

自閉スペクトラム症 —診断上の留意点と、発症メカニズムの最近の知見について—

加藤 秀一^{1)*} 尾崎 紀夫¹⁾

要旨：自閉スペクトラム症は、社会性やコミュニケーションの障害、および行動・興味・活動の限局を特徴とし、米国精神医学会の精神障害診断・統計マニュアル第5版では、非常に多様な表現型を包含することとなった。何らかの身体症状や精神障害を併存することが多く、包括的評価が求められる。ゲノム解析が広く行われ、頻度は低いものの発症に強い影響を与えるゲノムバリエーションの同定により、一部の患者に共通する発症メカニズムが明らかとなりつつある。その結果、クロマチン制御の異常によるエピジェネティックな変化が、発症に強く影響を及ぼしている可能性が示唆されている。病態の解明、治療法開発に向けてさらなる研究が求められている。

(臨床神経 2019;59:13-20)

Key words：自閉スペクトラム症、診断、ゲノムバリエーション、ヒストン修飾、クロマチンリモデリング

はじめに

自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder; ASD) は、2013年に米国精神医学会が発表した精神障害診断・統計マニュアル第5版 (DSM-5)¹⁾ によると、発達早期より認める①社会的コミュニケーションおよび対人相互反応における持続的な欠陥、および②行動・興味・活動の限定された反復的な様式があり、①、②の結果、臨床的に意味のある支障を引き起こしている場合に診断される。近年の疫学調査によると、ASDの有病率は1%を超えると考えられ²⁾、本邦においても1.8%³⁾と報告され、また社会的損失も大きいとされ⁴⁾、衆目を集めている。前版のDSMIV-TRでは広汎性発達障害のカテゴリの下位に自閉性障害、非定型自閉症やアスペルガー症候群などが分類されていたが、DSM-5からこれらの多くはASDに含まれた。その結果、ASDは非常に多様な表現型を包括することとなり、DSM-5ではASDの診断名をつけるだけでなく、個々の臨床像を示すために、包括的評価に基づいて2領域の重症度、言語、知能、医学的・遺伝学的・環境要因の関連、併存症などを特定項目により明記することが求められている。加えて、ASDにおける重症度の違い、発達段階や年齢による症状の変化は大きく、spectrumという用語で表現されている。その背景には、ASDは特性がある/ないと二分されるものではなく、連続体であるとの考え方があり、連続体であると認めている一方、臨床や研究を遂行するうえでの簡便さを考えると、どこに診断がつく/つかないの線引きをするのかという点が課題となる。

DSMIV-TRではレット症候群も広汎性発達障害の下位に分類されていた。レット症候群は、主にMECP2遺伝子のバリエーションが原因の、女兒にみられるX連鎖遺伝形式をとる進行性の発達障害で、生後6ヵ月から18ヵ月までの正常発達の後、言語と運動の能力が急速に退行する症候群である。レット症候群はASDを高率に合併する⁵⁾ものの、合併しないこともあり、DSM-5においては、既知の遺伝子疾患に関連したASDの一つに位置付けられた。またレット症候群のように、既知の症候群とASDが併存することがあり、症候性ASDとも呼ばれる。

一般にASDの遺伝率は50~90%^{6,7)}と高いことが知られている。近年、マイクロアレイ技術により全ゲノムを対象としたゲノムコピー数変異 (copy number variant; CNV) 解析が可能となり、また次世代シーケンサー技術の普及によって大量のシーケンスを比較的安価に短時間で実行できるようになった。その結果、数多くのゲノム解析研究が行われ、650以上の疾患関連遺伝子が報告されてきた。特に、頻度は低いものの、比較的大きな影響を及ぼすrare variantsが注目され、探索・同定されている。最近のエクソーム解析の結果からASDとの関連が注目されているカテゴリの一つに、クロマチン修飾関連遺伝子がある^{8,9)}。

本稿では、ASDの診断について論じ、既知の遺伝子疾患に関連したASDを正しく診断する意義についても触れる。また、ASDの発症メカニズムについて、ゲノム解析からの知見を、特にクロマチンの制御異常に注目をして論じる。

*Corresponding author: 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野 [〒460-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65]

¹⁾ 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野

(Received October 13, 2018; Accepted November 16, 2018; Published online in J-STAGE on December 29, 2018)

doi: 10.5692/clinicalneuroi.cn-001240

ASD の診断について

臨床の場では、本人の生きづらさや困り感を理解した上で、本人や家族と理解を共有し、適切な支援方略を考えるために診断は重要である。また、社会的サービスを利用するために診断が必須な場合もある。DSM-5において、「臨床的に意味のある支障を引き起こしている」ことが診断基準の項目となっているが、ASDの特徴の多くをもちながら社会生活に大きな支障をきたしていない人も多く存在する。このような場合は、ASDの診断のもとに特性の理解を深め、環境とのミスマッチを減らして、よりQOL (quality of life) の高い生活を送る手掛かりとするという考え方もあり得る。一方で、ASDの特性は脳の機能や発達の差異にすぎず、精神疾患や障害と見做すのではなく、すなわち「診断」により医学モデルとして理解するのではなく、人間集団のなかに存在するばらつき的一种として扱うべきであるとの考え方もある¹⁰⁾。即ち、生活においてどのような支障が生じているのか、どのような支援を受けられる環境にあるのか、あるいは当事者本人がASDについてどのように考えているのかなどといった、心理社会的側面によってスペクトラムのどこに線を引くかは変動するといえるだろう。

