

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5680964号
(P5680964)

(45) 発行日 平成27年3月4日(2015.3.4)

(24) 登録日 平成27年1月16日(2015.1.16)

(51) Int. Cl.		F I			
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	Z N A A
G O 1 N	33/53	(2006.01)	G O 1 N	33/53	D

請求項の数 2 (全 40 頁)

(21) 出願番号	特願2010-527310 (P2010-527310)	(73) 特許権者	510095374
(86) (22) 出願日	平成20年10月3日 (2008.10.3)		ザ ホスピタル フォー シック チルド
(65) 公表番号	特表2010-539958 (P2010-539958A)		レン
(43) 公表日	平成22年12月24日 (2010.12.24)		カナダ エム5ジー 1エックス8 オン
(86) 国際出願番号	PCT/CA2008/001767		タリオ トロント ユニバーシティ アベ
(87) 国際公開番号	W02009/043178		ニュー 555 스위트 5286
(87) 国際公開日	平成21年4月9日 (2009.4.9)	(74) 代理人	100077481
審査請求日	平成23年9月29日 (2011.9.29)		弁理士 谷 義一
(31) 優先権主張番号	60/960,572	(74) 代理人	100088915
(32) 優先日	平成19年10月4日 (2007.10.4)		弁理士 阿部 和夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/008,294		
(32) 優先日	平成19年12月20日 (2007.12.20)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 自閉症スペクトラム障害のためのバイオマーカー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

A S D 関連遺伝子 P T C H D 1 におけるゲノム配列の変異を同定する方法であって、
核酸含有試料を探索するステップと、

P T C H D 1 の発現を変化させる変異を同定するステップと、
を含み、

前記ゲノム配列の変異が、P T C H D 1 のエクソン 1 の少なくとも一部の欠失、又は、
前記ゲノム配列の変異が、配列番号 1 8 に示されたコードタンパク質に少なくとも 1 つ
のアミノ酸の置換を引き起こす、L 7 3 F、I 1 7 3 V、V 1 9 5 I、M L 3 3 6 - 3 3
7 I I および E 4 7 9 G からなる群から選択される P T C H D 1 における少なくとも 1 つ
のミスセンス変異、
であることを特徴とする方法。

【請求項 2】

A S D 関連遺伝子 P T C H D 1 によって発現する遺伝子産物の異常なレベルを決定する
方法であって、

タンパク質含有試料をスクリーニングするステップと、および、

前記遺伝子産物の少なくとも 1 つが、A S D ではない健康な個人での発現のレベルとは
異なるレベルで発現することを決定するステップと、を含むことを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

【0001】

本発明は、自閉症スペクトラム障害（ASD）用の遺伝子マーカーに関する。

【背景技術】

【0002】

自閉症は、社会的コミュニケーションにおける障害および反復行動を好むことを特徴とする、遺伝性の神経系発達障害である。自閉症は、明確な範疇に属する障害ではなく、広汎性発達障害（PDD）または自閉症スペクトラム障害（ASD）として定義される障害群の原型であり、アスペルガー障害、小児期崩壊性障害、特定不能の広汎性発達障害（PDD-NOS）およびレット症候群を含む。ASDは、女性と比較すると男性でおよそ4倍高い発症率を有し、あらゆる人種、民族および社会経済的背景の家系で診断される。全体的に見た自閉症の集団罹患率は、最新の概算では10,000人中20人までに近年上昇しており、全ての自閉症スペクトラム障害については10,000人中60人という高い発症率である。

10

【0003】

双子および家系のいくつかの疫学的調査から得られたデータにより、自閉症が重大かつ複雑な遺伝的病因を有するという実質的証拠が提供される。一卵性双生児における一致率は、60～90%であり（Bailey 1995）、罹患した発端者の同胞における再発率は、5～10%の間と報告されており（Jones & Szatmari 1988）、一般集団と比較して危険性が50倍上昇することを表している。自閉症スペクトラム障害は、もっとも遺伝的に複雑な障害の1つだが、遺伝的危険性は単純なメンデルの法則では明らかに導かれない。

20

【0004】

少数の症例（約10%）では、自閉症は、より広範なはっきりとした障害（例えば、脆弱X症候群、結節性硬化症）の一部であり、または細胞遺伝学的に検出可能な染色体異常に関連する。その上、微小欠失症候群（例えば、William-Beuren症候群およびSotos症候群）、およびその他のゲノム障害（例えば、Prader-Willi/Angelman症候群）を伴う自閉症の共罹患は、染色体の不均衡が、根本的な病因に関係していることを示唆している。もっとも頻繁に見られる細胞遺伝学的異常は、Prader-Willi/Angelman症候群に決定的な領域を含む、15q11-13（1～3%）の中間部の母系遺伝の重複である。第22染色体のq11.2およびq13.3領域中の欠失を有する多数の症例も存在する。22q11.2領域は、口蓋心臓顔面症候群に関係しており、22q13.3での欠失も臨床的に定義可能な症候群を表すようである。両欠失は、自閉症の表現型に関係する。ASDの症候性形態で観察される、より高頻度の現象を有する異常に関係する、その他の染色体遺伝子座には、7q（TCAG、www.chr7.orgを参照されたい）、2q37、5p14-15、17p11.2が挙げられる。さらに、William-Beuren症候群の欠失領域と重なる相互重複は、自閉症の表現型に関係している。

30

【0005】

全ゲノム連鎖解析により、ほとんど全ての染色体上に感受性遺伝子座の証拠が見出されており、7qがもっとも一貫した結果をもたらす。重要な連鎖を有するその他の遺伝子座には、2q（IMGSAC2001）、3q、およびごく最近では11p（AGP10K研究）が挙げられる。いくつかの症例では、7qのように、細胞遺伝学的異常と連鎖結果との間にかかなりのオーバーラップが存在する。しかし、15q11-13および22q13.3遺伝子座で見出された連鎖の欠如は、ASDにおけるかなりの不均一性を反映し、これらの再配列が、細胞遺伝学的に正常な患者の表現型に影響しない遺伝子を含む、特定のASD亜型に関与していることを示唆する。期待できる結果であるにもかかわらず、これらの連鎖ピーク内にある特異的遺伝子は、自閉症に関与しないことが明白に示された。

40

【0006】

ASDに関連する変異が、2つのニューロリギン（NLGN3およびNLGN4）遺伝子、およびより最近ではSHANK3において報告されている。しかし、これらはASDの稀な原因を説明するだけである。その他の遺伝子も関係してきたが、稀な現象を表すか

50

、他の研究によってまだ検証されていない。

【 0 0 0 7 】

まとめると、これらのデータは、実質的な遺伝的不均一性を示唆しており、非症候性の特発性 ASD のもっとも可能性の高い原因には、優位に相互作用する多数の遺伝子座が関与する。

【 0 0 0 8 】

大規模なコピー数多型 (CNV) の同定により、表現型の変異と、自閉症の家系での小さな遺伝性欠失と判明し、感受性遺伝子座の可能性も示唆する疾患感受性とに対して一因となる、ヒトゲノムにおける重要な遺伝子変異源が得られる。

【 0 0 0 9 】

個人における ASD の危険性の決定を容易にする ASD の遺伝子マーカーを同定し、さらに状態の診断に役立てることが所望される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【 0 0 1 0 】

【非特許文献 1】 Risi et al. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 2006;45(9):1094-103

【非特許文献 2】 Falush et al. Genetics 2003;164(4):1567-87

【非特許文献 3】 Pritchard et al. Genetics 2000;155(2):945-59

【非特許文献 4】 Kennedy et al. 2003 Nat Biotechnol. 21:1233-7

【非特許文献 5】 Li and Wong 2001 Genome Biology 2: 0032.1-0032.11

【非特許文献 6】 Nannya 2005 Cancer Res. 2005;65:6071-9

【非特許文献 7】 Komura 2006 Genome Res. 2006;16:1575-84

【非特許文献 8】 Zhao et al 2005 Cancer Res. 65:5561-70

【非特許文献 9】 Komura et al. Genome Res 2006;16(12):1575-84

【非特許文献 10】 Krawczak et al. Community Genet 2006; 9(1):55-61

【非特許文献 11】 Redon et al. Nature. 444:444-54

【非特許文献 12】 Nannya et al. Cancer Res 2005;65(14):6071-9

【非特許文献 13】 Pinto et al. Hum Mol Genet 2007;16 Spec No 2:R168-73

【非特許文献 14】 Iafrate et al. Nat Genet 2004;36(9):949-51

【発明の概要】

【 0 0 1 1 】

個人における ASD の危険性を評価するのに有用であり、状態の診断にも有用ないくつかの遺伝子マーカーが、現在、同定されている。マーカーは、個々においても、ASD の危険性について個人をスクリーニングするためのマイクロアレイの形態においても、有用である。

【 0 0 1 2 】

したがって、本発明の一態様では、PTCHD1 をコードする遺伝子について、個人から得た核酸含有試料を探索するステップであって、前記遺伝子が、エクソン 1 の少なくとも一部分の欠失を含むとの決定により、その個人における ASD の危険性を示すステップを含む、個人における ASD の危険性を決定する方法を提供する。

【 0 0 1 3 】

本発明の別の態様では、PTCHD1、SHANK3、NFIA、DPP6、DPP10、GPR98、PQBP1、ZNF41 および FTSJ1 からなる群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現を変化させる変異について、個人から得た核酸含有試料を探索するステップであって、前記遺伝子の少なくとも 1 つの発現を変化させる変異を同定することにより、ASD の危険性を示すステップを含む、個人における ASD の危険性を決定する方法を提供する。

【0014】

本発明の別の態様では、

P T C H D 1、S H A N K 3、N F I A、D P P 6、D P P 1 0、G P R 9 8、P Q B P 1、Z N F 4 1およびF T S J 1からなる群から選択される遺伝子によって発現する、少なくとも1つの遺伝子産物の異常なレベルについて、個人から得た生体試料をスクリーニングするステップであって、前記遺伝子産物の少なくとも1つが、A S Dではない健康な個人におけるレベルとは異なるレベルで発現するとの決定により、A S Dの危険性を示すステップ

を含む、個人におけるA S Dの危険性を決定する方法を提供する。

【0015】

本発明のさらなる態様では、

P T C H D 1の発現を変化させる、ゲノムの配列の変異について、個人から得た核酸含有試料をスクリーニングするステップ

を含む、個人におけるA S Dの危険性を決定する方法を提供する。

【0016】

本発明のこれらの態様およびその他の態様は、以下の図を参照することにより説明する。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】A S D特異的C N Vを同定するために用いる方法論を描いたフローチャートである。

【図2】表3に記載のように、A S D特異的C N Vのゲノム全域分布を示す図である。

【図3】自閉症染色体再配列データベースで描かれているような、染色体16p11.2領域を示す図である。

【図4】多数の新規の現象を有する発端者(a)、S H A N K 3遺伝子における再構成(b)、女性保因者由来のX染色体の(P T C H D 1での)欠失(c)、または関係のない新規の欠失に加えて遺伝性の転座(d)を有する発端者、D P P 6遺伝子座での、関係のない発端者における、新規(e)または遺伝性(f)のいずれかのオーバーラップ現象、および関係のない発端者における、染色体16p11.2での増加(h)または減少(g)のいずれかの再発性の新規の現象を含む、A S Dの家系で観察されたC N Vの例を示す図である。

【図5】D P P 6およびD P P 1 0のA S D関連C N Vの例を示す図である。

【図6】染色体22q11.2および16p11.2のA S D関連C N Vの例を示す図である。

【図7A-1】P T C H D 1遺伝子のc D N A配列を示す図である。

【図7A-2】P T C H D 1遺伝子のc D N A配列を示す図である。

【図7B】P T C H D 1遺伝子のアミノ酸配列を示す図である。

【図8】表7において同定されたA S D関連のミスセンス変異を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0018】

P T C H D 1、S H A N K 3、N F I A、D P P 6、D P P 1 0、D P Y D、G P R 9 8、P Q B P 1、Z N F 4 1およびF T S J 1からなる群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現を変化させることができる変異について、個人から得た生体試料をスクリーニングすることを含む、個人における自閉症スペクトラム障害(A S D)の危険性を決定する方法を提供する。かかる遺伝子は、本明細書では「A S D関連」遺伝子と呼ぶ。

【0019】

「自閉症スペクトラム障害」または「A S D」の用語は、本明細書では、自閉症、アスペルガー障害、小児期崩壊性障害、特定不能の広汎性発達障害(P D D - N O S)およびレット症候群(A P A D S M - I V 2 0 0 0)などの個人の発達遅延を引き起こす、少なくとも1つの状態を呼ぶのに用いる。

10

20

30

40

50

【0020】

個人におけるASDの危険性を決定する本方法では、個人から得た生体試料を利用する。適切な生体試料には、例えば、核酸含有試料またはタンパク質含有試料を挙げることができる。適切な生体試料の例には、唾液、尿、精液、その他の体液または分泌物、上皮細胞、頬細胞、髪などが挙げられる。非観血的に得た、かかる生体試料が本方法での使用に好ましいが、当業者は、例えば、血液、血清、骨髄、脳脊髄液(CSF)、ならびに小脳、脊髄、前立腺、胃、子宮、小腸および乳腺試料由来の組織などの組織生検を含む、観血的に得た生体試料も、本方法で使用できることを理解されよう。かかる試料を得る観血的な方法についての技法は、当業者に知られている。本方法は、羊水および絨毛膜絨毛などの適切な生体試料を使用する、ASDの危険性のための出生前検査に利用することもできる。

10

【0021】

一態様では、ASDに関連する変異を検出するために、選択した遺伝子をコードする核酸について、生体試料をスクリーニングする。試料をスクリーニングする前に、生体試料から核酸を抽出することが必要または好ましい場合がある。核酸の抽出方法は、当業者によく知られており、フェノールクロロホルム(Sambrookら、1989)、グアニジン含有溶液またはCTAB含有緩衝液を利用する化学的抽出技法が挙げられる。なお、便宜上、市販のDNA抽出キットも、実験用試薬供給会社から幅広く入手でき、例えば、QIAGEN(Chatsworth, CA)から入手できるQIAGEN DNA血液ミニキットまたはSigma(St. Louis, MO)から入手できるExtract-N-Amp血液キットが挙げられる。

20

【0022】

適切な核酸試料を得た後、ASDを示す遺伝的変異、すなわちASD関連変異を検出するために、以下の具体的な実施例に記載されている方法などの、十分に確立したスクリーニング方法に試料を掛ける。DNAセグメント、例えば、約300と500kbの間のDNAセグメントなどの、約1kbより大きいDNAセグメントの増加および欠失を含む、ゲノムのコピー数多型(CNV)などの変異、ならびに遺伝子のコード領域および調節領域の両方での配列変異を含む、ナンセンス変異、ミスセンス変異およびプライス部位変異などの塩基対変異が、ASDを示すことが判明した。

【0023】

CNVなどのASD関連変異は、1本の染色体に制限されず、むしろX染色体、第15染色体および第21染色体などの多数の染色体上、ならびにXp11およびXp22などでの同じ染色体の様々な領域上でも検出されている。ASDに関連することを決定したCNVの例には、PTCHD1遺伝子のエクソン1の少なくとも一部分を含む、染色体Xp22上の欠失、染色体15q11上の重複、およびSHANK3遺伝子内での欠失が挙げられる。

30

【0024】

異なる遺伝子における様々なタイプのゲノム配列変異が、ASDを示すものとして同定された。105kbのイントロンの増加などのイントロンの増加、および478kbのエクソンの減少などのエクソンの減少は、共に表1でより具体的に特定されているが、これらを含むDPP10遺伝子におけるCNVを同定し；エクソン2および3を含む66kbの減少、ならびにDPP6遺伝子全体を含むCNV、270kbのエクソンの増加(エクソン1)、および16kbのイントロンの増加などの増加など、DPP6遺伝子におけるCNV(表1を参照されたい)；276kbの減少などのSHANK3遺伝子におけるCNV；遺伝子全体の減少などのDYPD遺伝子におけるCNVを同定した。

40

【0025】

一実施形態では、PTCHD1の発現を阻害するゲノム配列変異が、ASDに関連している。「発現を阻害する」という専門用語は、転写および/または翻訳、ならびにPTCHD1タンパク質の活性のいずれか1つを、阻害または少なくとも低下させることができる配列変異を幅広く呼ぶ。例えば、PTCHD1タンパク質の発現を少なくとも低下させ

50

る結果を引き起こす、コード領域の大きな欠失を含む、PTCHD1遺伝子におけるCNVが、ASDを示すことが判明した。CNVは特に制限されないが、CNVの欠失には、例えば、エクソン1の少なくとも一部分を含んでもよいが、さらに、全体的もしくは部分的なイントロン1、またはその上流領域の一部もしくは複数部分などの周辺領域も含むことができる。

【0026】

CNV以外のゲノム配列変異もASDを示すことが判明したが、その変異には、例えば、タンパク質の発現にも影響し得る、タンパク質におけるアミノ酸の変化を引き起こすミスセンス変異が挙げられる。一実施形態では、ASDを示す、PTCHD1遺伝子におけるミスセンス変異が同定されており、Ptchd1タンパク質における次のアミノ酸の置換：L73F、I173V、V195I、ML336-337IIおよびE479Gを引き起こすミスセンス変異が挙げられる。

