. Neuroscience 2010, San Diego, Nov 13-17(16) 2010, poster
- 5) Ikeda M, Tomita Y, Mouri A, Koga M, Okouchi O, Yoshimura R, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, **Hashimoto R**, Williams H, Takeda M, Nakamura J, Nabeshima T, Owen MJ, O'Donovan MC, Honda H, Arinami T, Ozaki N, Iwata N. Identification of novel candidate genes for treatment response to risperidone and susceptibility for schizophrenia: integrated analysis among pharmacogenomics, mouse expression and genetic case-control association approaches. The 18th International Society of Psychiatric Genetics (ISPG), Athens, Greece, Oct 3-7.2010, poster
- 6) **Hashimoto R**, Takeda M, Schizophrenia and Dysbindin, a Susceptibility Gene, The 25<sup>th</sup> Anniversary Conference, Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, Korea, Oct 1, 2010. Oral
- 7) **Hashimoto R**, Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Yamamori H, Takeda M, Translational Research For Schizophrenia: Genes, Intermediate Phenotypes, and Function. 11<sup>th</sup> Australasian Schizophrenia Conference, Sydney, Australia, Sep 22-24, 2010. invited speaker
- 8) Iwase M, Azechi M, Ikezawa K, Ishii R, Takahashi H, Nakahachi T, Canuet L, Kurimoto R, Kazui K, Fukumoto M, Iike N, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, **Hashimoto R**, Takeda M. Frontal lobe dysfunction and regional hemodynamic changes in major depression: A near infrared spectroscopy study. ICCN2010, Kobe, Japan. Oct 28-Nov 1(31).2010, poster
- 9) Azechi M, Iwase M, Ishii R, Ikezawa K, Canuet L, Kurimoto R, Takahashi H, Nakahachi T, Fukumoto M, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, **Hashimoto R**, Takeda M. Two-channel NIRS activation curves of oxyhemoglobin during frontal lobe tasks in schizophrenia, ICCN2010, Kobe, Japan. Oct 28-Nov 1(29).2010, poster
- 10) Sakai N, Nakae A, Hashimoto R, Takashina M, Mashimo T. The less sensitivity to pain in patients with schizophrenia in a post operative period. The 13th Asian Australasian Congress of Anesthesiologists, Fukuoka, Japan, June 1-5(3), 2010, poster
- 11) **Hashimoto R**, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Iwase M, Iike N, Azechi M, Ikezawa K, Takaya M, Takahashi H, Yamamori H, Ishii R, Kazui H, Iwata N, Takeda M. The Impact of a Genome-Wide Supported Psychosis Variant in the ZNF804A Gene on Memory Function in Schizophrenia. 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April, 10-14(11), 2010. poster
- 12) Yamamori H, **Hashimoto R**, Takamura H, Verral L,

- Yasuda Y, Ohi K, Fukumoto M, Ito A, Takeda M. Dysbindin1 and NRG genes expressions in immortalized lymphocytes from patients with schizophrenia. 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April, 10-14(13), 2010. poster
- 13) Ohi K, Hashimoto R, Yasuda Y, Fukumoto M, Iike N, Yamamori H, Tanimukai H, Tagami S, Morihara T, Okochi M, Tanaka T, Kudo T, Iwase M, Kazui H, Takeda M. Personality traits and schizophrenia: evidence from a case-control study and meta-analysis, 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April. 10-14(12), 2010. Poster
- 14) Yasuda Y, Hashimoto R, Takamura H, Ohi K, Fukumoto M, Nemoto K, Ohnishi T, Yamamori H, Takahashi H, Iike N, Kamino K, Yoshida T, Ishii R, Iwase M, Kazui H, Takeda M. AKT1 gene is associated with attention and brain morphology in patients with schizophrenia. 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April, 10-14(13), 2010. Poster
- 15) Iwase M, Azechi M, Ikezawa K, Ishii R, Takahashi H, Nakahachi T, Canuet L, Kurimoto R, Kazui H, Fukumoto M, Iike N, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Hashimoto R, Takeda M. Two-channel near infrared spectroscopy (NIRS) activation timing curves of oxyhemoglobin during frontal tasks in schizophrenia. 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April, 10-14(12), 2010. Poster
- 16) Canuet L, Ishii R, Iwase M, Ikezawa K, Kurimoto R, Takahashi H, Azechi M, Currais A, Nakahachi T, Ohi K, Yasuda Y, Yamamori H, Fukumoto M, Hashimoto R, Takeda M. Cortical dysfunction during visual working memory in schizophrenia and schizophrenia-like psychosis of epilepsy: A magnetoencephalography study. 2<sup>nd</sup> Biennial Schizophrenia International Research Society Conference, Florence, Italy, April, 10-14(11), 2010. poster
- 17) 橋本亮太, 安田由華, 大井一高, 福本素由己, 山森英長, 岩瀬真生, 数井裕光, 武田雅俊統合失調症の中間表現型解析—その現状と展望. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(9), 2010.シンポジウム
- 18) 池田匡志, Branko Aleksic, 稲田俊也, 鈴木道雄, 橋本亮太, 氏家寛, 武田雅俊, Nick Craddock, 貝淵弘三, Mike Owen, 尾崎紀夫, Michael C O'Donovan, 岩田仲生. 日本人統合失調症の Genome-wide 関連解析. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(8), 2010.口演
- 19) 渡部雄一郎, 天金秀樹, 金子尚史, 布川綾子, 村竹辰之, 石黒浩毅, 有波忠雄, 氏家寛, 稲田俊也, 岩田仲生, 功刀浩, 佐々木司, 橋本亮太, 糸川昌成, 尾崎紀夫, 染矢俊幸. ミオシン重鎖 9 遺伝子は統合失調症と関連しない. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(8), 2010.ポスター
- 20) 布川綾子, 渡部雄一郎, 金子尚史, 須貝拓朗, 矢崎沙織, 有波忠雄, 氏家寛, 稲田俊也, 岩田仲生, 功刀浩, 佐々木司, 糸川昌成, 尾崎紀夫, 橋本亮太, 染矢俊幸. ドパミン D3 受容体遺伝子と統合失調症のリスク. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(8), 2010.ポスター
- 21) 大沼徹, 柴田展人, 馬場元, 大井一高, 安田由華, 中村由嘉子, 大河内智, 内藤宏, 橋本亮太, 岩田仲生, 尾崎紀夫, 武田雅俊, 新井平伊. 日本人統合失調症患者におけるグリシンおよびセリン関連遺伝子の症例対照研究. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(8), 2010.ポスター
- 22) 新井誠, 市川智恵, 宮下光弘, 西田淳志, 新井麻友美, 小幡菜々子, 野原泉, 岡崎祐士, 大西哲生, 豊田倫子, 吉川武男, 有波忠雄, 氏家寛, 久島周, 尾崎紀夫, 福本素由己, 橋本亮太, 小池進介, 滝沢龍, 笠井清登, 宮田敏男, 渡邊琢夫, 山本寛, 糸川昌成. カルボニルストレスを呈する統合失調症の代謝制御に関する研究. 第 32 回日本生物学的精神医学会.福岡.10.7-9(8), 2010.ポスター
- 23) 山森英長, 橋本亮太, 高村明孝, Louise Verrall, 安田由華, 大井一高, 福本素由己, 伊藤彰, 武田雅俊. 統合失調症患者由来のリンパ芽球における統合失調症関