ASDの診断は行動的特徴から行われており、多様な病因・病態亜群を含む集団と考えられている。一方、病因、病態の解明には、多様性の高いASDからある程度均一性のある集団を抽出する、信頼性や妥当性の高い診断方法が求められる。行動的特徴を詳細に評価し、診断を補助するためのツールには、当事者本人を対象に行う行動観察法として、Autism

Diagnostic Observation Schedule-2 (ADOS2)¹¹⁾とChildhood Autism Rating Scale2 (CARS2)¹²⁾が、養育者からの聴取に依拠するAutism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R)¹³⁾、および行動観察とともに養育者からの聴取を行うDiagnostic Interview for Social and Communication disorders (DISCO)¹⁴⁾がある。生物学的指標を用いた検査は未だ確立されておらず¹⁵⁾、アメリカ国立国際衛生研究所 (NIMH) が、生物学的かつ横断的な視点を取り入れた評価基準の構築を目指すResearch Domain Criteria (RDoC) プロジェクトを開始するなど、ASDを含む精神疾患全般について新たな診断・評価システムが模索されている。

ASDを診断するには、併存症の評価が重要である。ASDの70%以上に、何らかの身体的な異常あるいは精神障害を併存することが知られており¹⁶⁾、それらを含めた包括的評価を行うことが求められる。身体的な異常としては、睡眠障害、てんかん、および胃腸障害などが多い。精神障害としては、知的能力障害、注意欠如・多動症、およびチック症などの神経発達症、不安症、抑うつ症そして強迫症などが多い¹⁶⁾。ASDの5%程度に併存するとされる既知の症候群、すなわち症候性ASD、ないし既知の遺伝子疾患に関連したASDを正しく診断することも重要である。その理由の一つは、治療や合併症を予想した健康管理など、より適切な医療を提供できることである。ASD、知的能力障害あるいは統合失調症などの原因精査のため、1,780例について染色体マイクロアレイ検査を行ったところ、12.7%に異常が見つかり、その約半数で治療や健康管理など医療の面で何らかの方針変更があったとの報告がある¹⁷⁾。また、厚生労働省により難病として指定されている場合には、一定の条件のもとに医療費の助成を受けられ

Table 1 ASD associated with chromosomal abnormalities or mutations in a single gene.

Syndrome	Genes/CNV	Estimated ASD prevalence (%)	Associated neuropsychiatric and somatic phenotypes
Fragile X	<i>FMR1</i>	30–60	ID, epilepsy, macrochidism at puberty, hyperactivity
Neurofibromatosis type 1	<i>NF1</i>	7.7–18	ADHD, epilepsy, multiple benign neurofiromas, abnormal skin pigmentation, macrocephaly
Tuberous sclerosis	<i>TSC1/TSC2</i>	36–50	ADHD, ID, epilepsy, benign tumors in multiple tissues, lung and kidney dysfunction
Rett	<i>MECP2</i>	61–100	ID, epilepsy, scoliosis, developmental regression, stereotypical hand movements
MECP2 duplication	<i>MECP2</i>	90–100	ID, epilepsy, respiratory infections, gastrointestinal dysfunction, hypotonia, progressive spasticity
Angelman	<i>UBE3A</i>	34–66	ID, epilepsy, ataxia, microcephaly, excessive laughter and smiling
CHARGE	<i>CHD7</i>	35	ID, heart defect, ocular coloboma, hypoplasia of auditory nerve, genital hypoplasia, characteristic ear
Phelan-McDermid	<i>SHANK3</i>	75–80	ID, epilepsy, heart defect, kidney dysfunction
Timothy	<i>CACNA1C</i>	60–80	ID, heart defect, cardiac arrhythmia, recurrent infections
22q11.2 deletion	22q11.2	18–29	ADHD, ID, schizophrenia, anxiety disorder, heart defect, hypocalcemia, recurrent infections

ASD, autism spectrum disorder; CNV, copy number variant; ID, intellectual disability; ADHD, attention deficit hyperactivity disorder. Based on (18), (19).