10

【0027】

個人におけるASDの危険性を決定するために、前述に示すようなCNVおよびその他の変異を含む、多数のゲノム変異について、アレイ技術を適用して、スクリーニングすることが有利である場合がある。この点に関して、具体的な実施例で本明細書に例示するような十分に確立した技術を用いるゲノムのシーケンシングおよびプロファイリングを、評価対象の個人から得た適切な生体試料を用いて、ASDの危険性/診断についてその個人に対して実施することができる。ASDに関連する1つまたは複数の変異を同定することにより、ASDの危険性が示されると思われ、またはASDの診断を示すことができる。この解析は、評価されている個人の、例えば表現型特性を含む他の特性の評価と組み合わせて、実施することができる。

20

【0028】

ASDに関連する遺伝子変異の決定を考慮して、ASD関連遺伝子変異の産物の発現または活性を、個人から得たタンパク質含有生体試料において決定する、個人におけるASDの危険性を決定するための方法も提供する。遺伝子産物の異常なレベル、またはその活性の異常なレベル、すなわちASDではない健康な個人に存在するレベルと比較して低下または上昇したレベルは、ASDの危険性を示し、またはASDを示すことができる。したがって、PTCHD1、SHANK3、NFIA、DPP6、DPP10、DYPD、GPR98、PQBP1、ZNF41およびFTSJ1の1つまたは複数の遺伝子産物のレベルおよび/または活性の決定は、個人におけるASDの危険性の決定、またはASDの診断に用いることができる。当業者であれば理解されるように、選択した遺伝子産物の存在および/または活性を同定および定量化するために、標準的アッセイを用いることができる。

30

【0029】

本発明の実施形態を、以下の具体的な実施例を参照することにより説明するが、これを限定的であると解釈すべきではない。

【実施例1】

【0030】

DNA試料および集団の構造

40

本研究には426人のASDの家系が含まれていた。全ての発端症例は、自閉症診断面接改訂版(ADI-R)および自閉症診断観察スケジュール(ADOS)基準を満たすか、臨床の最良推定値(例えば非特許文献1参照)を満たした。これらのうち32人が、細胞遺伝学的な染色体再構成を保因した。18人は、トロントのHospital for Sick Childrenの小児診断センターおよびニューファンドランド州のセントジョンズに由来する412試料のうち328試料を核型分析することにより検出され、14人は、核型異常を保因することがすでに分かっていた(この32人の患者の情報については表1を参照されたい)。罹患した、および罹患していない同胞も評価し、56%(237/426)がASDを有する1人の子供(単一性)を有し、44%(189/426)がASDを有する2人以上の子供(多重性)を有した。ほとんどの症例を脆弱X染色

50

体変異についてスクリーニングし(75%)、検出された場合、その人たちは本研究に含めなかった。ほとんどの実験を、血液のゲノムDNAで行い(80%)、そうでない場合は、例えばリンパ芽球細胞系の細胞系をソースにした。集団の祖先を、STRUCTURE(非特許文献2、非特許文献3)を使用して評価した。

【0031】

【表 1】

試料 ID	表現型 / 家系型	細胞遺伝学的解析	CNV解析		位置	ASISif	参照配列遺伝子	コメント
			CNV	大きさ (bp)				
1	単一性家系 ASD 発達性統合運動障害	46,XX,t(2;6)(q32;p22) 不明	2p11.2 6p21.33 11p13 18q21.33 14q11.2 14q32.33	減少 増加 増加 減少 増加 減少	917,200 54,600 54,200 28,200 549,300 64,000	No/NS Yes/NS No/NS No/NS No/NS No/NS	既知遺伝子なし ZNRD1, PPP1R11, RNF39, TRIM31 SIC142 既知遺伝子なし 既知遺伝子なし 既知遺伝子なし 既知遺伝子なし	NFLD
2	単一性家系 ASD 操作性障害、 肥満、大頭蓋症	46,XX,t(4;5)(q21;q13) 不明	4q21.3	減少	602,914 エラニー ハイパーリ ンクの参照は 有効ではない	No/NS	連伝子10個	
3	単一性家系 ASD 粘膜炎下口蓋裂、 全般的発達遅延、 大耳症、狭い顔、 先細の指、 重度外反偏平足	46,XX,der(22)t(14;22)(q32;q13)pat 遺伝性	5q14.2-q14.3; 8q20.0-678 91,285-973	増加 増加 増加	448,146 223,579 650,430	No/NS No/NS No/NS	FAM65B, DEFB130, LOC4440053 0個連伝子8個 既知遺伝子なし	NFLD
			9q32 14q32.33 15q13.3 22q13.31 -q31.33	増加 増加 増加 減少	498,000 1,435,000 502,500 3,231,700	No/NS No/NS No/NS Yes/NS	LOC289765, POTEF5, OR4M2, OR4M4 連伝子7個 連伝子8個 CHRMA7 連伝子40個 + SHANK3	NFLD 罹患していないADHDの 同胞は、46,XX, der(14)(q22) (q32;q13)を有する。

【 0 0 3 2 】

10

20

30

40

【表 2】

4	SK0043-003 (72309)	単一性家系 ASD	47,XX, 環状染色体 1 新規	ONV を参照	ONV を参照	既知遺伝子なし	1q22.3	増加	23,983	87,417,351-87,441,344	Yes/NS	既知遺伝子なし														
							1q21.2-q21.3	増加	1,451,926	148,095,537-149,547,463	Yes/S	遺伝子 36 個														
							9p26.1	減少	44,456	5,365,509-5,409,964	Yes/S	既知遺伝子なし														
							4p13	増加	95,506	44,762,986-44,858,504	Yes/S	既知遺伝子なし														
							4q33	減少	82,224	171,715,627-171,797,851	Yes/NS	既知遺伝子なし														
							5q31.3	減少	355,649	140,658,656-141,014,307	Yes/NS	遺伝子 6 個														
							9p12.3	増加	13,950	46,952,172-46,976,073	No/NS	GPR116														
							7p14.1	減少	102,868	38,041,635-39,144,574	No/NS	STAR3NL, TARP														
							7c34	減少	169,191	141,813,948-141,893,139	No/NS	PRSS1														
							14q11.2	減少	593,149	21,455,546-22,038,694	No/S	既知遺伝子なし														
							15q11.2	減少	1,632,769	18,427,103-20,058,872	No/S	LOC263755, POTE15, OR4M2, OR4M4														
							17q21.31	減少	140,746	41,570,665-41,711,411	No/NS	KIAA1267														
							5	SK0044-003 (50067)	単一性家系 ASD	46,XY, der(13;15)(q10;q10),mat 遺伝性	1931.1 : 72,095,578 72,163,007	- -	既知遺伝子なし	7p14.1	増加	85,900	39,828,000-39,913,900	No/NS	CDC2L5							
														6	SK0182-003 (52065)	単一性家系 ASD	46,XY,(19)(q25;p13) 遺伝性	1q24.2: 167,452,268 167,622,136	-	既知遺伝子なし	2p24.3	増加	15,100	14,304,500-14,319,600	No/NS	既知遺伝子なし
7	SK0335-003 (72815)	単一性家系 ASD, 精神遅延	46,XX,t(2;10)(q22;q22.3) 不明	2q23.1: 148,838,284 149,125,517	-	既知遺伝子なし															14q11.2	増加	288,100	19,204,300-19,492,400	No/S	遺伝子 6 個
																					2q13.3	増加	374,900	70,152,800-70,527,600	Yes/NS	遺伝子 6 個
																					3c29	増加	45,033	183,522,636-183,695,699	No/NS	MUC20, MUC4
																					5p13.1	減少	272,618	38,534,384-38,807,002	Yes/S	LIFR
																					6p21.32	増加	162,800	32,344,096-32,506,919	Yes/NS	C6orf10, BTNL2
																					8p23.1	増加	21,783	12,264,020-12,286,408	No/NS	既知遺伝子なし
																					9c32	増加	22,603	114,153,000-114,175,000	No/S	ORM1, ORM2

10

20

30

40

【表 3】

8	SK0126-003 (58144)	多重性家系 ASD	46,XY,t(2;1)(p11.2;q13.3)pat 遺伝性	2p11.2 68,117,655 86,158,494 11q23.1 64,821,333 64,851,265	既知遺伝子なし POLA2, CDC42EP2, DPP2	14q11.2 18q11.2 16p11.2-11.1 17q21.31 20p12.1	増加 増加 増加 増加 減少	331,503 1,516,065 266,336 201,731 27,500	21,717,112-22,048,615 16,427,100-19,943,185 34,325,041-34,591,377 41,578,102-41,719,833 14,873,800-15,081,300	No/S No/S No/NS No/S Yes/S	既知遺伝子なし LOC233755, POTE15, OR4N2, OR4N4 既知遺伝子なし KIAA1267 C20orf133	その他のもの カナダ人家系
				3p25.1-3p24: 入手不能 3q24: 入手不能 5p14.3 19,825,926 19,893,410		3p25.1-3p24.3 5p15.31-5p15.2 5q16.1 7p14.1 10q11.22 12p11.21 12q12 14q11.2 14q32.33	減少 増加 減少 増加 減少 増加 減少 増加 増加	1,409,600 55,000 3,429,389 60,058 35,243 455,130 83,728 22,269	15,125,800-16,535,400 78,902,000 78,957,000 9,275,811 12,705,200 55,556,287-55,616,345 38,086,725-38,131,669 47,030,116 31,904,352-31,968,050 40,584,198 41,007,040 21,584,228 106,223,861-106,246,130	Yes/S Yes/S Yes/S No/S No/S No/S Yes/S No/S No/NS No/S Yes/NS No/NS Yes/S	連伝子 12 個 ROBC1 連伝子 8 個 既知遺伝子なし 既知遺伝子なし ANKK9 既知遺伝子なし YAF2, ZORBI 既知遺伝子なし 既知遺伝子なし LOC233755, POTE15, OR4N2, OR4N4 既知遺伝子なし KIAA1767 KIAA1928, C18orf10, PHOCS3	Harvardらによる文献1 で以前に報告されている。 Harvardらとの文献で は、BAC GH を用いて 3p25.1, 5p15.31-p-5.2 および18q12.2の欠失を 同定した。 ここでは SNP を用いて 欠失の大きさを正確に 測った。 以上の3種類 ASD を 有するが、正常な 48, XX の類型を有する。 発症年齢を有する 発症の原因および ダウン症候群を有する 母の存在。
9	SK0152-003 (415481)	多重性家系 ASD, 口部運動失行症、 平衡性および 協調性の不足、 軽度低血圧症、 蹠趾歩行、 重度言語遅延、 中等度知的障害、 猫鳴き症候群の いくつかの簡の 特徴	46,XY,t(5;7)(p15p13) 新規	7p13, 48,618,434-48,733,542	既知遺伝子なし	14q11.2 14q32.33	増加 増加	491,397 22,269	21,584,228 106,223,861-106,246,130	No/S No/S	既知遺伝子なし 既知遺伝子なし	その他のもの カナダ人家系
				46,XY,t(2;1)(p11.2;q13.3)pat 遺伝性		4p15.3 12,173,445 12,335,572	4p15.3 12,173,445 12,335,572	減少 増加 減少	1,632,718 91,432 219,797 816,914	16,446,422-20,078,140 63,860,341 41,500,036-41,719,833 32,174,051-32,990,975	Yes/NS Yes/NS Yes/NS Yes/S	既知遺伝子なし LOC233755, POTE15, OR4N2, OR4N4 既知遺伝子なし KIAA1767 KIAA1928, C18orf10, PHOCS3
10	SK0105-003 (271551)	多重性家系 ASD、 主に非言語性、 深刻な発達遅延	46,XY,nv(4)(p12;p15.3)mat 遺伝性	4p15.3 12,173,445 12,335,572	既知遺伝子なし GARG1 (ブレイクポイント領域は イントロン7中に位置する。)	10q11.21 13q14.2 16q21	増加 増加 減少	1,086,400 162,300 56,600	41,956,500-43,044,800 47,414,000 47,577,100 61,854,900-61,911,500	Yes/NS Yes/NS Yes/NS Yes/NS	既知遺伝子なし RASGEF1A, BMS1L, ZNF11B, MGC16297, GALMCT2 MED4, RUD115, SUCL2 既知遺伝子なし	SK Vicentらの文献2で 以前に報告されている。 報告した兄弟、 兄弟は罹患していない 母親および罹患して、 兄弟の母親はまで同じ 遺伝子を有する。

10

20

30

40

【表 5】

15	SK0043-003 (32346)	多重性家系 ASD	46,XY,(6,8)(q10;q12) 不明	8q11.2-q12 83,404,492 53,511,410 9q21.11 68,690,062 69,692,365 69,278,457	既知遺伝子なし	8q23.2	減少	52,000	111,162,000 11,214,000	No/NS	既知遺伝子なし	SK0145-003
				9p21.3		減少	4,200	25,073,500 25,082,100	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				11q25		増加	369,000	133,855,000 184,224,000	No/S	既知遺伝子なし		
				12q21.33		増加	19,700	93,897,400 93,897,400	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				13q21.32		減少	2,500	65,576,300 65,576,800	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				8p23.2		減少	35,040	3,984,180- 4,019,230	No/NS	CSMD1		
				15q11.2		増加	1,713,200	18,376,200 20,089,400	No/S	LC263749, POTYS, CRMM2, DR4M4		
				3p14.1 p13		減少	5,346,900	65,286,300- 70,633,200	Yes/S	遺伝子 13 個		
				4q28.3		減少	254,000	135,282,000 135,596,000	No/NS	既知遺伝子なし		
				1q31.1		減少	15,000	186,702,000 186,717,000	No/S	既知遺伝子なし		
				2p23.3		増加	26,800	25,136,000- 25,164,300	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				4q35.2		増加	21,314	188,252,000 188,253,914	Yes/S	既知遺伝子なし		
				6p24.2		増加	188,300	11,478,600 11,668,100	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				7q31.31 q31.31		減少	11,023,806	108,200,380- 119,223,887	Yes/S	> 遺伝子 50 個		
				7q36.2		減少	26,297	132,027,450- 132,053,747	Yes/NS	既知遺伝子なし		
8q24.21	増加	48,000	137,651,000 137,999,000	Yes/NS	既知遺伝子なし							
10p11.23	増加	26,700	30,693,400 30,920,100	Yes/NS	既知遺伝子なし							
14q11.2	減少	219,456	19,272,965- 19,492,423	No/S	CRKY, CRAN2, CR401, CRK3, CRQ3, DRK2							
17q21.31	減少	117,521	40,891,617- 41,016,198	No/NS	PLEKH1							
2p22.2	増加	67,740	37,848,392- 37,915,872	No/NS	既知遺伝子なし							
3p21.31	増加	52,599	147,754,086- 147,805,667	Yes/NS	CCR5, CGRLA, CCR2							
4q31.21	増加	120,171	145,146,000- 145,266,171	No/S	GYPE							
7p14.1	増加	147,076	33,086,725- 33,243,601	No/NS	AMPH							
7q31.31- q32.2	減少	15,456,721	113,355,000- 128,821,721	Yes/S	> 遺伝子 50 個							
8q13.3	増加	261,985	72,881,221- 73,143,206	Yes/NS	MSC, TRPA1							
10q11.22	増加	455,100	47,030,100 47,485,200	No/NS	ANXA8							
10q26.2	増加	91,077	128,501,014- 128,592,091	Yes/S	DOCK1							
17	SK0181-004 (32191)	単一性家系 ASD	46,XY,(6;14)(q13;q21) 新規	7q31.1 106,772,363 106,337,804	既知遺伝子なし	1q31.1	減少	15,000	186,702,000 186,717,000	No/S	既知遺伝子なし	SK
				2p23.3		増加	26,800	25,136,000- 25,164,300	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				4q35.2		増加	21,314	188,252,000 188,253,914	Yes/S	既知遺伝子なし		
				6p24.2		増加	188,300	11,478,600 11,668,100	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				7q31.31 q31.31		減少	11,023,806	108,200,380- 119,223,887	Yes/S	> 遺伝子 50 個		
				7q36.2		減少	26,297	132,027,450- 132,053,747	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				8q24.21		増加	48,000	137,651,000 137,999,000	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				10p11.23		増加	26,700	30,693,400 30,920,100	Yes/NS	既知遺伝子なし		
				14q11.2		減少	219,456	19,272,965- 19,492,423	No/S	CRKY, CRAN2, CR401, CRK3, CRQ3, DRK2		
				17q21.31		減少	117,521	40,891,617- 41,016,198	No/NS	PLEKH1		
				2p22.2		増加	67,740	37,848,392- 37,915,872	No/NS	既知遺伝子なし		
				3p21.31		増加	52,599	147,754,086- 147,805,667	Yes/NS	CCR5, CGRLA, CCR2		
				4q31.21		増加	120,171	145,146,000- 145,266,171	No/S	GYPE		
				7p14.1		増加	147,076	33,086,725- 33,243,601	No/NS	AMPH		
				7q31.31- q32.2		減少	15,456,721	113,355,000- 128,821,721	Yes/S	> 遺伝子 50 個		
8q13.3	増加	261,985	72,881,221- 73,143,206	Yes/NS	MSC, TRPA1							
10q11.22	増加	455,100	47,030,100 47,485,200	No/NS	ANXA8							
10q26.2	増加	91,077	128,501,014- 128,592,091	Yes/S	DOCK1							
18	SK0131-003 (39969)	単一性家系 自閉症の特徴、発話言語障害 (発音性言語統合運動障害)、異形座頭動脈運送遅延、咳/くしゃみ/笑うことが困難な、 <i>etc.</i>	46,XX,(6)(q31.2;q32)(D7S486-D7S523)新規,W6S inv-2 新規	7q31.1 113,181,975 113,518,235 7q32.2 128,540,690 128,796,716	FCXP2, MDFC, TPEC, TES, CAV2, CAV1, <i>etc.</i> , IRF5, TNPO3, TSPAN3, SMO, FAM49B, KIAA028	7q21.31	増加	67,740	37,848,392- 37,915,872	No/NS	既知遺伝子なし	その他のもの カナダ人家系 Four- <i>ら</i> の文脈 ³ で以前に報告されている。
				3p21.31		増加	52,599	147,754,086- 147,805,667	Yes/NS	CCR5, CGRLA, CCR2		
				4q31.21		増加	120,171	145,146,000- 145,266,171	No/S	GYPE		
				7p14.1		増加	147,076	33,086,725- 33,243,601	No/NS	AMPH		
				7q31.31- q32.2		減少	15,456,721	113,355,000- 128,821,721	Yes/S	> 遺伝子 50 個		
				8q13.3		増加	261,985	72,881,221- 73,143,206	Yes/NS	MSC, TRPA1		
				10q11.22		増加	455,100	47,030,100 47,485,200	No/NS	ANXA8		
				10q26.2		増加	91,077	128,501,014- 128,592,091	Yes/S	DOCK1		

10

20

30

40

【表6】

19	SK0002-003 (53002)	単一性家系 ASD、精神病	46,XX,inv(7)(p15.3,q22.1) 不明	7q21.1: 18,284,397-18,302,397	13q21.33	減少	44,235	66,634,065-69,678,500	No/NS	既知遺伝子なし	その他のもの 非カナダ人家系	
				7q22.3: 104,350,659-104,549,945	14q11.2	減少	222,786	19,272,965-19,495,751	No/NS	DRK1, OR4M2, OR4M1, OR4K3, DR2G3, OR4K2		
				7q21.3: 96,943,657-96,985,683	14q11.2	増加	637,249	21,462,468-22,089,715	No/S	既知遺伝子なし		
				7q22.3: 104,350,659-104,549,945	15q11.2	増加	1,962,280	18,427,103-20,069,383	No/NS	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4		
				7q21.3: 96,943,657-96,985,683	17q12	増力	29,984	31,471,515-31,501,489	No/NS	既知遺伝子なし		
				7q21.3: 96,943,657-96,985,683	22q11.22	増加	810,876	20,772,047-21,587,873	No/NS	遺伝子6個		
				7q21.1: 18,284,397-18,302,397	4q28.3	増加	785,000	132,165,000-132,980,000	No/S	既知遺伝子なし		
				7q22.3: 104,350,659-104,549,945	5p15.1-15.2	増加	239,100	14,640,400-15,179,500	No/S	既知遺伝子なし		
				7q21.3: 96,943,657-96,985,683	15q11.2	増加	1,713,200	18,376,200-20,089,400	Yes/S	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4		
				7q21.3: 96,943,657-96,985,683	7q22.1	増加	379,000	100,393,000-100,772,000	No/NS	遺伝子10個		
20	SK0211-003 (54882)	単一性家系 ASD、軽度の乳癌上昇	46,XX,inv(7)(q22q34)mat 連伝性	7q34: 140,958,207	9p21.1	減少	185,100	30,408,400-30,548,500	No/NS	既知遺伝子なし	その他のもの 非カナダ人家系 母親および罹患して いない双子を母として 妊娠を申し、7q34の フレイクポイントが ASDの軽度の発症と オーバーラップする。	
				7q34: 140,958,207	TAS2R4, TAS2R5							
				7q15.3: 21,825,126-21,866,186	既知遺伝子なし							
				6q22.2: 99,652,289-99,823,618	STK3							
				10q26: 177,695,179-131,395,091	複数遺伝子							
				11q23: 109,879,883-111,597,978	複数遺伝子							
				7q15.3: 21,825,126-21,866,186	既知遺伝子なし							
				6q22.2: 99,652,289-99,823,618	STK3							
				10q26: 177,695,179-131,395,091	複数遺伝子							
				11q23: 109,879,883-111,597,978	複数遺伝子							
21	SK0040-006 (58709)	多重性家系 ASD, ADHD, 重度不安発作、発作、微細および相雑な運動技能の困難	46,XY,(7;6)(p16;q22), (10;11)(q26;q23) 不明	7q15.3: 21,825,126-21,866,186	2q37.3	減少	95,959	242,634,423-242,730,392	No/S	既知遺伝子なし	その他のもの 非カナダ人家系 正常な女性の細胞を 有する罹患していない 姉妹は、いくつかの 姉妹の同僚、増加 および相雑な運動技能 の困難、重度不安発作 を申し、同僚と関わる ことができます、発症に 動機する。	
				7q15.3: 21,825,126-21,866,186	10q21.3	減少	144,803	67,734,600-67,878,500	No/S	CTNMA3		
				6q22.2: 99,652,289-99,823,618	11q22.3	減少	63,995	104,729,486-104,782,481	No/NS	既知遺伝子なし		
				10q26: 177,695,179-131,395,091	14q11.2	増加	218,458	18,272,965-19,492,423	No/NS	OR4K2, OR4M2, DRK1, OR4R5		
				11q23: 109,879,883-111,597,978	14q11.2	増力	224,329	21,784,072-22,009,401	No/NS	既知遺伝子なし		
				7q15.3: 21,825,126-21,866,186	15q11.2	増力	1,962,280	18,427,103-20,069,383	No/S	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4		
				10q26: 177,695,179-131,395,091	22q11.22	減少	515,845	21,031,117-21,546,762	No/NS	PRAME, SHHW2, SUHW1, GGT4		
				11q23: 109,879,883-111,597,978	22q11.23	増力	269,129	23,875,202-24,244,331	No/S	CTA, LRP5L		
				7q15.3: 21,825,126-21,866,186	10p56.11	増力	182,800	26,231,800-26,424,100	Yes/NS	遺伝子6個		
				10q26: 177,695,179-131,395,091	20q24.2	増力	14,233	17,416,365-17,430,589	Yes/NS	既知遺伝子なし		
22	SK0145-003 (67856)	単一性家系 ASD	46,XX,(7;11)(q51;q25)mat 連伝性	7q31.2: 14,579,160-14,611,613	3p23	増力	28,509	34,824,620-34,873,129	Yes/NS	既知遺伝子なし	その他のもの カナダ人家系	
				7q31.2: 14,579,160-14,611,613	既知遺伝子なし							
				11q26: 133,882,647	既知遺伝子なし							

10

20

30

40

【表 7】

23	SK0031-003 (60340)	単一性家系 ASD, ごく少ない言葉数, 全般的発達遅延	46,XY,(7)(13)(q31.3,q31.1)mat 遺伝性	134,001,155	5p15.33	増加	3,020,476	185,712-3,195,188	Yes/NS	遺伝子 28 個	見かけ上正常していない時期は、同じ 7q81.2 および 11q25 の フライクポイントを有する。
					6p22.2	増加	25,841	25,576,804-25,802,645	Yes/NS	LRRCP16	
					7p14.1	増加	20,412	37,484,988-37,515,411	No/NS	既知遺伝子なし	
					8q13.3	増加	28,933	72,811,162-72,840,085	Yes/NS	MSC	
					10p12.1	減少	86,951	27,642,965-27,741,526	No/S	PTCHD3	
					12p12.3	増加	37,831	18,655,838-18,899,684	No/NS	既知遺伝子なし	
					14q11.2	増加	464,328	21,351,281-22,016,220	No/NS	既知遺伝子なし	
					15q23.2	増加	435,603	70,053,228-70,485,831	Yes/NS	遺伝子 9 個	
					18q13.43	増加	308,600	63,478,500-63,785,100	Yes/NS	遺伝子 18 個	
					5p13.2	減少	3,000	38,483,600-38,498,800	Yes/NS	既知遺伝子なし	
					6p22.1-21.33	増加	79,000	29,987,200-30,048,600	No/NS	HLA-A	
					9p23	減少	112,300	11,895,600-12,008,400	No/NS	既知遺伝子なし	
					14q32.2	増加	772,400	89,015,100-89,787,500	Yes/S	遺伝子 8 個	
24	SK0073-003 (572831)	単一性家系 ASD, 発達遅延, 表出性および受容性言語遅延	47,XX,del(15)(q13) 新規	13q21.1; 54,558,087-54,738,454	15q11.2	増加	1,378,000	18,711,400-20,089,400	No/S	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4	その他のもの 非力ノミ家系
					17q21.31	増加	597,300	41,668,000-42,166,300	No/NS	遺伝子 8 個	
					22q11.23	増加	251,200	23,888,000-24,240,200	No/S	GTA-246/43.1, LRPSL	
					10q25.2	増加	424,008	176,522,000-176,946,000	Yes/NS	遺伝子 6 個	
					2p23.3	増加	703,500	24,701,300-25,404,800	Yes/NS	遺伝子 7 個	
					4p16.3	増加	997,460	1,692,240-2,098,700	Yes/NS	遺伝子 12 個	
					4q35.1	増加	311,000	185,656,000-186,167,000	Yes/NS	CASP3, CDC411, MFLIP, ACSL1	
					5q31.1	増加	83,000	134,426,000-134,519,000	Yes/S	既知遺伝子なし	
					9p21.1	減少	362,900	30,452,800-30,815,700	Yes/NS	既知遺伝子なし	
					14q11.2	増加	414,900	21,860,700-22,075,600	No/NS	既知遺伝子なし	
					15q11.2-13.3	増加	11,922,800	18,376,200-30,298,800	Yes/S	> 遺伝子 50 個	
					18p11.2	増加	1,543,800	28,082,200-28,606,100	No/NS	> 遺伝子 20 個	
					19p11.2	増加	558,600	30,589,900-31,248,500	No/NS	> 遺伝子 20 個	
25	SK0218-003 (60340)	多重性家系 ASD, 内服薬, 軽度の顔面地形疹, 心臓病	48,XX,del(18)(q21) 新規	16q21.32; 55,690,396-55,884,029	12p13.33	減少	82,328	1,760,084-1,862,412	Yes/S	CACNA2D4, ADIPOF2, LRTA2	SK 自閉症発症伴認知力 データベースに 認められるように、 18qが腫大する異常な
					15q11.2	減少	1,613,450	18,448,422-20,058,872	No/S	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4	
					19q11.2	減少	1,613,450	18,448,422-20,058,872	No/S	LOC283755, POTE15, OR4M2, OR4M4	

10

20

30

40

【表 8】

26	SK0215-016 (56449)	単一性家系 ASD	4B,XY,t(18;21)(p13.2;q22.12) 遺伝性	18p13.2: 7,504,204 7,595,711 2'q22.12: 36,081,689 36,181,098	-	EIV5L, FLJ22784, LARG2E, MAP2K7, SNAF2, CTXN7	17q21.31	増加	190,234	41,518,415- 41,708,640	No/NS	KIAA1267	5.医師が追加報告 されている： 問題は上帯78.48, Xの複製を有している が、同じく自閉症に 罹患しており、口部 運動に困難を有する。
							18q21.32- q23	減少	20,365,989	55,758,801- 76,115,600	Yes/S	>遺伝子 50個 KIR3DP1, KIR3DL1, KIR3DL1, KIR2DL4, KIR2DS4	
27	SK0136-003 (51253)	単一性家系 ASD	4E,X,der(Y)(Y:15)(q12;p11.2)pat 遺伝性	入手不能	-	既知遺伝子なし	20p11.23	増加	128,457	19,740,012- 19,868,489	Yes/NS	RNA2	その他のもの カナダ人家系 患者は型型同じ 罹患していない。興味を 有する。
							1p21.3	減少	1,002,500	97,271,800- 98,364,100	Yes/S	FLJ85409, DPYD	
							17p11.1- p11.2	増加	503,100	21,634,900- 22,138,000	Yes/NS	FAM87L	
							4p13	増加	42,400	44,809,500- 44,851,900	No/NS	既知遺伝子なし	
							8p23.2	増加	234,580	2,335,310 2,569,890	No/NS	既知遺伝子なし	
							8q24.23	減少	138,000	137,757,000- 137,895,000	No/NS	既知遺伝子なし	
							10p12.1	減少	51,400	37,660,900- 37,741,900	No/NS	PTCHD3	
							15q11.2	減少	588,900	18,616,700- 19,235,000	No/NS	LOC283745	
							15q26.3	増加	388,100	89,627,900- 100,216,000	No/NS	PCSK6, TARSL2, TM2D3, OR4F6	
							1q21.1	減少	333,630	145,700,966- 146,034,535	No/NS	既知遺伝子なし	
							2p22.2	増加	52,961	37,847,769 37,900,740	No/NS	既知遺伝子なし	
							3q27.3	増加	91,422	187,897,578- 187,989,000	No/S	KNS1, EIF4A2	
7p22.3	増加	28,778	141,322- 171,100	No/NS	既知遺伝子なし								
7p14.1	減少	34,636	33,092,579- 33,125,215	No/NS	既知遺伝子なし								
10p13	減少	1,570	13,098,593- 13,098,463	No/NS	既知遺伝子なし								
28	SK0249-003 (67841)	単一性家系 ASD	4E,XY,del(15)(q23;q24.2) 新規	CNV を参照	CNV を参照	CNV を参照	11p15.1	増加	21,766	18,605,786- 18,927,562	No/NS	MIR6PXX1	SK
							15q23- q24.2	減少	4,286,500	68,601,300- 73,890,800	Yes/S	遺伝子 55個	
							17q12	増加	36,247	31,483,263- 31,501,499	No/NS	既知遺伝子なし	
							17q21.31	増加	89,359	41,695,474- 41,719,893	No/NS	既知遺伝子なし	
							6p14.1	減少	47,288	78,038,177- 78,083,405	No/NS	既知遺伝子なし	
							7p14.1	減少	57,861	36,067,354- 36,125,215	No/NS	既知遺伝子なし	
							10p13	減少	2,536	13,095,625- 13,098,463	No/NS	TARP	
							11p15.1	減少	12,459	18,905,786- 18,918,255	No/NS	MIR6PXX1	

10

20

30

40

【表 9】

30	NA0067-000 (82361L)	単一性家系 ASD	46,XX,t(11;12)(q23.3;p13.3) 不明	11q23: 入手不能	複数遺伝子	14q11.2	減少	219,468	19,272,965- 19,492,423	No/S	遺伝子 6 個
						14q32.33	増加	27,408	106,223,861- 106,251,289	No/NS	既知遺伝子なし
						15q11.2- q13.3	増加	11,871,747	18,427,107- 30,298,847	Yes/S	> 遺伝子 5 個
						15p13.2	減少	132,251	6,302,567- 7,034,818	No/S	EIF4, CPEB5, MEIS2, ZNF557
						2q25.3- ZF15	増加	63,451,409*	2,984,634,544,000	Yes/S	> 遺伝子 50 個
						9q24.2	減少	159,273	25,980,480- 25,139,673	No/NS	既知遺伝子なし
						12p11.21	増加	236,006	37,065,546- 31,301,551	No/S	-DDX11, OVOS2
						14q11.2	増加	488,259	21,498,204- 21,697,473	No/NS	既知遺伝子なし
						Xq22.33- Xq22.31	減少	5,825,311	34,416- 5,859,730	Yes/S	遺伝子 21 個
						4p16.1	増加	35,832	7,801,488- 7,637,320	Yes/NS	SORCS2
						5p15.33	増加	124,630	755,150,876,820	No/S	ZDHHC11
						6p25.1	減少	215,567	4,200,904- 4,416,471	Yes/S	既知遺伝子なし
						8q24.23	減少	199,198	137,757,137- 137,955,330	No/S	既知遺伝子なし
						11p15.4	減少	54,360	6,845,440- 6,699,330	Yes/S	OR10A2, OR10A4, OR2D2, OR2D3
						14q11.2	減少	229,676	19,272,955- 19,502,641	No/NS	遺伝子 6 個
15q11.2	減少	1,908,956	18,437,103- 20,335,455	No/S	LOC282755, POT1B, OR6M2, OR6M4						
15q21.2	増加	183,903	48,583,127- 48,767,950	Yes/S	TRFM7, USP50						
Xq11.23	減少	83,750	47,643,230- 47,727,000	No/S	ZNF530, SSX6						
7q21.2	減少	509,800	80,918,200- 91,429,000	Yes/NS	WTFBP1, AKAP9, CYP57A1, LOC401367						
9q32	増加	211,000	112,403,000- 112,674,000	No/NS	KIF4A, RBBP1, C9orf60						
10q11.22	増加	124,800	47,030,100- 47,154,900	No/NS	既知遺伝子なし						
14q32.33	増加	196,000	103,829,000- 106,045,000	No/NS	既知遺伝子なし						
Xq23	減少	668,000	112,325,000- 113,213,000	Yes/NS	既知遺伝子なし						