るが、助成を受けるためには指定の症候群の診断が必須となる。しばしばASDと併存することが知られる、脆弱X症候群、結節性硬化症や神経線維腫瘍I型なども難病として指定されている。さらに、現在は治療法のない症候群であっても、診断がついていれば、治療法が開発された際に治療を導入することが可能である。遺伝カウンセリングに際して、次子での再発率をより正確に推測することや、患者会へ参加することによる他の当事者や家族との情報共有も、既知の症候群の診断を経て可能となる。Table 1¹⁸⁾¹⁹⁾にASDを併存することが知られている既知の遺伝子疾患に関連したASDの例を示す。

ゲノム解析の知見

ヒトは誰しもが平均して400万以上のゲノムバリエーションを持っており、その大部分は一般人口での頻度が1%以上のものである²⁰⁾。頻度が1%以上の一塩基の変化を一塩基多型 single nucleotide polymorphism (SNP)、頻度が1%未満の一塩基変異を single nucleotide variant (SNV) と称する。その他の主なゲノムバリエーションとして、数千から数百万塩基の欠失もしくは重複によってその領域のコピー数が変化する CNV がある。ASD の発症には、これらのバリエーションが関わっていると考えられており、SNP によって発症要因の約 50%、SNV や CNV などの稀なバリエーションによって約 10~25% を説明できると推定されている¹⁹⁾²¹⁾。頻度は高いが影響力の小さな SNP は、数百以上が集積することで ASD を発症し、稀なバリエーションの場合には数個でも発症し、また SNP と稀なバリエーションが組み合わさって発症することもあるという遺伝学的なモデル

が想定されている²¹⁾。しかしながら、頻度の高い多型である SNP をマーカーとして用い、疾患に関連する領域をゲノム全体で探索する手法であるゲノムワイド関連解析 (genome-wide association study; GWAS) に関しては、ASD では比較的小規模な研究しか行われていないことも一因か、これまでに ASD の関連遺伝子領域は報告されていない。また、これまで統合失調症等の GWAS で同定されている SNP のオッズ比は 1.1~1.2 倍程度と効果量が小さい。そのため、オッズ比の高さや機能解析の実現可能性を踏まえて、SNV や CNV を基点としての病態解明が注目され、Table 2¹⁹⁾²²⁾、Table 3¹⁹⁾²²⁾²³⁾に示したような遺伝子や染色体領域と ASD との関連が報告されている。また近年、生殖細胞系列のバリエーションのみでなく、一部の神経系細胞のみがゲノムバリエーションを有する体細胞モザイクも、ASD をはじめとする神経発達症の発症に影響を与えることが示唆されており注目されている²⁴⁾。

ゲノムバリエーションの探索によって同定された多数の疾患関連遺伝子に共通する生物学的発症メカニズム (パスウェイ) も探索されている。De novo バリエーション (患者両親には存在せず、患者本人において新たに出現するバリエーション) に焦点をあて、2,517 家系を対象に解析を行った研究⁸⁾において、発症に強く関与している可能性の高い機能喪失型 de novo バリエーション (ナンセンスバリエーション、フレームシフトバリエーション、およびスプライス部位バリエーション) を認める遺伝子は、クロマチン修飾関連遺伝子、FMRP 標的遺伝子、そして胎生期に高発現する遺伝子のカテゴリに多く含まれていた。De novo バリエーションに加えて両親から継承された変異とケースコントロールの結果も考慮する手法 (transmission and de novo associa-

Table 2 Genes associated with ASD by sequencing studies.

gene	Estimated percentage of individuals with ASD harboring the variant (%)	Associated neuropsychiatric phenotypes	Associated somatic phenotypes
<i>POGZ</i>	0.08	ID, schizophrenia, language delay	Microcephaly, obesity, impaired vision
<i>TBR1</i>	0.08	ID	Unknown
<i>ADNP</i>	0.10	ID, ADHD	Epilepsy, recurrent infections, heart defect, short stature, hypotonia
<i>SYNGAP1</i>	0.10	ID	Epilepsy
<i>GRIN2B</i>	0.13	ID	Epilepsy
<i>ANK2</i>	0.13	Unknown	Heart arrhythmia
<i>ARID1B</i>	0.13	ID, speech impairment	Epilepsy, cryptorchidism, vision impairment, hypertrichosis
<i>SCN2A</i>	0.13	ID, schizophrenia	Epilepsy, episodic ataxia
<i>DYRK1A</i>	0.13	ID, ADHD, anxiety, speech impairment	Epilepsy, Microcephaly, vision impairment, short stature, gastrointestinal symptoms
<i>CHD8</i>	0.21	ID, schizophrenia, speech delay, sleep problems	Macrocephaly, gastrointestinal symptoms

All genes harboring multiple, rare, single-gene mutations are scored as 1 (high confidence) among S (syndromic) and 1 to 6 (evidence does not support a role) on SFARI GENE database (<https://gene.sfari.org/>).

ASD, autism spectrum disorder; ID, intellectual disability; ADHD, attention deficit hyperactivity disorder. Based on (19), (22).

Table 3 CNVs consistently reported in association with ASD.