10

20

30

40

【0040】

Affymetrix社のGeneChip Human Mapping 500Kアレイセット

各試料について、製造業者の取扱説明書にしたがって、以前に記載されたように（非特

許文献4、内容は参照により本明細書に組み込まれる)、組み合わせた2つのチップNsplおよびStyl GeneChip(登録商標)Human Mapping Commercial ArrayまたはEarly Access Array(Affymetrix社、Santa Clara、CA)を用い、およそ500,000のSNPの遺伝子型を同定した。簡潔には、250ngのゲノムDNAを、NsplおよびStylの制限酵素(New England Biolabs、Boston、MA)で消化し、アダプターに連結させて、PCRによって増幅した。次いで、PCR産物をDNaseIで250bpから2,000bpの範囲の大きさに断片化し、標識して、アレイにハイブリッド形成した。ハイブリッド形成後、Affymetrixのfluidics stationでアレイを洗浄し、染色して、Gene Chip Scanner 3000 7GおよびGene Chip Operating Systemを用いてスキャンした。データは、遺伝子発現オムニバスデータベースに提出している(登録はGSE9222)。標準的な臨床の診断プロトコルを用いて、核型を作成した。

10

【0041】

コピー数多型の特徴付け

NsplおよびStylのアレイのスキャンを、DNA Chip Analyzer(dChip)(非特許文献5)、GeneChip用のコピー数解析(CNAG)(非特許文献6)、および遺伝子型解析マイクロアレイに基づくCNV解析(GEMCA)(非特許文献7)を組み合わせ用い、コピー数多型について解析した。これらの各参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0042】

dChip(www.dchip.org)を用いる解析を、約100人からなる発端者バッチ(複数)に分けて、以前に記載されたように行った(非特許文献8)。簡潔には、不変集合の正規化方法を用いて、プローブ強度のレベルで、アレイのスキャンを正規化した。正規化の後、モデルベース法(PM/MM)を用いて、各SNPについて信号値を計算した。このアプローチでは、異常値検出のアルゴリズムによって画像アーチファクトを同定し、除去した。アレイの両セットについて、各SNPについて全ての試料にわたって、結果として生じる信号値の平均値をとり、二倍体ゲノムの平均の信号を得た。未処理のコピー数から、SNPごとに推定したコピー数を、隠れマルコフモデル(HMM)を用いて評価した。

30

【0043】

CNAG2.0版(www.genome.umin.jp)を用いて解析するために、参照プールには全ての試料が含まれることになり、性別が一致する対照を用いて、自動的なバッチ式一対解析を行った。テスト試料を、参照プール内の全ての試料と比較し、シグナル強度の標準偏差に基づいて整合させた。各「テスト」試料についてのスキャン強度を、参照試料の平均強度(通常は5~12試料の平均)と比較して、未処理のコピー数変化を計算するのに用いた。次いで、内在するコピー数変化を、CNAGに組み込まれている隠れマルコフモデル(HMM)を用いて推定した。

【0044】

2つの指定されたDNA試料(NA10851およびNA15510)を、全ての発端者の実験と対比較するための基準として用いたことは例外として、GEMCA解析を本質的に記載されているように(非特許文献9)行った。両方の対比較実験に共通した、これらのCNVのみを含めることによって、これらの結果をさらに選別した。

40

【0045】

プローブの外側境界を用いる2つ以上のアルゴリズムによって、CNVが同じ個人において検出された場合、それらのCNVを1つにまとめた。

【0046】

対照および自閉症染色体再配列データベース(ACRD)

対照試料は、(i)ドイツのPopGenプロジェクト(非特許文献10)に由来する500人のヨーロッパ人において観察されたCNV、およびオンタリオ集団に由来する1

50

000人のコーカソイド非疾患対照のコホートにおいて見出したCNV(24を参照)からなっていた。834人の推定CNV、またはゲノムにマップしたブレイクポイントを有するACRDを確立した。少なくとも3つのプローブを含むCNVが10kbより大きかった場合、およびCNVの全長の少なくとも20%が、対照と比較したときに固有であった場合、そのCNVはASDに特異的であるとみなした。

【0047】

CNVの検証実験および均衡型再構成ブレイクポイントのマッピング

ACCN1、CFTRまたはFOXP2遺伝子座(PMID:14552656)での対照を用いて、短い蛍光性断片の定量的多重PCR(QMPSF)(非特許文献11)、またはSYBR-Green1ベースのリアルタイム定量的PCR(qPCR)を用いて、CNV決定のPCR検証を行った。両方法のために、プログラムPRIMER3(<http://frodo.wi.mit.edu/>)を用いてプライマーを設計した。FISH(非特許文献12)を用いて、均衡型再構成を最初にマップした。CNVの減少を記録するために、microdelプログラム(Komuraら、*ibid*)を用いた。

【0048】

QMPSFのために、推定したCNV内の短いゲノム配列(140~220bp)を、独自の塩基配列に対応する、染色標識したプライマーを用いて、PCR増幅した。各反応には、17q11.2および7q31.2にそれぞれ位置する、ACCN1またはCFTRのいずれかに対応する、共増幅した対照の増幅産物も含まれていた。簡潔には、(Roche Molecular Systems社がApplied Biosystemsに製造した)AmpliAq(登録商標)DNAポリメラーゼを用いて、40ngのゲノムDNAを、PCRによって最終量を25 μ lとして増幅した。最初のステップとして95で5分間変性した後、25回のPCRサイクルを94で30秒間、アニーリングを60で45秒間、伸長を72で30秒間という条件で行った。最後の伸長のステップは72で15分間続いて起きた。QMPSFの増幅産物をABI3730x1DNA Analyzer(Applied Biosystems、Foster City、CA)上に分け、ABI GeneMapper(登録商標)ソフトウェア3.7版(Applied Biosystems)を用いて解析した。対照の増幅産物を同じ高さに調整した後、テストDNAから発生したQMPSFパターンを、対照DNAのQMPSFパターンと重ね合わせた。推定された各CNVの遺伝子座について、テストDNAから得た基準化したピークの高さを、対照DNAの正規化したピークの高さで割って、コピー数の比率を決定した。ピークの比率が1.4より大きい、および0.7より小さいとき、それぞれコピー数の増加および減少を示した。少なくとも2つの独立したQMPSFアッセイを、CNVの確認のために必要とした。

【0049】

SYBR Green Iを用いるリアルタイムqPCR増幅を、Mx3005P定量的PCRシステム(Stratagene、La Jolla、USA)を用いて行った。非蛍光プライマーを、推定したCNV遺伝子座において、短いゲノム断片(<140bp)を増幅するように設計した。各アッセイには、比較のために、7q31.1のFOXP2に対応する対照の増幅産物の増幅も含めた。「Brilliant(登録商標)SYBR(登録商標)Green QPCR Master Mix」(Stratagene)を用いて、対照のゲノムDNAと一体になったプライマーセットを最適化した後、7.5 μ lの反応混合物、1.8 μ lのプライマー、1.2ng/ μ lのゲノムDNAを6.0ng、1:500で希釈した0.225 μ lの参照色素、および0.475 μ lの水を含む、96穴プレート中の15 μ lの反応混合物中で、テスト試料をアッセイした。PCRの条件を95で10分間のポリメラーゼの活性化で構成し、後に40サイクルを95で15秒間、ならびにアニーリングおよび伸長のために60で1分間の単一のステップを続けた。次いでこれらのステップの後に、最後のサイクルを95で1分間、55で30秒間、および95で30秒間続けた。コピー数変化を計算するために、MxPro-Mx3005Pソフトウェア(3.20版Build340)によって、標準曲線の

10

20

30

40

50

定量化を解析した。変動係数 (CV) を全試料の Ct 値を元に計算し、CV が 1 % より大きかったときの可能な異常値を除去した。推定された CNV 遺伝子座の平均量を、FOX P 2 上の対照の増幅産物の平均量で割った。1.4 より大きく、0.7 より小さい比率は、それぞれコピー数の増加および減少を示した。推定された各 CNV 遺伝子座は、少なくとも 2 つの独立したアッセイを有した。

【0050】

結果

ASD 症例における構造変異特性

394 人の通常の特発性症例、および細胞遺伝学的異常を有するという予備知識に基づいて登録されたその他の 32 人を含む、426 人の ASD の発端症例の全てを、CNV 内容について検査した。SNP の遺伝子型および CNV データの両方でもっとも解像度の高い画像をもたらすので、Affymetrix 500k SNP アレイを使用した。SNP を使用して、各試料の祖先を分類した (対照の選択を導くため)。試料のバックグラウンドは、90.3%、4.5%、4.5% および 0.7% が、それぞれヨーロッパ人、ヨーロッパ人 / 混血、アジア人またはヨルバ人であることが分かった。

10

【0051】

CNV の発見を最大にするために、コーリング (calling) アルゴリズムを前述のように使用し (図 1 を参照されたい)、それらの間での共通の結果をまとめて、3389 の独立した CNV の「完全な」データセットを同定した (ゲノムにつき約 8 種の CNV、平均サイズは 390 kb) (以下の表 4 を参照されたい)。潜在的擬陽性の可能性を最小にするために、第 2 のデータセットを作り、それにより 2 つ以上のアルゴリズムによって、および / または NspI もしくは StyI マイクロアレイ上の両方で、CNV を検出することを必要とした (非特許文献 13)。

20

【0052】

この「厳密な」データセットは、1312 の CNV (ゲノムにつき約 3 種の CNV、平均サイズは 603 kb) を含んでいた。q-PCR を用いて、48% (12 / 26) および 96% (48 / 50) のランダム CNV を、完全なコレクションおよび厳密なコレクションにおいてそれぞれ検証した。

【0053】

【表10】

表 4. ASD および対照における CNV の概要

	POPGEN の対照				自閉症発端者			
	全ての CNV		全ての CNV		全ての CNV		自閉症特異的 ¹	
	完全	厳密 ²	完全	厳密 ²	完全	厳密 ²	完全	厳密 ²
試料	500	500	426	426	426	426	426	426
CNV	3695	1558	3389	1312	888	276	888	276
CNV/ゲノム ³	7.4	3.1	8.0	3.1	2.1	0.65	2.1	0.65
平均値/中央値の大きさ (kb)	315/151	470/224	390/162	603/219	518/121	1082/194	518/121	1082/194
% 増加/減少	59/41%	70/30%	58/42%	62/38%	61/39%	57/43%	61/39%	57/43%
オーバーラップ CNV/ 遺伝子座 (%) ⁴	3005/333 (81%)	1226/142 (78%)	2728/277 (80%)	980/94 (74%)	397/122 (44%)	30/13 (11%)	397/122 (44%)	30/13 (11%)
>1Mb CNV (%)	343(9%)	250(16%)	339 (10%)	212(16%)	63(7%)	32(12%)	63(7%)	32(12%)

¹ 対照では見られない

² 2つ以上のアルゴリズムまたはアレイにより呼び出されたときの厳密なデータセット。約100人からなる発端者バッチ(複数)において、dChipを用いる解析を行った。CNAG2.0版については、参照プールは、全ての試料を含むように設定し、性別一致対照を用いて、自動的なバッチ式一対解析を行った。GEMCAについては、2つの指定されたDNA試料(NA10851およびNA15510)を、全ての発端者実験に対する一対比較用基準として使用した。両方の一対実験に共通したCNVのみを含めることによって、これらの結果をさらに選別した。全ての事例において、プローブの外側境界を用いた2つ以上のアルゴリズムによって、CNVが同じ個人において検出された場合、それらのCNVを1つにまとめた。

³ アルゴリズム:dChip(3.0/ゲノム)、CNAG(5.6/ゲノム)、GEMCA(5.5/ゲノム)によるゲノム当たりのCNV分析。qPCRおよびFISHを用いる検証実験は、本文中に記載されている。別の検証形態は、3組の調査に由来し、その場合、自閉症特異的な厳密なデータセット中の48個(母系性が25個、父系性が23個)において遺伝を示すことができる。この3組からは、対照とオーバーラップする、厳密なデータセット中の148領域(遺伝の割当(inheritance assignment))を確認できる(母系性が65個、父系性が83個)。

⁴ オーバーラップおよび/または再発性CNVの合計数、オーバーラップCNVの遺伝子座数、オーバーラップCNVの割合(%)を表す。ならびにデータセット全体のうち、オーバーラップCNVの割合(%)を表す。

【0054】

500人のヨーロッパ人の対照試料を、これらのCNV内容について検査し、類似のCNVの数(完全なデータセット中の3695種、および厳密なデータセット中の1558種)を、ASD症例中のものに見出した(表4)。これは、生殖系列染色体の不安定性が、重大に寄与する機構ではないことを示唆した。ASDのCNVを次いで500人のヨーロッパ人/コーカソイド対照、およびゲノム変異データベース(「疾患のない」集団における構造変異の保管庫)(非特許文献14)と比較し、自閉症に特異的なCNVのデータセットを確立した。次いでそれに続く解析では、詳細は以下の表3にある、23染色体の

全てにわたってマップした(図2)、厳密な自閉症特異的カテゴリーにおける276のCNVに焦点を当てた。ASDに関連するさらなるCNVデータも、表5の他のカテゴリー中にある(後述した)。

【0055】
【表11】

表3

家系 ID (DNA)	性別	型	染色体	開始	停止	大きさ	CNV	CNV カテゴリー
SK0215-006 (53449)	M	CHR	1	97,271,600	98,364,100	1,092,500	減少	新規に確認したCNV
SK0152-003 (41548L)	M	CHR	3	15,125,800	16,535,400	1,409,600	減少	新規に確認したCNV
SK0181-003 (52191)	M	CHR	3	65,286,300	70,633,200	5,346,900	減少	新規に確認したCNV
SK0205-004 (56242)	F	CHR	5	81,949	13,882,933	13,800,984	減少	新規に確認したCNV
SK0152-003 (41548L)	M	CHR	5	9,275,811	12,705,200	3,429,389	減少	新規に確認したCNV
SK0083-003 (50800L)	M	CHR	7	108,200,381	119,223,887	11,023,507	減少	新規に確認したCNV
SK0131-003 (39989)	F	CHR	7	113,335,000	128,821,721	15,486,722	減少	新規に確認したCNV
SK0262-003 (68608)	M	SPX	8	710,491	1,501,580	791,089	増加	新規に確認したCNV
SK0152-003 (41548L)	M	CHR	12	40,584,198	41,007,040	422,842	減少	新規に確認したCNV
MM0278-003 (57788)	M	SPX	12	114,170,000	132,388,000	18,218,001	増加	新規に確認したCNV
SK0243-003 (67941)	M	CHR	15	69,601,300	73,890,800	4,289,500	減少	新規に確認したCNV
NA0067-000 (65344L)	M	SPX	16	87,800,593	88,066,260	265,668	減少	新規に確認したCNV
SK0218-003 (60340)	F	CHR	18	55,756,501	76,115,600	20,358,999	減少	新規に確認したCNV
MM0109-003 (46486)	F	SPX	20	60,949,339	82,377,000	1,427,662	増加	新規に確認したCNV
SK0244-003 (69183)	M	SPX	21	42,974,148	43,328,084	353,936	増加	新規に確認したCNV
NA0039-000 (69736)	F	CHR	22	46,277,400	49,509,100	3,231,700	減少	新規に確認したCNV
MMU*09-003 (46486)	F	SPX	22	49,243,247	49,519,949	276,703	減少	新規に確認したCNV
NA0087-000 (82361L)	F	CHR	X	34,419	5,859,730	5,825,312	減少	新規に確認したCNV
SK0306-004 (78681)	F	SPX	X	48,073,600	52,716,966	4,643,367	増加	新規に確認したCNV
SK0147-003 (47544L)	F	SPX	2	114,855,796	115,334,166	478,371	減少	再発性/オーバーラップCNV
SK0187-003 (60966L)	F	MPX	2	114,855,796	115,334,166	478,371	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0288-003 (75420)	F	SPX-MZ	2	115,141,880	115,247,000	105,121	増加	再発性/オーバーラップCNV
NA0030-000 (65240)	M	SPX	2	186,674,000	186,786,323	112,324	減少	再発性/オーバーラップCNV
SK0306-004 (78681)	F	SPX	2	186,674,000	186,771,130	67,131	減少	再発性/オーバーラップCNV
MM0220-003 (61180L)	M	MPX	6	118,799,000	119,117,000	318,001	増加	再発性/オーバーラップCNV
NA0025-000 (60490)	M	SPX	6	118,823,011	119,117,000	293,990	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0190-003 (54742)	M	SPX	7	152,698,000	154,478,000	1,780,000	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0115-003 (40555)	M	SPX	7	153,088,000	153,372,000	274,001	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0068-003 (59963)	M	MPX	7	153,539,745	153,556,533	16,789	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0143-003 (36812)	M	SPX	8	53,481,200	53,766,400	285,201	増加	再発性/オーバーラップCNV
MM0236-004 (46475)	M	MPX	8	53,724,445	53,996,124	271,680	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0270-003 (71341)	M	SPX	9	7,725,260	7,764,180	38,900	減少	再発性/オーバーラップCNV
MM0103-003 (42367)	M	MPX	9	7,725,263	7,760,233	34,951	減少	再発性/オーバーラップCNV
MM0272-003 (45563)	M	MPX	11	40,285,800	40,548,738	262,939	減少	再発性/オーバーラップCNV
SK0167-003 (60966L)	F	MPX	11	40,417,554	40,610,400	192,847	減少	再発性/オーバーラップCNV
SK0023-003 (58096)	M	SPX	13	66,470,651	66,660,289	189,438	増加	再発性/オーバーラップCNV
MM0299-003 (51674)	F	MPX	13	66,487,899	66,660,300	172,402	増加	再発性/オーバーラップCNV
MM0109-003 (46486)	F	SPX	16	21,441,805	22,668,093	1,246,289	増加	再発性/オーバーラップCNV
MM0289-003 (42267)	F	MPX	16	21,806,808	22,611,363	802,556	減少	再発性/オーバーラップCNV
MM0088-003 (45562)	F	MPX	16	29,559,989	30,235,818	675,830	減少	再発性/オーバーラップCNV
NA0133-000 (78119L)	F	SPX	16	29,559,989	30,065,306	525,320	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0091-004 (46407)	F	MPX	22	17,265,500	21,546,762	4,281,262	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0323-003 (80022)	M	MPX	22	16,683,900	19,427,000	743,101	増加	再発性/オーバーラップCNV
SK0123-004 (60536L)	M	MPX	22	47,717,300	48,318,828	601,528	増加	再発性/オーバーラップCNV
MM0102-003 (47598)	M	MPX	22	48,152,289	48,232,669	80,380	減少	再発性/オーバーラップCNV
NA0002-000 (52026)	M	SPX	7	153,585,000	153,651,462	66,463	減少	再発性/オーバーラップCNV/ 新規に確認したCNV
SK0073-003 (57283L)	F	CHR	15	18,376,200	30,298,800	11,922,600	増加	再発性/オーバーラップCNV/ 新規に確認したCNV
SK0245-005 (68617)	M	CHR	15	18,427,100	30,298,847	11,871,747	増加	再発性/オーバーラップCNV/ 新規に確認したCNV
SK0119-003 (35190)	M	MPX	22	17,014,900	19,786,200	2,771,300	減少	再発性/オーバーラップCNV/ 新規に確認したCNV