CNV	Estimated percentage of individuals with ASD harboring the variant (%)	Associated neuropsychiatric phenotypes	Associated somatic phenotypes
Del1q21.1	Unknown	ID, ADHD, schizophrenia	Epilepsy, eye abnormalities, heart defect, microcephaly, short stature
Dup1q21.1	Unknown	ID, schizophrenia	Epilepsy, heart defect, macrocephaly
Del2p16.3 (NRXN1)	0.32	ID, schizophrenia	Epilepsy, heart defect, hypotonia, macrocephaly
Del2q23.1	Unknown	ID, ADHD, language disorder	Epilepsy, brachycephaly, microcephaly, obesity, short stature
Del3q29	Unknown	ID, language disorder, schizophrenia, bipolar disorder, anxiety disorders	Abnormal dentition, recurrent ear infections, heart defect, gastrointestinal problems
Dup7q11.23	Unknown	ID, ADHD, anxiety disorders	Epilepsy, heart defect, kidney abnormalities, macrocephaly, brachycephaly, chronic obstipation
Dup15q11-q13	0.25	ID, ADHD	Epilepsy, heart defect, muscle hypotonia, short stature
Del15q13.2-q13.3	0.16	ID, ADHD	None reported
Del16p11.2	0.31	ID	Epilepsy, hypotonia, sacral dimples, speech articulation problems
Dup16p11.2	0.24	Schizophrenia, bipolar disorder	Epilepsy, hypotonia, tremor, ataxia, sacral dimples, speech articulation problems

ASD, autism spectrum disorder; Del, deletion; Dup, duplication; ID, intellectual disability; ADHD, attention deficit hyperactivity disorder. Based on (19), (22), (23).

tion; TADA) を用い, ASD 患者 3,871 例を解析した研究⁹⁾ においては, クロマチン修飾関連遺伝子, FMRP 標的遺伝子, RBFOX 標的遺伝子, そしてシナプス関連遺伝子のカテゴリが同定された. 最近, 我々のグループにより, 日本人の ASD 患者 1,132 例を対象とした CNV 解析の結果が報告された²⁵⁾. 同定された病的 CNV によって影響を受ける遺伝子がどのようなパスウェイに集積しているかを, 遺伝子セット解析によって調べた結果, シナプス, 低分子量 G タンパク質シグナル, 遺伝子発現制御, 酸化ストレス応答, ゲノム安定性, および脂質代謝などが含まれていた. クロマチン修飾関連遺伝子は遺伝子発現制御のパスウェイに含まれている. その他, Wnt シグナル伝達経路や MAPK シグナル伝達経路に ASD 関連遺伝子が集積することが報告されている²²⁾.

クロマチンの制御異常と ASD

上述のとおり, これまでに繰り返しクロマチン修飾関連遺伝子群と ASD との関連が報告されている (Table 4)²⁶⁾²⁷⁾. クロマチンの基本構造はヌクレオソームで, 147 塩基の DNA が, ヒストン H2A, H2B, H3, H4 それぞれ 2 分子ずつからなる 8 量体に巻き付いたものである. クロマチンの構造や状態の制御は, 遺伝子発現調節を通じて, 神経幹細胞・神経前駆細胞の運命決定, 神経細胞 (ニューロン) の成熟, またシナプス形成などのプロセスに関与し, 中枢神経系の発達において重要な役割を果たしている. そして, その制御に異常をきたす

ことよって, ASD, 知的能力障害あるいは統合失調症などの精神障害を引き起こす可能性が示唆されている²⁷⁾. クロマチンの制御は, エピジェネティクス, すなわち DNA 塩基配列上の変化を伴わない遺伝情報の発現制御機構において非常に重要であり, 主に DNA 修飾, ヒストン修飾, およびクロマチンリモデリングの三つの機序によって調節されている²⁷⁾.

DNA 修飾

DNA 修飾の代表的なものが DNA メチル化である. DNA メチル基転移酵素によって, 主に 5'-CpG-3' にあるシトシンの 5 位炭素原子がメチル化修飾を受けることで遺伝子発現が調節される. プロモーター領域における CpG サイトのメチル化による遺伝子発現抑制がよく知られているが, 遺伝子領域にある CpG サイトのメチル化によってスプライシングの制御が行われることや, 組織や細胞あるいは時期特異的なメチル化領域の存在が知られるようになってきた²⁸⁾. また CpG のメチル化シトシンのみならず, CpA, CpC, や CpT, あるいは代謝産物と考えられていた 5-ヒドロキシメチル化シトシンも遺伝子発現の制御に関与している可能性が示唆されている²⁸⁾.

ASD とコントロールそれぞれ 12 例を比較した Nardone らの死後脳研究²⁹⁾ において, 前頭前野で 5,329 か所, 前帯状回で 10,745 か所の CpG メチル化領域でメチル化パターンの差異を認めた. また, ASD では部位間の差が優位に少なく, メチル化の部位特異性が減弱していることが示唆された. さら

Table 4 Chromatin regulators associated with ASD.

Chromatin regulator	Chromatin regulator type	Associated syndrome	Gene Score on SFARI GENE database
MECP2	DNA methylation binding protein	Rett syndrome, MECP2 duplication syndrome	2, S
MBD5	DNA methylation binding protein	Kleefstra's syndrome	3, S
EHMT1	Histone methyltransferase	Kleefstra's syndrome	3, S
KMT5B	Histone methyltransferase	None reported	1
KDM5C	Histone lysine demethylase	None reported	3
SMARCA2	Chromatin-remodeling complex ATPase	Nicolaides-Baraitser syndrome	S
SMARCA4	Chromatin-remodeling complex subunit	Coffin-Siris syndrome	3
SMARCC2	Chromatin-remodeling complex subunit	None reported	2
CHD7	Chromatin remodeler	CHARGE syndrome	S
CHD8	Chromatin remodeler	None reported	1, S

All genes are scored as S (syndromic), 1 (high confidence), 2 (strong candidate) or 3 (suggestive evidence) on SFARI GENE database. ATP, Adenosine triphosphate. Based on (26), (27).

に、メチル化パターンの変化を認めた遺伝子に関する遺伝子セット解析を行うと、ASDで低メチル化になる領域では免疫応答に関連するカテゴリが、高メチル化領域ではシナプス伝達のカテゴリが含まれており、遺伝子発現はそれぞれ増加、低下していることが確認された。

DNAメチル化に関連する既知の遺伝子疾患に関連したASDとして、脆弱X症候群がある。同症候群は単一遺伝子が原因の遺伝子疾患に関連したASDとしては最も頻度が高く、ASDの1~2%を占めるとされる。*FMR1* 遺伝子に存在するCGGリピートが200以上に延長すると、プロモーター領域がメチル化され同遺伝子が不活化ことで発症する³⁰⁾³¹⁾。*FMR1* 遺伝子をコードするFMRPは、ASD関連たんぱく質 (SHANK3, PSD-95, PTEN, CYFIP1, neuroligines, neuroligins) をコードするmRNAの、翻訳、安定性、移送を制御しており、FMRPの不活化によってこれらの転写後遺伝子発現制御に異常をきたすことが発症に関与していると考えられている¹⁸⁾。

同様にDNAメチル化関連の既知の遺伝子疾患に関連したASDとして、前述のレット症候群が知られている。メチル化したCpGに結合し、転写抑制因子、転写活性化因子、あるいはmRNAスプライシング制御因子などとして作用することが報告されているMeCP2の機能異常が原因であることは明らかとなっている³²⁾が、下流の標的因子の異常がどのように発症に関わるのかという病態は不明であった。これまでに、MeCP2ノックアウトマウスおよびヒトMeCP2欠損細胞においてmTORシグナルの減弱がみられることが報告されている³³⁾³⁴⁾。mTORシグナルの制御異常は、FMRP, TSC1, TSC2, PTENやeIF4Eなど他のASD関連たんぱく質の異常との関連も報告されており³⁵⁾、ASDの発症に深く関与することが示唆されている。近年、TsujimuraらによりMeCP2の新たな標的因子としてmicroRNAのmiR-199aが同定された³⁶⁾。MeCP2はmiR-199aのプロセッシングを介して、SIRT1, HIF1aやPDE4Dなど

のmTORシグナル阻害因子の発現を抑制することでmTORシグナルを活性化しており、miR-199a-2ノックアウトマウスではMeCP2ノックアウトマウスでみられる多くの表現型を再現していることが明らかとなった。

ヒストン修飾

ヌクレオソームの構成要素であるヒストンたんぱく質のアミノ末端部分はアセチル化、メチル化、リン酸化、やユビキチン化などの修飾を受けて、クロマチンの制御に関与している³⁷⁾。修飾を施すアセチル基転移酵素やメチル基転移酵素などのいわゆる“writers”と、逆の作用をする脱アセチル化酵素や脱メチル化酵素などの“erasers”によってヒストン修飾が調整される。特定のヒストン修飾へ特異的に結合するたんぱく質“readers”がクロマチンの構造や機能を制御すると考えられている³⁸⁾。ヒストンアセチル化とリン酸化は“readers”を介さずに、直接にヒストンの陽荷電を減少させ、陰に荷電しているDNAとの相互作用を弱めることでクロマチン構造の凝集を緩め、転写を活性化することもできる³⁹⁾。ヒストンたんぱく質アミノ末端部分にあるリジン残基のアセチル化は、一般的には転写活性化と関連する。また、ヒストンH3のN末端から4番目のリジン残基 (H3K4) やH3K36のメチル化は転写活性化に関連する一方、H3K9, H3K27やH4K20のメチル化は転写の抑制に関連する。

メチル化やアセチル化によるヒストン修飾に関連する遺伝子のバリエーションは、様々な、多発奇形や知的能力障害を伴う既知の遺伝子疾患の原因であることが知られており (Table 5)²⁷⁾⁴⁰⁾、また、神経幹細胞の分化、増殖に重要な役割をはたしているなど、神経系の発達に関与する機序も明らかとなりつつあり⁴¹⁾⁴²⁾、注目を集めている。ASDについても、複数のヒストン修飾因子のバリエーションとの関連が報告されている (Table 4)。最近、

Table 5 Histone modifiers associated with congenital neurodevelopmental disorders.