【0056】

【表 1 2】

SK0297-003 (76066)	M	SPX-MZ	22	17,265,500	21,546,762	4,281,263	増加	再条件/オーバーラップCNV/ 新規に発見したCNV
MM0109-003 (46486)	F	SPX	17	40,555,289	41,089,766	534,478	減少	シングルTONであるCNV
MM0240-003 (43743)	F	MPX	17	40,555,289	41,128,323	573,035	減少	シングルTONであるCNV
NA0074-000 (63358)	M	SPX	1	41,463,611	41,924,314	460,704	増加	シングルTONであるCNV
SK0036-003 (29186)	F	SPX	1	57,936,233	58,514,629	578,396	増加	シングルTONであるCNV
MM0236-004 (46475)	M	MPX	1	60,369,200	61,426,300	1,057,101	増加	シングルTONであるCNV
MM0020-004 (47838)	M	MPX	1	65,649,086	65,713,423	64,338	増加	シングルTONであるCNV
NA0076-000 (63624)	M	SPX	1	91,930,266	92,330,344	400,078	増加	シングルTONであるCNV
SK0174-003 (64379L)	M	SPX	1	108,046,000	108,246,283	200,284	減少	シングルTONであるCNV
SK0283-003 (72309)	F	CHR	1	148,095,537	149,547,463	1,451,926	増加	シングルTONであるCNV
MM0011-003 (60568L)	M	MPX	1	165,908,677	166,028,402	119,726	減少	シングルTONであるCNV
SK0132-003 (30661)	M	MPX	1	186,673,899	186,716,570	42,672	減少	シングルTONであるCNV
NA0109-000 (72873)	M	SPX	1	212,037,556	212,471,000	433,443	減少	シングルTONであるCNV
SK0183-004 (52217)	M	SPX	1	238,633,145	239,606,926	973,781	減少	シングルTONであるCNV
MM0219-003 (46823)	M	MPX	2	34,156,700	34,263,221	97,522	減少	シングルTONであるCNV
MM0295-003 (46488)	M	MPX	2	34,662,186	34,780,616	118,320	減少	シングルTONであるCNV
NA0083-000 (66104L)	M	SPX	2	34,858,330	34,937,465	79,125	減少	シングルTONであるCNV
SK0270-003 (71341)	M	SPX	2	39,992,374	40,053,300	60,926	減少	シングルTONであるCNV
NA0055-000 (59448)	M	SPX	2	41,958,200	42,088,448	130,249	減少	シングルTONであるCNV
SK0301-003 (77203)	M	MPX	2	52,856,046	52,969,575	113,530	減少	シングルTONであるCNV
NA0027-000 (60421L)	M	MPX	2	121,623,000	121,684,915	61,915	減少	シングルTONであるCNV
NA0057-000 (59537)	M	SPX	2	125,496,832	125,890,571	393,740	減少	シングルTONであるCNV
MM0176-003 (62118L)	M	MPX	2	135,358,000	135,471,070	113,071	減少	シングルTONであるCNV
SK0225-003 (60921)	M	SPX	2	155,849,451	155,988,560	139,109	減少	シングルTONであるCNV
SK0192-003 (54677)	M	SPX	2	181,771,621	181,944,065	172,445	減少	シングルTONであるCNV
NA0007-000 (50611)	M	SPX	2	195,170,000	195,217,247	47,248	増加	シングルTONであるCNV
SK0283-003 (72309)	F	CHR	3	5,365,506	5,409,964	44,458	減少	シングルTONであるCNV
MM0210-004 (47376)	M	MPX	3	7,957,390	8,250,541	293,151	増加	シングルTONであるCNV
NA0044-000 (57097)	M	SPX	3	35,613,300	35,928,200	314,901	増加	シングルTONであるCNV
SK0021-008 (51504)	M	MPX	3	38,110,965	38,215,909	104,945	減少	シングルTONであるCNV
MM0154-003 (66678L)	F	MPX	3	50,089,500	50,199,200	109,701	増加	シングルTONであるCNV
SK0152-003 (41648L)	M	CHR	3	78,902,000	78,967,000	65,000	増加	シングルTONであるCNV
NA0044 000 (67097)	M	SPX	3	82,866,400	84,544,763	1,678,364	増加	シングルTONであるCNV
SK0023-003 (58096)	M	SPX	3	99,400,957	99,484,400	83,443	増加	シングルTONであるCNV
NA0018-000 (72822)	M	SPX	3	117,838,700	117,937,000	98,301	増加	シングルTONであるCNV
NA0003-000 (48474)	M	SPX	3	124,386,373	124,456,000	69,628	増加	シングルTONであるCNV
NA0090-000 (65410)	M	SPX	3	183,837,706	183,940,069	102,364	増加	シングルTONであるCNV
NA0044-000 (67097)	M	SPX	4	55,718,164	55,811,710	93,547	減少	シングルTONであるCNV
NA0016-000 (61624L)	F	SPX	4	114,333,600	114,416,051	82,542	減少	シングルTONであるCNV
SK0012-003 (58466L)	M	SPX	4	152,993,000	153,381,007	388,008	増加	シングルTONであるCNV
SK0103-005 (42258)	M	SPX	4	157,615,000	157,683,000	68,000	増加	シングルTONであるCNV
NA0037-000 (69812)	M	SPX	4	179,692,000	179,865,679	173,680	増加	シングルTONであるCNV
MM0299-003 (51674)	F	MPX	4	181,968,784	182,095,665	126,882	減少	シングルTONであるCNV
SK0286-003 (68257)	M	SPX	4	183,466,000	183,617,000	51,000	減少	シングルTONであるCNV
SK0002-003 (50002)	F	CHR	5	14,940,400	15,179,600	239,100	増加	シングルTONであるCNV
NA0078-000 (63727)	M	MPX	5	25,125,371	25,450,672	325,302	増加	シングルTONであるCNV
NA0076-000 (63624)	M	SPX	5	37,409,881	37,778,834	368,953	増加	シングルTONであるCNV
SK0335 003 (72816)	F	CHR	5	38,534,384	38,807,002	272,619	減少	シングルTONであるCNV
MM0143-004 (47386)	M	MPX	5	110,440,484	110,471,180	30,697	増加	シングルTONであるCNV
NA0023-000 (60504L)	F	SPX	5	113,104,916	113,178,000	73,084	減少	シングルTONであるCNV
SK0118-003 (52027)	M	SPX	5	122,834,399	123,029,036	194,638	減少	シングルTONであるCNV
SK0077-003 (48226)	M	SPX	5	128,968,799	129,433,000	464,201	増加	シングルTONであるCNV
SK0300-003 (77447)	M	CHR	6	4,200,904	4,416,471	215,568	減少	シングルTONであるCNV
MM0212-004 (62223L)	F	MPX	6	17,505,095	17,703,208	198,114	増加	シングルTONであるCNV

10

20

30

【 0 0 5 7】

【表 13】

MM0300-003 (47836)	F	MPX	6	27,827,364	28,119,631	292,278	増加	シングルトンであるCNV
MM0225-004 (60826)	M	MPX	6	69,929,900	70,278,043	348,144	増加	シングルトンであるCNV
SK0217-003 (59279)	M	SPX	6	112,679,982	112,776,084	96,112	増加	シングルトンであるCNV
SK0326-003 (81155)	M	SPX	6	137,930,847	138,011,644	80,798	増加	シングルトンであるCNV
MM0088-003 (45562)	F	MPX	7	2,922,139	2,964,895	42,757	減少	シングルトンであるCNV
NA0147-000 (77123L)	M	SPX	7	3,946,854	4,002,686	55,833	減少	シングルトンであるCNV
SK0049-004 (59987L)	M	MPX	7	11,526,500	11,560,300	33,800	増加	シングルトンであるCNV
SK0132-003 (30661)	M	MPX	7	20,242,925	20,345,800	102,876	増加	シングルトンであるCNV
NA0145-000 (82058L)	M	SPX	7	47,742,927	48,775,200	1,032,274	減少	シングルトンであるCNV
SK0119-003 (35190)	M	MPX	8	17,706,313	17,738,524	32,211	減少	シングルトンであるCNV
SK0262-003 (68609)	M	SPX	8	18,623,000	19,442,500	819,500	増加	シングルトンであるCNV
SK0077-003 (48226)	M	SPX	8	42,971,601	43,820,300	848,699	増加	シングルトンであるCNV
SK0294-003 (78222)	M	SPX	8	73,762,894	73,798,241	35,348	増加	シングルトンであるCNV
SK0076-003 (38712)	F	SPX	8	83,989,256	84,141,278	152,022	増加	シングルトンであるCNV
MM0241-004 (45547)	M	MPX	8	87,230,811	87,498,988	268,178	増加	シングルトンであるCNV
MM0210-004 (47376)	M	MPX	8	104,166,572	104,947,190	780,618	増加	シングルトンであるCNV
SK0194-003 (58076)	M	SPX	8	123,539,127	123,644,422	105,296	減少	シングルトンであるCNV
SK0292-003 (75896)	F	MPX	8	130,467,000	130,529,193	62,194	減少	シングルトンであるCNV
MM0007-003 (59978)	M	MPX	9	5,099,530	5,235,490	135,961	増加	シングルトンであるCNV
MM0711-003 (63583L)	M	MPX	9	16,092,066	16,379,100	287,035	増加	シングルトンであるCNV
SK0015-003 (49932)	M	MPX	9	19,284,100	19,511,500	227,400	増加	シングルトンであるCNV
SK0015-003 (49932)	M	MPX	9	19,702,200	24,674,100	4,971,900	減少	シングルトンであるCNV
SK0278-003 (74431)	M	SPX	9	22,626,541	22,747,714	121,174	減少	シングルトンであるCNV
SK0148-005 (41360)	F	SPX	9	24,607,036	24,662,114	75,078	減少	シングルトンであるCNV
MM0020-004 (47838)	M	MPX	9	25,439,100	25,535,000	95,901	減少	シングルトンであるCNV
NA0105-000 (72085)	M	SPX	9	33,054,386	33,294,800	240,465	増加	シングルトンであるCNV
NA0147-000 (77123L)	M	SPX	9	84,957,080	85,054,672	97,613	減少	シングルトンであるCNV
SK0045-003 (58937)	M	MPX	9	109,446,000	109,837,000	391,000	増加	シングルトンであるCNV
MM0117-003 (59983)	M	MPX	10	2,313,505	2,407,102	93,598	減少	シングルトンであるCNV
MM0226-004 (60826)	M	MPX	10	4,976,040	5,124,511	148,472	増加	シングルトンであるCNV
MM1086-004 (76285)	M	MPX	10	31,266,118	31,604,509	338,392	減少	シングルトンであるCNV
MM0068-003 (60836)	M	MPX	10	68,139,200	68,246,027	106,828	減少	シングルトンであるCNV
NA0037-000 (68812)	M	SPX	10	104,641,000	104,786,777	145,778	減少	シングルトンであるCNV
SK0300-003 (77447)	M	CHR	11	6,845,440	6,899,830	54,391	減少	シングルトンであるCNV
SK0322-003 (79950)	M	SPX	11	33,159,190	33,462,070	302,881	増加	シングルトンであるCNV
MM0305-003 (47807)	M	MPX	11	68,053,777	68,204,900	151,123	増加	シングルトンであるCNV
NA0032-000 (55186)	M	SPX	11	76,114,000	76,140,600	25,900	増加	シングルトンであるCNV
MM0212-004 (62223L)	F	MPX	11	99,148,202	99,289,243	141,042	減少	シングルトンであるCNV
SK0167-003 (60966L)	F	MPX	11	101,131,795	101,246,901	115,117	減少	シングルトンであるCNV
MM0112-005 (48736)	M	MPX	11	116,789,980	116,865,347	85,368	増加	シングルトンであるCNV
MM0240-003 (43743)	F	MPX	11	117,452,000	117,539,000	87,001	増加	シングルトンであるCNV
SK0255-003 (68785)	M	SPX	11	124,303,460	124,719,976	416,517	増加	シングルトンであるCNV
NA0065-000 (62798L)	M	SPX	11	125,639,908	126,102,027	462,120	増加	シングルトンであるCNV
NA0172-000 (80993L)	M	SPX	12	3,727,911	3,879,230	151,320	減少	シングルトンであるCNV
SK0059-003 (29224)	M	SPX	12	10,431,082	10,445,300	14,218	増加	シングルトンであるCNV
SK0326-003 (81155)	M	SPX	12	46,170,200	46,365,774	195,575	増加	シングルトンであるCNV
SK0110-003 (24626)	M	SPX	12	50,520,400	50,573,516	53,116	増加	シングルトンであるCNV
NA0071-000 (64719L)	F	SPX	12	57,408,270	58,532,356	1,124,087	増加	シングルトンであるCNV
SK0305-003 (78621)	F	SPX	12	77,239,265	77,364,400	125,136	減少	シングルトンであるCNV
SK0301-003 (77203)	M	MPX	12	83,388,935	83,428,800	39,866	増加	シングルトンであるCNV
NA0093-000 (66999)	M	SPX	12	96,496,784	96,568,500	71,716	減少	シングルトンであるCNV
MM0711-003 (63583L)	M	MPX	12	96,576,486	96,639,686	63,201	減少	シングルトンであるCNV
SK0292-003 (75896)	F	MPX	12	101,568,000	101,586,000	18,001	増加	シングルトンであるCNV
NA0105-000 (72873)	M	SPX	12	110,646,607	110,800,000	153,394	増加	シングルトンであるCNV