Histone modifier	Congenital neurodevelopmental disorders	Function	Histone residue
P300/CBP	Rubinstein-Taybi syndrome	Histone acetyltransferase	H3(K14, K18), H4(K5, K8), H2A(K5), H2B(K12, K15)
KAT6B	Young-Simpson syndrome	Histone acetyltransferase	H3K23
HDAC4	Brachydactyly mental retardation syndrome	Histone deacetylase	H3, H4, H2A, H2B
NSD1	Sotos syndrome	Histone methyltransferase	H3K36
NSD2	Wolf-Hirschhorn syndrome	Histone methyltransferase	H3K36
EZH2	Weaver syndrome	Histone methyltransferase	H3K27
KMT2A	Wiedemann-Steiner syndrome	Histone methyltransferase	H3K4
KMT2D/KDM6A	Kabuki syndrome	Histone methyltransferase/ Histone Lysine demethylase	H3K4/H3K27
KDM1A	KBG syndrome	Histone Lysine demethylase	H3K4, H3K9, H4K20

Based on (27), (40).

H3K4 の脱メチル化酵素である KDM5C のノックアウトマウスが作成され⁴³⁾、他のマウスとの接触が短く、物体へ接触する時間が長い傾向、多動、あるいは認知機能の低下といった特徴がみられた。また、情動の制御を行う扁桃体基底外側部で、錐体細胞樹状突起の形態異常を認めた。前述の、我々のグループが行った、ASD と統合失調症を対象とした CNV 解析の結果、H3K9 および H3K36 の脱メチル化酵素である KDM4C の遺伝子領域を含む CNV と ASD/統合失調症との関連を認めた²⁵⁾。KDM4C ノックアウトマウスにおいて、多動や学習・記憶障害などの行動異常と、大脳皮質や扁桃体におけるアストロサイトの数の増加が報告されており、新たな ASD 関連遺伝子の候補として注目されている⁴⁴⁾。

クロマチンリモデリング

クロマチンリモデリング複合体とクロマチンリモデリング因子は、ATPase ドメインによって産生される ATP 加水分解エネルギーを利用して、ヒストンたんぱく質をスライドさせたり、ヒストンと DNA の凝集を防いだりすることにより、遺伝子の転写調節や、DNA の複製や修復に関与する。複数のクロマチンリモデリング複合体サブユニットや、クロマチンリモデリング因子のバリエーションと ASD との関連が報告されている (Table 4)。なかでも CHD8 は ASD との関連が繰り返し報告されており⁸⁾⁹⁾、知的能力障害、大頭症、消化器症状などの表現型をしばしば伴うことが明らかとなってきた (Table 2)。最近、CHD8 遺伝子変異を持つマウスでは、コミュニケーション異常や固執傾向が強まること、また神経発達に抑制的にはたらく REST が活性化されており、その結果として神経発達が遅延していることが報告された⁴⁵⁾。

クロマチン制御の異常と環境因子

ASD 発症には環境因子も影響すると想定され、前述のとおり DSM-5 の特定項目にも取り入れられた。特に、てんかん、双極性障害や片頭痛の治療薬として用いられるバルプロ酸は、ヒストン脱アセチル化酵素の阻害作用を有し⁴⁶⁾、妊娠中に内服していると、出生する子が ASD と診断されるリスクを上げることが知られている。胎児期にバルプロ酸へ暴露された 508 人を含む 65 万人以上の出生児を対象とした、デンマークで行われた大規模なコホート研究では、ハザード比が 2.9 と算出された⁴⁷⁾。また、ノルウェイで行われた、8 万 5 千人以上の出生児を対象としたコホート研究で、妊娠初期の葉酸摂取が ASD のリスクを下げることを示唆された⁴⁸⁾。妊娠中に葉酸を投与した母マウスから出生したマウスの大脳を用いて、DNA メチル化プロファイルのゲノムワイド解析を行ったところ、神経発達に関与する遺伝子や ASD 関連遺伝子のメチル化パターンが変化し、一部で発現も変化していたことが報告されており⁴⁹⁾、妊娠中の母体の葉酸摂取量が、DNA メチル化の変化を介して ASD 発症に影響を及ぼしているのかもしれない。環境要因によって ASD 発症に至るプロセスを、クロマチン制御異常などのエピジェネティックな変化により説明できるかもしれない⁵⁰⁾。

今後の展望

SNV や CNV など、頻度は低いものの発症に強い影響を与えるゲノムバリエーションの同定によって、ASD 患者の一部をパスウェイにより分類することが可能となりつつある。その結果、クロマチン制御の異常によるエピジェネティックな変化が、ASD の発症に強く影響を及ぼしている可能性が示唆され、モデル動物や細胞を用いた研究によっても裏付けられている。しかし、クロマチン制御の異常が、最終的にどのよう