10

20

30

【 0 0 5 8 】

【表 1 4】

MM0210-004 (47376)	M	MPX	12	125,446,000	125,757,000	311,000	増	0	シングルシブであるCNV
SK0079-003 (48388)	M	MPX	13	17,960,300	18,492,994	532,694	増	0	シングルシブであるCNV
NA0028-000 (58891L)	M	SPX	13	62,915,912	62,977,748	61,837	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0326-003 (81155)	M	SPX	13	89,726,966	90,134,219	407,254	増	0	シングルシブであるCNV
NA0048-000 (58569)	M	SPX	13	93,288,520	93,344,600	56,081	増	0	シングルシブであるCNV
SK0326-003 (81155)	M	SPX	13	93,497,400	93,732,991	235,532	増	0	シングルシブであるCNV
SK0254-003 (68687)	M	SPX	13	105,172,000	105,357,000	185,000	増	0	シングルシブであるCNV
SK0121-003 (41288)	M	SPX	14	76,007,942	76,924,400	916,558	増	0	シングルシブであるCNV
SK0031-003 (68160L)	M	CHR	14	99,015,100	99,787,500	772,400	増	0	シングルシブであるCNV
SK0300-003 (77447)	M	CHR	15	48,583,127	48,767,030	183,904	増	0	シングルシブであるCNV
SK0326-003 (81155)	M	SPX	15	97,406,000	97,961,522	555,523	増	0	シングルシブであるCNV
SK0281-003 (72934)	M	SPX	16	57,542,779	57,579,900	37,122	減少	0	シングルシブであるCNV
MM0310-005 (60951)	M	MPX	16	80,972,252	80,983,135	10,884	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0203-004 (56040)	M	MPX	16	82,603,600	82,687,900	84,300	増	0	シングルシブであるCNV
SK0085-004 (30422)	M	MPX	17	3,836,592	3,998,887	162,276	増	0	シングルシブであるCNV
SK0298-003 (77697)	M	SPX	17	76,914,079	77,771,141	857,063	増	0	シングルシブであるCNV
SK0328-003 (82302)	M	SPX	18	13,794,043	14,743,900	949,858	増	0	シングルシブであるCNV
SK0303-003 (78391)	F	MPX	18	28,383,551	28,448,100	64,550	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0014-003 (41606)	M	SPX	18	52,531,252	53,165,421	634,169	増	0	シングルシブであるCNV
SK0121-003 (41288)	M	SPX	19	33,693,363	33,762,805	69,442	減少	0	シングルシブであるCNV
NA0111-000 (73691)	M	SPX	19	57,836,600	58,246,200	409,601	増	0	シングルシブであるCNV
NA0004-000 (47490)	M	SPX	19	58,634,965	58,958,584	323,620	増	0	シングルシブであるCNV
NA0070-000 (64249L)	F	SPX	19	60,499,398	60,742,656	243,259	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0047-003 (47173L)	F	SPX	19	61,910,800	62,644,900	734,100	減少	0	シングルシブであるCNV
NA0110-000 (72165)	M	SPX	19	63,050,356	63,193,800	143,445	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0232-003 (58338)	M	MPX	19	63,483,000	63,771,100	288,100	増	0	シングルシブであるCNV
MM0018-003 (59980)	M	MPX	20	11,319,093	11,424,900	105,808	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0335-003 (72816)	F	CHR	20	14,955,730	15,011,214	55,485	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0258-004 (67930)	M	SPX	20	45,468,000	45,673,300	205,300	増	0	シングルシブであるCNV
MM0126-003 (54581)	M	MPX	21	22,839,570	22,838,377	98,808	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0118-003 (52027)	M	SPX	21	28,060,408	28,250,400	189,995	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0186-004 (52964)	M	SPX	X	22,962,800	23,119,000	156,200	減少	0	シングルシブであるCNV
MM0087-003 (59962L)	M	MPX	X	25,516,263	25,620,400	104,138	減少	0	シングルシブであるCNV
NA0100-000 (70601L)	M	SPX	X	44,395,900	45,060,800	664,901	増	0	シングルシブであるCNV
SK0087-003 (80692L)	F	MPX	X	83,866,300	92,175,100	8,308,800	減少	0	シングルシブであるCNV
MM0020-004 (47838)	M	MPX	X	87,452,050	87,595,200	143,151	増	0	シングルシブであるCNV
SK0228-003 (62083)	M	SPX	X	104,163,000	104,638,000	485,000	増	0	シングルシブであるCNV
SK0088-003 (64798)	M	SPX	X	114,042,922	114,215,435	172,513	増	0	シングルシブであるCNV
MM0087-003 (59962L)	M	MPX	X	130,406,000	130,695,499	289,500	増	0	シングルシブであるCNV
NA0016-000 (51524L)	F	SPX	X	140,600,370	140,907,495	307,125	増	0	シングルシブであるCNV
SK0234-003 (64340)	M	MPX	X	142,561,000	142,682,000	121,000	減少	0	シングルシブであるCNV
SK0320-003 (79449)	M	MPX	X	143,069,574	143,399,300	339,727	増	0	シングルシブであるCNV
SK0123-004 (60536L)	M	MPX	X	147,974,000	148,479,449	505,449	増	0	シングルシブであるCNV
SK0278-003 (74431)	M	SPX	1	188,543,244	188,935,335	392,092	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0149-003 (42382)	M	MPX	1	191,030,551	191,223,110	192,560	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0229-003 (62211)	M	SPX	1	242,451,000	243,113,469	662,469	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0016-000 (51524L)	F	SPX	1	243,172,012	243,301,056	129,044	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0063-003 (46687)	F	MPX	2	50,780,202	50,859,200	78,999	減少	0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0234-003 (64340)	M	MPX	2	54,171,783	54,345,700	173,917	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0188-003 (53664)	M	SPX	2	112,415,581	112,510,212	94,632	減少	0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0019-003 (42052)	M	MPX	2	201,286,000	201,317,066	31,067	減少	0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0296-003 (47829)	M	MPX	2	221,429,610	221,551,000	121,391	減少	0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0004-000 (47490)	M	SPX	2	235,797,267	235,239,000	441,734	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0068-003 (60936)	M	MPX	3	1,720,948	1,795,234	74,287	増	0	ACRDとオーバーラップするCNV

10

20

30

【表 15】

NA0067-000 (65344L)	M	SPX	3	61,075,295	61,581,100	505,806	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0296-003 (47829)	M	MPX	4	328,851	642,862	214,012	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0228-004 (47602)	M	MPX	4	11,820,924	11,963,053	162,130	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0129-000 (77405)	M	SPX	4	38,109,899	38,349,444	239,546	増0	ACRDとオバ ップするCNV
SK0188-003 (53664)	M	SPX	4	61,408,094	61,758,800	350,707	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0057-003 (40919)	M	SPX	4	74,105,700	74,464,800	358,600	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0176-003 (62118L)	M	MPX	4	91,220,121	91,309,602	89,482	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0012-003 (58468L)	M	SPX	4	162,367,402	163,362,655	975,254	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0012-003 (58468L)	M	SPX	4	173,324,616	174,954,056	1,629,441	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0166-003 (36773)	M	SPX	4	186,788,000	187,118,000	330,001	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0074-003 (60910L)	M	MPX	4	188,230,567	190,154,000	1,923,434	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0083-003 (50800L)	M	CHR	4	188,232,000	188,253,314	21,315	増0	ACRDとオバ ップするCNV
MM0019-003 (42052)	M	MPX	4	190,172,765	191,306,043	1,133,279	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0188-003 (53664)	M	SPX	5	13,832,700	14,237,600	404,901	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0078-000 (63727)	M	MPX	5	79,338,190	79,613,516	277,327	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0145-000 (82068L)	M	SPX	5	89,445,869	90,172,900	727,032	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0167-003 (60966L)	F	MPX	5	120,343,925	120,474,000	130,076	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0019-000 (64122L)	M	SPX	5	120,964,000	121,095,213	131,214	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0215-004 (47095)	M	MPX	5	132,619,430	132,732,003	112,574	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0073-003 (67283L)	F	CHR	5	134,425,000	134,519,000	93,900	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0272-003 (70721)	F	SPX	6	77,622,920	77,673,932	51,012	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0225-004 (60826)	M	MPX	6	93,087,482	96,011,900	4,924,419	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0077-003 (48226)	M	SPX	6	95,461,800	95,581,304	119,504	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0087-003 (40450)	M	MPX	6	97,568,274	97,658,527	92,253	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0216-003 (58875)	M	SPX	6	153,519,631	153,791,029	271,398	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0061-000 (60383)	M	SPX	7	108,357,049	108,597,525	240,477	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0226-005 (61380)	M	SPX	7	118,462,717	118,679,189	216,473	減少	ACRDとオバ ップするCNV
MM0218-004 (45553)	M	MPX	8	89,598,961	89,678,800	79,840	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0210-004 (57601)	M	MPX	9	28,577,800	29,218,800	641,000	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0273-003 (71182)	M	MPX	9	70,739,231	70,870,084	130,854	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0118-003 (52027)	M	SPX	9	111,652,000	112,212,452	560,453	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0065-000 (64119L)	M	SPX	9	116,526,784	116,612,329	83,546	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0102-004 (31899)	M	SPX	10	42,611,900	43,268,900	654,400	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0102-004 (31899)	M	SPX	10	44,988,900	45,468,800	479,900	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0109-000 (72873)	M	SPX	10	112,267,330	112,405,408	138,079	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0131-003 (39989)	F	CHR	10	128,501,014	128,592,091	91,078	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0138-000 (81816L)	M	SPX	10	133,285,000	133,604,999	320,000	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0113-000 (82366L)	M	SPX	11	9,964,119	10,667,800	683,682	減少	ACRDとオバ ップするCNV
SK0218-003 (60340)	F	CHR	12	1,760,084	1,852,412	92,328	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0122-000 (76018L)	F	SPX	13	32,965,700	33,137,656	171,956	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0117-000 (73621)	M	SPX	13	42,511,458	42,599,200	87,743	増0	ACRDとオバ ップするCNV
MM0154-003 (56678L)	F	MPX	13	64,651,959	65,025,229	373,277	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0328-003 (82302)	M	SPX	13	103,896,769	103,930,492	33,724	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0295-003 (46488)	M	MPX	13	113,361,712	113,646,000	284,289	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0305-004 (78821)	F	SPX	14	42,022,288	42,210,026	187,741	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0320-003 (79449)	M	MPX	14	45,537,581	45,653,418	115,838	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0225-004 (60826)	M	MPX	14	83,373,278	83,435,200	61,923	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0154-003 (56678L)	F	MPX	14	106,223,861	106,356,482	132,622	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0064-000 (63582L)	M	SPX	16	82,673,421	83,631,697	1,058,276	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0256-004 (46991)	M	MPX	15	87,922,400	87,993,909	71,510	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0266-003 (68257)	M	SPX	16	6,813,789	6,898,549	85,060	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0063-000 (60351)	M	SPX	16	73,397,667	73,657,087	259,400	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0095-000 (75414L)	M	SPX	16	74,578,356	74,613,000	36,645	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0284-003 (72687)	F	SPX	17	28,985,300	29,960,700	975,400	増0	ACRDとオーバーラップするCNV

10

20

30

【 0 0 6 0 】

【表 16】

SK0012-003 (58468L)	M	SPX	18	27,565,032	27,781,900	216,869	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0152-003 (41548L)	M	CHR	18	32,174,061	32,990,975	816,914	減少	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0147-003 (47544L)	F	SPX	18	37,509,556	37,950,450	440,895	増0	ACRDとオバ ップするCNV
SK0304-003 (78063)	M	SPX	18	46,101,841	46,218,000	116,160	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0138-000 (81816L)	M	SPX	18	69,282,461	69,330,584	48,124	減少	ACRDとオバ ップするCNV
SK0023-003 (58096)	M	SPX	21	46,497,675	46,678,820	181,145	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0112-000 (72340)	M	SPX	X	38,250,331	38,371,333	121,003	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0283-003 (72308)	F	CHR	4	44,762,996	44,858,504	95,508	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0010-005 (47372)	M	MPX	4	44,773,367	44,846,800	73,434	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
NA0093-000 (66999)	M	SPX	4	44,773,367	44,846,800	73,433	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
MM0109-003 (46486)	F	SPX	4	189,538,747	189,825,000	286,254	増0	ACRDとオーバーラップするCNV
SK0112-003 (46100)	M	MPX	4	189,580,553	190,228,000	647,447	増0	ACRDとオーバーラップするCNV

40

50

【 0 0 6 1 】

細胞遺伝学的に検出可能な A S D における染色体異常の、広範囲にわたる普及の頻発、およびマイクロアレイのスキャンで均衡した異常を見つけれないことにより、核型分析の実行が促進した。核型分析（および F I S H）は、いくつかの C N V 領域の染色体構成（例えば、環状染色体）を特徴付けること、すなわちマイクロアレイの使用だけでは不可能なこともできるようにした。したがって、血液が得られる 3 1 3 人の無作為の特発性症例を検査し、5 . 8 %（1 8 / 3 1 3）の症例が、均衡した（1 1）または不均衡な（7）核型（全ての不均衡した核型変化（7）はマイクロアレイ分析でも発見され、C N V 統計に含まれる）を有することが分かった。全 C N V のゲノムの特徴を、自閉症染色体再構成データベース（図 3 を参照されたい）に示している。本研究では、C N V の減少および増加は、通常、標準の欠失または重複と同じであろう。いくつかの症例では、ある遺伝子の部分のみの重複により、その破壊が引き起こされる場合があり（表 5）、遺伝子発現への位置的な影響も考慮しなければならない。

10

【 0 0 6 2 】

新規、オーバーラップ / 再発性、および遺伝性の構造変異体

もし、A S D 症例で見つかった構造変異体が対照になれば、それらの変異体を、（i）元々新規（2 5 症例）（以下の表 5 を参照されたい）、（i i）2 つ以上の関係のない試料におけるオーバーラップ（1 3 遺伝子座で 2 7 症例）（以下の表 7 を参照されたい）、（i i i）2 つ以上の関係のない試料における再発性（2 遺伝子座で 4 症例）（同じブレイクポイント）、（i v）または遺伝性（残り）と、病因の可能性で最初に優先順位付けをした。原則証明解析では、それぞれカテゴリー i、i i、i i i および i v 中の既知の A S D 遺伝子座：N L G N 4 および 2 2 q、1 5 q、S H A N K 3 ならびに N R X N 1 で C N V を発見した。対照で発見した A S D の構造変異体（例えば、N R X N 1）も関与し得た。

20

【 0 0 6 3 】

表 5. ASD 症例における新規の再配列

家系 ID (DNA) ¹⁾	性別	型	染色体 ²⁾	大きさ (bp) ³⁾	CNV	遺伝子 ⁴⁾	表現型コメント ⁵⁾
1 SK0181-004 (52191)	M	CHR (SPX)	3p14.1-q31.3 (a) t(6;14)(q13;q21) (k)	5,346,900 N/A	減少 なし	遺伝子 13 個 遺伝子 11 個	IQ=107 異常形態
2 SK0152-003 (41548)	M	CHR (MPX) ⁶⁾	3p25.1-p24.3 (a) 5p15.31-p15.2 (a) 12q12 (a) t(5;7)(p15p13) (k)	1,409,600 3,429,389 422,842 N/A	減少 減少 減少 なし	遺伝子 12 個 遺伝子 8 個 遺伝子 4 個 CDH18	IQ=不明
3 SK0215-006 (58449)	M	CHR (SPX)	1p21.3 (a)	1,092,500	減少	DPVD 全部	IQ=38, SLI
4 SK0205-004 (56242)	F	CHR (SPX)	5p15.33-5p15.2 (k)	13,800,984	減少	遺伝子 46 個	IQ=不明、猫鳴き症候群
5 SK0083-003 (50800)	M	CHR (SPX)	7q31.1-q31.31 (k)	11,023,507	減少	遺伝子 25 個	IQ=76
6 SK0131-003 (39989)	F	CHR (SPX)	7q31.1-q32.2 (k)	15,466,722	減少	> 遺伝子 50 個	IQ=95, SLI
7 SK0243-003 (67941)	M	CHR (SPX)	15q23-q24.2 (k)	4,289,500	減少	> 遺伝子 50 個	IQ=不明, SLI
8 SK0073-003 (57283)	F	CHR (SPX)	15q11.2-q13.3 (k)	11,922,600	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=不明
9 SK0245-005 (58517)	M	CHR (SPX)	15q11.2-q13.3 (k)	11,871,747	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=不明
10 SK0218-003 (60340)	F	CHR (MPX) ⁴⁾	18q21.32-18q23 (k)	20,358,999	減少	> 遺伝子 50 個	IQ=不明、 異常形態、 発作、
11 NA0039-000 (69736)	F	CHR (SPX)	22q13.31-q13.33 (k)	3,231,700	減少	遺伝子 41 個	IQ=不明
12 NA0097-000 (82361)	F	CHR (SPX)	Xp22.33-p22.31 (a)	5,825,311	減少	遺伝子 21 個 +NLGN4	IQ=不明
13 SK0297-003 (72309)	F	CHR (SPX)	47,XX, 着床後減数分裂 (k)	N/A	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=38
14 SK0133-003 (46012)	M	CHR (SPX)	t(5;8;17)(q31.1;q24.1;q21.3)) (k)	N/A	なし	遺伝子 5 個	IQ=不明
15 NA0002-000 (52026)	M	SPX	7q36.2 (a)	66,462	減少	DPP6 エクソン	IQ=不明
16 SK0262-003 (68609)	M	SPX	8p23.3 (a)	791,089	増加	DLGAP2 エクソン	IQ=不明
17 MM0278-003 (57788)	M	SPX	12q24.21-q24.33 (a)	18,218,000	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=36
18 NA0067-000 (65344)	M	SPX	16q24.3 (a)	265,667	減少	ANKRD11 エクソン	IQ=不明
19 MM0088-003 (45562)	F	MPX	16p11.2 (a)	675,829	減少	遺伝子 28 個	IQ=67
20 SK0102-004 (31899)	M	SPX	16p11.2 (a)	432,600	増加	遺伝子 24 個	IQ=74, 癲癇
21 SK0244-003 (69163)	M	SPX	21q22.3 (a)	353,936	増加	遺伝子 4 個	IQ=80
22 MM0109-003 (46486)	F	SPX	20q13.33 (a) 22q13.33 (a)	1,427,661 276,702	増加 減少	遺伝子 44 個 遺伝子 13 個 +SHANK3	IQ=不明
23 SK0119-003 (35190)	M	MPX ⁴⁾	22q11.21 (a)	2,771,300	減少	> 遺伝子 50 個	IQ=58, VCF 症候群
24 SK0297-003 (76066)	M	SPX-MZ	22q11.21 (a)	4,281,262	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=107, 異常形態
25 SK0306-004 (78681)	F	SPX	Xp11.23-11.22 (a)	4,643,367	増加	> 遺伝子 50 個	IQ=67