なメカニズムで ASD 発症に至るかはいまだ不明な点が多い。もともと、組織、細胞によってエピジェネティックな修飾は異なるため、病因・病態の解明には、脳の各領域の各細胞それぞれの各発達段階におけるクロマチン制御の変化とそれによる影響を検討する必要がある。しかしながら、ヒトの脳組織サンプルは死後脳組織を除いて取得困難であり、モデル動物や患者由来の人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を用いた研究などを、臨床と基礎の連携を強化して推進していくことが求められる。

謝辞：本稿を作成するにあたり、名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野の木村大樹先生、久島周先生、ならびに名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野・高等研究院 (兼務) の辻村啓太先生に貴重なご助言をいただきました。深く感謝いたします。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業・組織・団体
尾崎紀夫：講演料：アステラス製薬株式会社、大塚製薬株式会社、日本イーライリリー株式会社、ファイザー株式会社、MSD 株式会社、Meiji Seika ファルマ株式会社。研究費・助成金：大日本住友製薬株式会社、株式会社地球快適化インスティテュート。奨学 (奨励) 寄付：アステラス製薬株式会社、大塚製薬株式会社、大日本住友製薬株式会社、ファイザー株式会社

文 献

- American Psychiatric Association (高橋三郎, 大野裕 監訳). DSM-5 精神疾患の診断・統計マニュアル. 東京: 医学書院; 2014. p. 49-57.
- Elsabbagh M, Divan G, Koh YJ, et al. Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders. *Autism Res* 2012;5:160-179.
- Kawamura Y, Takahashi O, Ishii T. Reevaluating the incidence of pervasive developmental disorders: impact of elevated rates of detection through implementation of an integrated system of screening in Toyota, Japan. *Psychiatry Clin Neurosci* 2008;62:152-159.
- Buescher AV, Cidav Z, Knapp M, et al. Costs of autism spectrum disorders in the United Kingdom and the United States. *JAMA Pediatr* 2014;168:721-728.
- Richards C, Jones C, Groves L, et al. Prevalence of autism spectrum disorder phenomenology in genetic disorders: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry* 2015;2:909-916.
- Gaugler T, Klei L, Sanders SJ, et al. Most genetic risk for autism resides with common variation. *Nat Genet* 2014;46:881-885.
- Sandin S, Lichtenstein P, Kuja-Halkola R, et al. The heritability of autism spectrum disorder. *JAMA* 2017;318:1182-1184.
- Iossifov I, O'Roak BJ, Sanders SJ, et al. The contribution of de novo coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature* 2014;515:216-221.
- De Rubeis S, He X, Goldberg AP, et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature* 2014;515:209-215.
- Jaarsma P, Welin S. Autism as a natural human variation: reflections on the claims of the neurodiversity movement. *Health Care Anal* 2012;20:20-30.
- Lord C, Risi S, Lambrecht L, et al. The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord* 2000;30:205-223.
- Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, et al. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord* 1980;10:91-103.
- Lord C, Rutter M, Le Couteur A. Autism Diagnostic Interview-Revised: a revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord* 1994;24:659-685.
- Wing L, Leekam SR, Libby SJ, et al. The Diagnostic Interview for Social and Communication Disorders: background, inter-rater reliability and clinical use. *J Child Psychol Psychiatry* 2002;43:307-325.
- Zwaigenbaum L, Penner M. Autism spectrum disorder: advances in diagnosis and evaluation. *BMJ* 2018;361:k1674.
- Lai MC, Lombardo MV, Baron-Cohen S. Autism. *Lancet* 2014;383:896-910.
- Henderson LB, Applegate CD, Wohler E, et al. The impact of chromosomal microarray on clinical management: a retrospective analysis. *Genet Med* 2014;16:657-664.
- Sztainberg Y, Zoghbi HY. Lessons learned from studying syndromic autism spectrum disorders. *Nat Neurosci* 2016;19:1408-1417.
- de la Torre-Ubieta L, Won H, Stein JL, et al. Advancing the understanding of autism disease mechanisms through genetics. *Nat Med* 2016;22:345-361.
- Genomes Project C, Auton A, Brooks LD, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.
- Bourgeron T. From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci* 2015;16:551-563.
- Vorstman JAS, Parr JR, Moreno-De-Luca D, et al. Autism genetics: opportunities and challenges for clinical translation. *Nat Rev Genet* 2017;18:362-376.
- Muhle RA, Reed HE, Stratigos KA, et al. The emerging clinical neuroscience of autism spectrum disorder: a review. *JAMA Psychiatry* 2018;75:514-523.
- McConnell MJ, Moran JV, Abyzov A, et al. Intersection of diverse neuronal genomes and neuropsychiatric disease: The Brain Somatic Mosaicism Network. *Science* 2017;356.
- Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, et al. Comparative analyses of copy-number variation in autism spectrum disorder and schizophrenia reveal etiological overlap and biological insights. *Cell Rep* 2018;24:2838-2856.
- Adegbola A, Gao H, Sommer S, et al. A novel mutation in JARID1C/SMCX in a patient with autism spectrum disorder (ASD). *Am J Med Genet A* 2008;146A:505-511.
- Ronan JL, Wu W, Crabtree GR. From neural development to cognition: unexpected roles for chromatin. *Nat Rev Genet* 2013;14:347-359.
- Vogel Ciernia A, LaSalle J. The landscape of DNA methylation amid a perfect storm of autism aetiologies. *Nat Rev Neurosci* 2016;17:411-423.

- 29) Nardone S, Sams DS, Reuveni E, et al. DNA methylation analysis of the autistic brain reveals multiple dysregulated biological pathways. *Transl Psychiatry* 2014;4:e433.
- 30) Wang YH, Griffith J. Methylation of expanded CCG triplet repeat DNA from fragile X syndrome patients enhances nucleosome exclusion. *J Biol Chem* 1996;271:22937-22940.
- 31) Jin P, Warren ST. Understanding the molecular basis of fragile X syndrome. *Hum Mol Genet* 2000;9:901-908.
- 32) Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, et al. Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nature Genetics* 1999;23:185-188.
- 33) Ricciardi S, Boggio EM, Grosso S, et al. Reduced AKT/mTOR signaling and protein synthesis dysregulation in a Rett syndrome animal model. *Hum Mol Genet* 2011;20:1182-1196.
- 34) Li Y, Wang H, Muffat J, et al. Global transcriptional and translational repression in human-embryonic-stem-cell-derived Rett syndrome neurons. *Cell Stem Cell* 2013;13:446-458.
- 35) Santini E, Klann E. Reciprocal signaling between translational control pathways and synaptic proteins in autism spectrum disorders. *Science Signaling* 2014;7:re10-re10.
- 36) Tsujimura K, Irie K, Nakashima H, et al. miR-199a links MeCP2 with mTOR signaling and its dysregulation leads to Rett syndrome phenotypes. *Cell Rep* 2015;12:1887-1901.
- 37) Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007;128:693-705.
- 38) Yun M, Wu J, Workman JL, et al. Readers of histone modifications. *Cell Res* 2011;21:564-578.
- 39) Mirabella AC, Foster BM, Bartke T. Chromatin deregulation in disease. *Chromosoma* 2016;125:75-93.
- 40) Kim JH, Lee JH, Lee IS, et al. Histone lysine methylation and neurodevelopmental disorders. *Int J Mol Sci* 2017;18.
- 41) Graff J, Tsai LH. Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. *Nat Rev Neurosci* 2013;14:97-111.
- 42) Pattaroni C, Jacob C. Histone methylation in the nervous system: functions and dysfunctions. *Mol Neurobiol* 2013;47:740-756.
- 43) Iwase S, Brookes E, Agarwal S, et al. A mouse model of X-linked intellectual disability associated with impaired removal of histone methylation. *Cell Rep* 2016;14:1000-1009.
- 44) Sudo G, Kagawa T, Kokubu Y, et al. Increase in GFAP-positive astrocytes in histone demethylase GASC1/KDM4C/JMJD2C hypomorphic mutant mice. *Genes Cells* 2016;21:218-225.
- 45) Katayama Y, Nishiyama M, Shoji H, et al. CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice. *Nature* 2016;537:675-679.
- 46) Gottlicher M, Minucci S, Zhu P, et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J* 2001;20:6969-6978.
- 47) Christensen J, Gronborg TK, Sorensen MJ, et al. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA* 2013;309:1696-1703.
- 48) Suren P, Roth C, Bresnahan M, et al. Association between maternal use of folic acid supplements and risk of autism spectrum disorders in children. *JAMA* 2013;309:570-577.
- 49) Barua S, Kuizon S, Chadman KK, et al. Single-base resolution of mouse offspring brain methylome reveals epigenome modifications caused by gestational folic acid. *Epigenetics Chromatin* 2014;7:3.
- 50) Kubota T, Miyake K, Hirasawa T. Epigenetic understanding of gene-environment interactions in psychiatric disorders: a new concept of clinical genetics. *Clin Epigenetics* 2012;4:1.

Abstract

The considerations for diagnosis of autism spectrum disorders and its pathogenic mechanisms

Hidekazu Kato, M.D.¹⁾ and Norio Ozaki, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Department of Psychiatry, Nagoya University Graduate School of Medicine

Autism spectrum disorder (ASD) is characterized by deficits in social interaction and social communication, along with restricted and repetitive sensory-motor behaviors. The diagnosis of ASD includes various phenotypes outlined in the American Psychiatric Association's Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-5. The comprehensive evaluation of each individual case with ASD is needed because many of them have comorbidity with number of neuropsychiatric disorders or somatic conditions. The growing number of genetic studies detected multiple rare variants with relatively large effect sizes. The results have revealed their common potential pathology including abnormal chromatin regulation, which induces epigenetic changes. More researches are expected to elucidate the pathogenesis of ASD and to develop therapeutic approaches.

(*Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol)* 2019;59:13-20)

Key words: autism spectrum disorder, diagnosis, genetic variant, histone modification, chromatin remodeling