¹⁾表は家系型に基づいて分類されている。異常な核型を持つ発端者 (CHR(1~14)) は、正常な核型を持つ単一性 (SPX) および多量性 (MPX) の家系に属する発端者 (15~25) と区別される。

²⁾核型 (k) またはマイクロアレイ (a) のいずれかによって検出された新規の現象

³⁾新規の CNV/転座を、核型、FISH または qPCR の少なくとも一つによって確認している。CNV の大きさはアレイの結果に基づく。プレイクポイントには正確には定義されておらず、CNV は提示されているものより

小さいか大きい可能性がある。

⁴⁾単一の遺伝子のみが関与しているとき、CNV が変わっている場合 (遺伝子を破壊する)、用語「エクソン」を用い、CNV が完全に遺伝子を含んでいるとき、用語「全部」を用いる。

⁵⁾多量性の家系について、新規の現象は罹患した同胞で検出されなかった。

⁶⁾表3にもある症例25についてのコメント(エントリー#2を参照されたい)

【表 18】

表 6. ASD における再発性およびオーバーラップ遺伝子座

染色体	家系 ID (DNA)	性別	型 ¹	大きさ (bp) ²	CNV	起源	遺伝子 ³	表現型コメント
1	2q14.1 SK0147-003 (47544)	F	SPX	478,370	減少	父系性	DPP10 エクソン	IQ≠不明, NF1
2	2q32.1 SK0288-003 (76420)	F	SPX-MZ	105,120	増加	父系性	DPP10 インترون	IQ≠83
3	6q22.31 SK0306-004 (78681)	F	SPX	97,130	減少	不明	なし	IQ≠87
3	NA0030-000 (55240)	M	SPX	112,323	減少	不明	なし	IQ≠不明
3	MM0220-003 (61180)	M	MPX	318,000	増加	父系性	PLN, cbor1204 全部	IQ≠不明
3	NA0025-000 (60490)	M	SPX	293,989	増加	父系性	PLN, cbor1204 全部	IQ≠不明
4	7q36.2 SK0190-003 (54742)	M	SPX	1,780,000	増加	母系性	DPP6 全部	IQ≠82
4	SK0115-003 (40585)	M	SPX	274,000	増加	不明	DPP6 エクソン	IQ≠不明
4	SK0058-003 (59963)	M	MPX	16,788	増加	母系性	DPP6 インترون	IQ≠111
4	NA0002-000 (52026)	M	SPX	66,462	減少	新規	DPP6 エクソン	IQ≠不明
5	8q11.23 SK0143-003 (36812)	M	SPX	285,200	増加	不明	UNC9433 全部, RB1CC1 エクソン	IQ≠66 失行症, CHD, 発作
6	MM0236-004 (46475)	M	MPX	271,679	増加	不明	RB1CC1 エクソン	IQ≠99
6	SK0270-003 (71341)	M	SPX	38,900	減少	不明	なし	IQ≠91, SLI
7	MM0103-003 (42387)	M	MPX	34,950	減少	父系性	なし	IQ≠107
7	MM0272-003 (45563)	M	MPX	262,938	減少	母系性	なし	IQ≠111, 発作
7	SK0167-003 (60966)	F	MPX	192,846	減少	不明	なし	IQ≠81
8	13q21.32 SK0023-003 (58096)	M	SPX	189,438	増加	不明	PCDH9 インترون	IQ≠91, 発作
8	MM0299-003 (51674)	F	MPX	172,401	増加	父系性	PCDH9 インترون	IQ≠39
9	15q11.2-q13.3 SK0073-003 (57283)	F	CHR	11,922,600	増加	新規	> 遺伝子 50 個	IQ≠不明
9	SK0245-005 (68517)	M	CHR	11,871,747	増加	新規	> 遺伝子 50 個	IQ≠不明
10	16p12.1 MM0109-003 (46486)	F	SPX	1,246,288	増加	母系性	遺伝子 8 個	IQ≠不明
10	MM0289-003 (42267)	F	MPX	802,555	減少	母系性	遺伝子 5 個	IQ≠63
11	16p11.1 NA0133-003 (78119)	F	SPX	525,319	増加	母系性	遺伝子 28 個	IQ≠不明
11	SK0102-004 (31899)	M	SPX	432,800 ⁴	増加	新規	遺伝子 24 個	IQ≠64, 癲癇
11	MM0088-003 (45562)	F	MPX	675,829	減少	新規	遺伝子 32 個	IQ≠87
12	22q11.2 SK0119-003 (35190)	M	MPX	2,771,300	減少	新規	> 遺伝子 50 個	IQ≠58, VCF 症候群
12	SK0091-004 (46407)	F	MPX	4,281,262	増加	父系性	> 遺伝子 50 個	IQ≠126
12	SK0297-003 (76066)	M	SPX-MZ	4,281,262	増加	新規	> 遺伝子 50 個	IQ≠107, 異常形態
12	SK0323-003 (80022)	M	MPX	743,100	増加	不明	遺伝子 7 個	IQ≠不明

10

20

30

40

【 0 0 6 5 】

【表 19】

13	22q13.31	SK0123-004 (60536) MM0102-003 (47598)	M M	MPX MPX	601,528 80,380	増加 減少	母系性 母系性	なし なし	IQ=93 IQ=70
----	----------	--	--------	------------	-------------------	----------	------------	----------	----------------

¹ 系系は、単一性 (SPX)、多重性 (MPX) および染色体異常 (CHR) に基づいてグループ化している。罹患した一卵性双生児を有する単一性の系系は、SPX-MZとして表示する。新規の症例は表々にも現れ、いくつかの系系図は図2および追加の図2に示されている。

² CNWの大きさはアレイの結果に基づく。ブレイクポイントは正確には確定されておらず、CNWは提示されているものより小さいか大きい可能性がある。

³ 単一の遺伝子のみが関与しているとき、CNWが変わっている場合 (遺伝子を破壊している可能性があることを示唆する)、用語「エクソン」を用い、CNWが完全に遺伝子を含んでいる場合、用語「全部」を用いる。

⁴ CNWは1つのアルゴリズムによってのみ呼び出される。

10

20

30

40

親のDNAを試験し、CNVを検証することによって、7.1% (4/56) および2.0% (1/49) の新規の変異率を、特発の単一性および多重性の家系でそれぞれ観察した。細胞遺伝学的異常を保因することを発見した、18症例のうち13症例については親の情報があり、これらのうち7症例 (単一性が6、多重性が1) が元々新規であった。これらのうちたった1/7 (単一性の家系に由来) が均衡であり、遺伝子を直接妨害していたため、この再構成の種類は、本コホートにおける新規の構造の合計変異率への関与が、CNVよりずっと小さいことが予測された。

【0067】

集めたデータは25の新規の症例を同定し (表5)、3つのうち2つ以上の現象を同定した。とりわけ、SK0152の家系 (図4a) では、4つの新規の現象があった。MM019 (図4b) では、2つの新規の欠失があり、1つはSHANK3のハプロ不全を引き起こしていた。

【0068】

ASDに特異的なCNVにオーバーラップすることを見つけた13の遺伝子座は、それらが2組以上の関係のない家系で生じるため、おそらくASD感受性を示しているであろう。6つの遺伝子座では、しばしば遺伝子全体を含む増加および減少が、同じ遺伝子座で観察され (表6)、一般的な遺伝子の調節不全が関与していることを示唆した。

【0069】

q-PCRを用いるか、SNPパターンを評価することによって、196の遺伝性CNV (90が母系性、106が父系性) を確認した。これらのサブグループ化で、明らかな親起源の影響 (検出された染色体15q11-q13の2つの重複は共に元々新規であった) を実際に示すものはなかった。発端者およびその二卵性双生児の兄弟においてPTCHD1欠損を引き起こす、160kbの欠失を、保因者である母親から遺伝した男性で検出した (図4c)。明らかに均衡した遺伝性の転座が、子孫における新規の欠失に付随して起こる事例もあった (例えば、DPYD) (図4d)。

【0070】

同定された候補ASD感受性遺伝子および遺伝子座

同定された新しいASD候補は、ANKRD11、DLGAP2、DPP6、DPP10、DPYD、PCDH9およびPTCHD1を含む、その遺伝子に特異的な構造変化 (新規の、もしくは2つ以上の関係のないASD症例で見つかったもののいずれか、またはX染色体について、罹患していない保因者から母系遺伝した対立遺伝子) を有するものであった (表5および6)。前述の通り、NLGN4、SHANK3およびNRXN1も同定した。DGV (ゲノム変異データベース) 中の対照において、PCDH9およびNRXN1遺伝子もCNVとして見出される。

【0071】

同定されたさらなる位置的な候補遺伝子は、NEGR1、PIP5K1B、GABRG1、KLHL3、STK3、ST7、SATB2を含め、均衡した細胞遺伝学的ブレイクポイントによって妨害されていることが分かった遺伝子であった (表1)。その上、厳密なデータセット中の77のCNVは、関与の証拠となる第2の系を提供する、自閉症染色体再配列データベースとオーバーラップした (図2)。例えば、Xp11.23-11.22での4.6Mbの新規の重複を、女性SK0306-004 (表5) およびデータベース中の男性で検出した。

【0072】

DPP6およびDPP10は、位置的および機能的な候補として明らかになっている。DPP6 (2q14.1にある約1.5Mbの大きさ) およびDPP10 (7q36.2にある約1.3Mbの大きさ) は、Kv4.2チャンネル (KCND2) の発現およびゲート開閉に影響する、アクセサリー膜貫通ジペプチジルペプチダーゼ様サブユニットをコードする。Kv4.2チャンネルは、SHANK3およびNLGN遺伝子産物が見つかる同じ部位の、グルタミン酸作動性シナプス中で、神経伝達物質の放出、および神経細胞の興奮性の調節に働く。さらに、自閉症の均衡したブレイクポイントは、7q31のKCND2

10

20

30

40

50

D 2 付近にマップされている。

【 0 0 7 3 】

D P P 1 0 については、遺伝性の C N V 増加および減少が存在する (表 5、図 4)。新規で遺伝性の C N V を、多重転写物 D P P 6 遺伝子で発見した。エクソン 2 およびエクソン 3 を含む、6 6 k b の新規の減少は、家系 N A 0 0 0 2 の男性で見つかる (図 4 e)。家系 S K 0 1 9 0 では、男性発端者および罹患していない女性姉妹の両方が、D P P 6 全体を含む、罹患していない母から遺伝した C N V 増加を保因する (図 4 f)。(機能性遺伝子を破壊することができる) 第 1 エクソンにわたる 2 7 0 k b の増加を、S K 0 1 1 5 - 0 0 3 で発見した。S K 0 0 5 8 - 0 0 3 は、母系遺伝性の 1 6 k b のイントロンの C N V 増加を保因する (表 1、図 5)。

10

【 0 0 7 4 】

遺伝医学

ワーデンブルグ型 I I A (3 q 1 4 . 1)、発話および言語障害 (7 q 3 1)、精神遅滞 (M R) (1 5 q 2 3 - q 2 4、1 6 p 1 1 . 2) および口蓋心臓顔面症候群 (V C F S) (2 2 q 1 3) をとりわけ含む、遺伝医学的な状態に関与する、構造変異体のオーバーラップ遺伝子座を同定した (表 5)。これらの遺伝子座において構造変異体を同定することにより、臨床の再評価、およびさらなる症候性の特色について、診断の同定または改良のいずれかをもたらした。その他の事例 (例えば、S K 0 1 8 6 - P T C H D 1 の欠失) (図 4 c) により、家系全体の再テストが促進され、以前に診断未確定の同胞における軽症の A S D の診断がようやく促進された。次いでこの家系を、単一性とは反対に多重性と再指定した。

20

【 0 0 7 5 】

2 人の A S D の兄弟において、2 2 q 1 1 . 2 の新規の欠失 (2 . 7 M b) を同定することにより、かれらの再検査および V C F S についての診断につながった。再テストにより、兄弟が A S D スペクトラムとは正反対の位置関係にあることもさらに定義した (図 6)。その他の 2 組の A S D の家系 (S K 0 2 8 9 および S K 0 0 9 1) において、この同じ領域のより大きな重複 (4 . 3 M b) は、V C F S を引き起こさなかった (表 6) が、S K 0 0 9 1 では、この変異が正常な父親から遺伝し、罹患した男性兄弟では見つからなかった。

【 0 0 7 6 】

2 組の A S D の家系 (S K 0 1 0 2 および N A 0 1 3 3) における、1 6 p 1 1 . 2 の再発性の約 5 0 0 k b の重複 (図 4 および図 5) も発見した。D P P 6 / D P P 1 0 および 2 2 q 1 1 . 2 と同様に、A S D ではなくてこれらの構造の変異をもつ保因者が存在した。3 組目の家系 (M M 0 0 8 8) では、発端者はより大きな 6 7 6 k b の新規の欠失を有し、これは、2 人の A S D の同胞のうち 1 人のみで検出されている (図 4 g)。

30

【 0 0 7 7 】

つまり、ゲノム全域スキャン手法を用いて、多数の新しい推定 A S D 遺伝子座 (表 4 および表 5、図 2) を同定した。一般的に、A S D 遺伝子座には、(i) P S D で機能する遺伝子、(i i) および / または精神遅延に関与することが以前に示されている染色体領域を含み、(i i i) 遺伝子発現の調節不全を伴う遺伝子座が含まれる。

40

【 0 0 7 8 】

A S D の遺伝子座に関係している C N V は、S H A N K 3、N L G N および N R X N 1 - P S D の各遺伝子を含み、(完全なデータセットから、とりわけ P C D H 9、R P S 6 K A 2、R E T を含む) D P P 6 および D P P 1 0 にある新しい遺伝子座も同定した。

【 0 0 7 9 】

最後に、S H A N K 3 および W i l l i a m s - B e u r e n 症候群の遺伝子座にある遺伝子などで、遺伝子の領域での遺伝子発現が、発話および言語の発達、および / またはヒトの社会コミュニケーションに関連していることを示す、同じ遺伝子座の C N V の増加または減少のいずれかを有する、6 つの関係のない A S D の症例を同定した (表 6)。

【 実施例 2 】

50

【0080】

ASDのマーカとしてのPTCHD1

上述したように、PTCHD1遺伝子のエクソン1に及び、染色体Xp22.11上のCNVの欠失を同定するために、Affymetrix 500K SNP Arrayを用いるゲノムスキャンを使用した。ヌクレオチド位置1-359に及びエクソン1を、図7にボールド体で示す。PTCHD1遺伝子のCdnA配列(NM_173495)、および対応するコード化タンパク質のアミノ酸配列を図7に例示し、59325のゲノムの大きさ、エクソン/783アミノ酸からなるタンパク質をコードする3つのコードエクソンを例示する。

【0081】

この欠失が、男性発端者のXp22.11上の約156kbの欠失であることを決定した。このCNVの物理的位置は、chrX:22,962,800~23,119,000(UCSC 2004 Assembly)である。欠失は、SNPのプロブrs7055928およびrs1918560(それぞれXp末端から22.956および23.133Mbにある)に挟まれている。欠失領域内で(Affymetrix SNPマイクロアレイから)もっとも近位および遠位のSNPは、SNPマイクロアレイ解析で決定したように、rs7879064(23.119Mb)およびrs4828958(22.972Mb)である。欠失領域内からのPCR増幅産物を使用し、Qpcrによって欠失を確認した(PCRプライマーおよび位置は以下の通りである)。この欠失は、PTCHD1遺伝子のエクソン1全体に及び(NM_173495)。StyおよびNspチップの両データを解析することにより、この現象を同定し、PCRおよびQPCR技法を用いてさらに検証した。以下のプライマーを使用した。

PTCHD - CNV1F ATTCGCAGTTCCCTTCGTCTT (配列番号1)

PTCHD - CNV1R AAAGTGGATTGATCGGTTCC (配列番号2)

PTCHD - CNV2F GCTTGAGGACGTGTTTCTCC (配列番号3)

PTCHD - CNV2R CTAGGAGAGGTGGCGCTCT (配列番号4)

【0082】

CNVがゲノム変異データベース(DGV)およびその他の対照に存在しなかったとき、このCNVは自閉症に特異的である。さらに、この欠失の分離は、家系において特徴付けられ、欠失がヘテロ接合型の母親から伝達されることを特定した。男性の兄弟も言語障害を有した。

【0083】

N=400の自閉症患者における、PTCHD1の変異スクリーニングは、通常の方法で行った。以下のプライマーを使用した。

PTCHD1 - x1F AGCGTGCGCCCTCGCCCT (配列番号5)

PTCHD1 - x1R TCCTTGTCAGGAGGCTGGGA (配列番号6)

PTCHD1 - x1Bf GCGCCCGCTCTGCTCTA (配列番号7)

PTCHD1 - x1Br TCCTTGTCAGGAGGCTGGGA (配列番号8)

PTCHD1 - x2 - F GAATGTCCACCCCTCTCCAAA (配列番号9)

PTCHD1 - x2 - R AAGGCTACTCCTGGCCTTTT (配列番号10)

PTCHD1 - x3a - F CTTTGACCCAGTAGTCCCTCA (配列番号11)

PTCHD1 - x3a - R GCACAAACCCCTTGGTGTA (配列番号12)

10

20

30

40

50

2)
 P T C H D 1 - x 3 b - F T G T G A T T G G G T T T T A C A T A T A T G A G
 T C (配列番号 1 3)
 P T C H D 1 - x 3 b - R A G G T C A G A T T T G A A G G C A C A G (配列番
 号 1 4)
 P T C H D 1 - x 3 c - F A A A A A T G C C C T G G A A G T G C (配列番号 1
 5)
 P T C H D 1 - x 3 c - R T G T G T G A A T T C T C A T A A C A A C T C C T
 (配列番号 1 6)

変異スクリーニングにより、I 1 7 3 V 変異が明らかになった。

10

【実施例 3】

【0084】

さらなる ASD マーカーの同定

900 の関係のない ASD 症例において、P T C H D 1 のコード領域全体をシーケン
 スすることによって、6 人の関係のない ASD 発端者において、6 つのミスセンス変異を
 同定した (表 7、図 8)。臨床的な詳細については表 8 を参照されたい。

【0085】

表 7

被験者 ID	エクソン	変異	スクレオチド	発端者の性別	遺伝	家系型	保因する母親の XCI 状態	集団の家系	ASD の頻度	試験した対照染色体数
家系 1	1	167-kb Xp22.11 の	167-kb 欠失, 破壊	M	母親	多重性	非対称	ヨーロッパ人	427 人中 1 人	2067 (M=769 F=1298)
家系 1	1	167-kb Xp22.11 の	167-kb 欠失, 破壊	M	母親	多重性	非対称	ヨーロッパ人	427 人中 1 人	2067 (M=769 F=1298)
家系 2	2	1173V	517A>G	M	母親	多重性	ランダム	ヨーロッパ人 / 混血	900 人中 2 人	659 (M=219 F=220)
家系 3	2	1173V	517A>G	M	母親	単一性	ランダム	ヨーロッパ人	900 人中 2 人	659 (M=219 F=220)
家系 4	2	V195I	583G>A	M	母親	単一性	NC	ヨーロッパ人	900 人中 1 人	659 (M=219 F=220)
家系 5	2	ML336-7II	1008-9GC>TA	M	母親	単一性	ランダム	アジア人	900 人中 1 人	751* (M=249 F=251)
家系 6	3	E479G	1436A>G	M	母親	多重性	ランダム	ヨーロッパ人	900 人中 1 人	427 (M=137 F=145)
家系 7	1	L73F	217C>T	M	母親	多重性	NC	入手不能	900 人中 1 人	427 (M=137 F=145)

* 試験した 751 の対照染色体のうち N=92 はアジア人であった。

表 8

被験者 ID	性別	変異	臨床的な詳細	家系の病歴	コメント
家系 1	M	I67-kb 欠失	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。 会話の困難、言葉の繰り返し、反復的な興味、社交のための言語使用の遅延。注意欠陥多動性障害 (ADHD)、精神遅滞 (MR) はない。 非言語性 IQ=2%ile	母親は学習障害および発音困難、父親は ADHD 様特徴の病歴。	小児期に重度の頭痛
家系 1	M	I67-kb 欠失	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。 会話の困難、言葉の繰り返し、反復的な興味、社交のための言語使用の遅延。注意欠陥多動性障害 (ADHD)、精神遅滞 (MR) はない。 非言語性 IQ=23%ile	母親は学習障害および発音困難、父親は ADHD 様特徴の病歴。	小児期に重度の頭痛
家系 2	M	I173V	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。 重度の反復言語および行動、運動のワンプターン化、極度の過活動、協調運動不全および先達遅滞、言語：表出性 =40、<1%ile、受容性 =40、<1%ile	父親は 2 型糖尿病を有していた。	
家系 3	M	I173V	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。 ADI の社会性点数 =25、ADI のコミュニケーション点数 =21、ADI の限定的、反復的、および紋切り型行動の点数 =11、ADI の発達点数 =3、正常 IQ。	家系に PDD の病歴はない	
家系 5	M	V195I	3 年 4 ヶ月の年齢で自閉症と診断された。自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。重度の表出性および受容性言語遅延。異形症は観察されない。	家系に PDD の病歴はない	FRX および頭部 CT スキャンは正常であった
家系 5	M	ML336-7II	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。 ADI の社会性点数 =26、ADI のコミュニケーション点数 =14、ADI の紋切り型行動の点数 =5、ADI の発達点数 =4、ADI の社会性およびコミュニケーション点数 =20、ADOS の限定的、反復的、および紋切り型行動の点数 =3	父親は白血病で死亡した。	サラセミアマイナー
家系 6	M	E479G	統合失調症に関連し得るいくつかの特徴が観察された。 高機能自閉症と診断された。	家系に PDD の病歴はない	
家系 7	M	L73F	自閉症診断のための ADI および ADOS-1 基準を満たす。		

10

20

30

40

【 0 0 8 7 】

これらの全ての変異は、高度に保存されたアミノ酸の置換を引き起こし、罹患していない保因する母親から遺伝した。コンピューター内でのタンパク質モデリングに基づくと、3つの変異 (L73F、I173V、V195I) が、細胞膜の外側に位置する、予測されたアミノ酸ループに存在する。このループは、リガンドである Hh と相互作用すること

が推測される。別の変異である2つのアミノ酸の置換ML336-337IIが、予測された膜貫通領域内に存在した。最後に、E479Gの変異が、予測された細胞質内のアミノ酸ループ内に存在した。6組のうち5組の家系において、これらの変異が表現型でわかれた。I173VおよびV195Iの変異については対照(439)、ML336-337IIについては500の対照、およびL73FおよびE479Gについては282の対照を試験した。これらの変異は対照では存在しなかった。さらに、これらの変異が全て、男性発端者への母系遺伝であり、我々の対照集団では観察されなかったという事実は、これらの変異がASDに関連していることを示す。したがって、これらの変異が自閉症の病因に関与しており、おそらくその他の疾患に関連する遺伝子座との組合せにより、ASDの表現型を生じると仮定することは理にかなっている。

10

【0088】

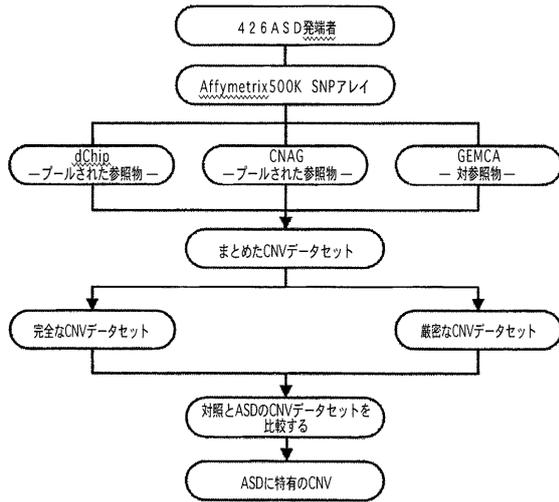
興味深いことに、表7/8に報告したASDの家系のうち2組(家系2および家系4)では、その他のASD関連CNVを同定した。家系2では、I173Vの変異に加えて、DPYD遺伝子全体の欠失を引き起こす、1p21.3の約1.0Mbの新規の減少を同定した(NM_000110.3)。DPYDは、ピリミジン代謝に関与する律速酵素であるジヒドロピリミジン脱水素酵素(DPD)をコードする。完全なDPDの欠損は、痙攣性障害、運動遅滞、およびもっとも頻繁な所見である精神遅滞を伴う、非常に多様な臨床結果を引き起こす。家系4では、V195Iの変異に加えて、DPP6のエクソン3、およびDPP6タンパク質のN末端の終末側の33アミノ酸の欠失を引き起こす、7q36.2の66Kbの新規の減少を同定した。これらの症例はASDへの2つの遺伝子の(digenic)関与を証明する。

20

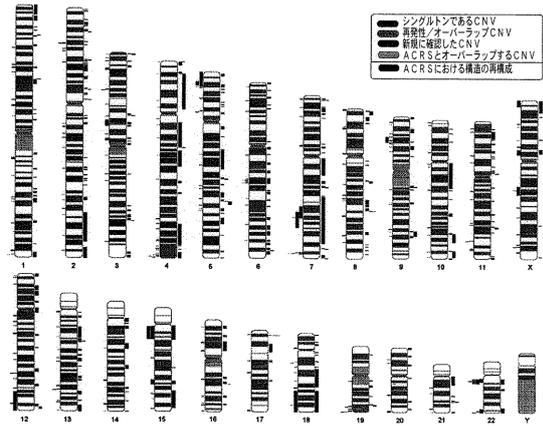
【0089】

Gli2の発現を抑制するこれらのPTCHD1変異体の能力を、野生型と比較して、変異体において機能の減少が見られるかどうかを決定した。線維芽細胞NIH10T1/2にCMVの空ベクター、ルシフェラーゼ遺伝子と融合したGli応答性プロモーター(Gli2 pro)、-Gal(正規化)、およびPTCHD1変異体発現プラスミドをトランスフェクトした。少なくともE479GおよびML336-7II変異体の機能の軽度の減少により、野生型と比較してGli2の発現の増加が引き起こされた。

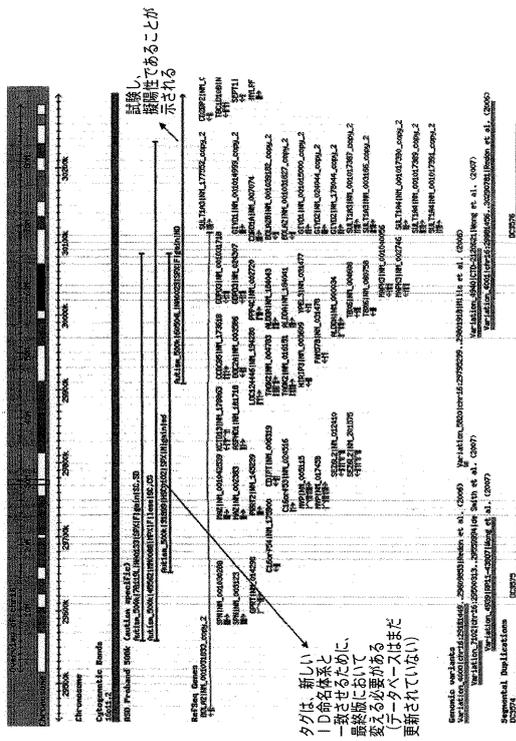
【 図 1 】



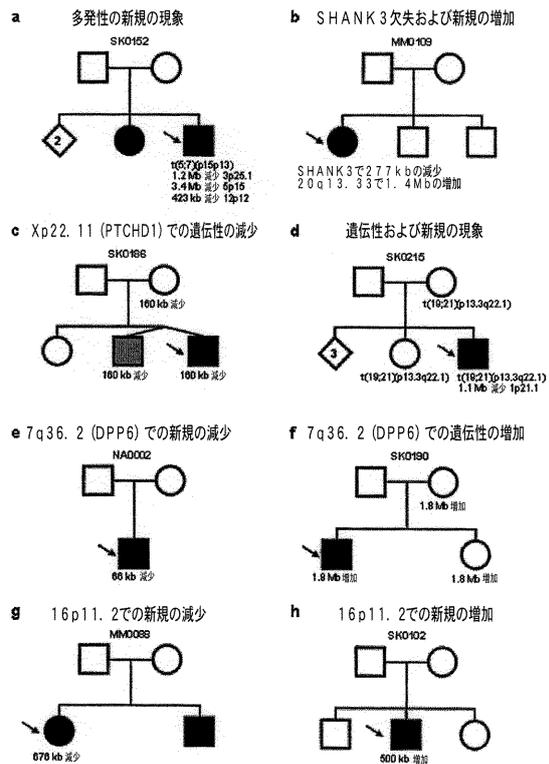
【 図 2 】



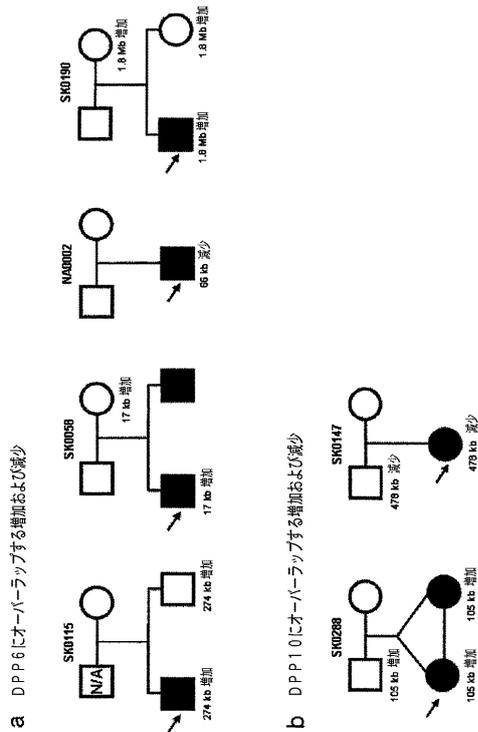
【 図 3 】



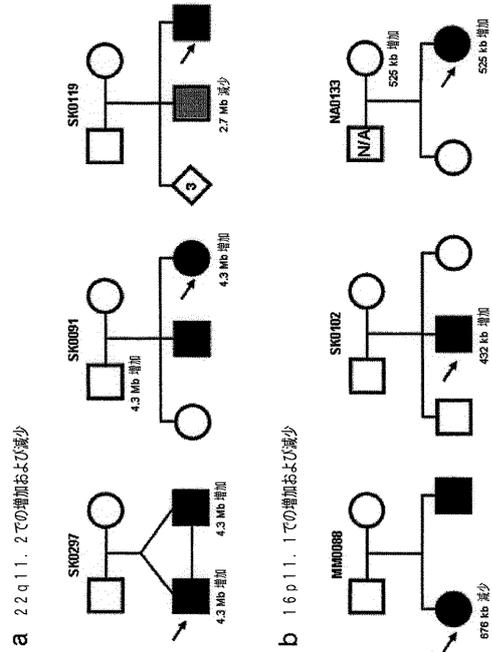
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 A - 1 】

GCTTAGAGT	GCRCGGCAG	GTTCGSCGA	GGGCGTGG	GACGTGTTT	50
TCGCGCTCG	GCACCTTCA	TCGCGATCAC	CGTCTCTTC	TCGCGCGC	100
CGCGGTGCT	ATFCPCATCC	TCGTCGCGC	CAGCTTCAG	CGCPACAGG	150
TCGAGGAGG	CGTGGAGCAC	CTGCTGGCC	CCGAGCACG	CCTGGCCAG	200
ATGAGGCGCA	ACCTCGTAA	CAGCCTCTC	CGGTCACCC	GCTCCAAACA	250
CGCTCTCTAC	TCGAGACTGC	AGACCOCGG	GGGTACGGC	CGGTCATCG	300
TCACTTAAAGT	TCGAGAAAGC	ACAAGTCTG	ACCAGATCA	CACCGACTG	350
ATCTTAAAGT	TCGAGTCTGC	TCGACCAAG	ATCCAGGTC	CAAGCGCTG	400
TTTTAATTAC	ACGTTTGCC	ATATATGAT	CCTGAATAA	GATAAGACTT	450
GCATCGTGA	TGACATAGT	CAGCTCTCG	AAGAGCTAA	GAATGCTCG	500
GCACCAATC	GGACCAATTT	TGCTATACA	TACCATACA	CTCACTTAA	550
GGACGGGAG	CGTCTGTACA	ATGGSCACA	GCTTGGGGC	GTCACGTGC	600
ACGCAARA	CGGGTGA	TCGCGAGG	CCATCCACT	CACCTACTAC	650
CTCGACTCA	TCACAGTCT	TCATGATCG	TGGCTGAGA	GGTGGGATC	700
CAGCTTCTG	GACACTGTCA	GACTCTTCA	GAATCCAA	AGCAAGATCA	750
AAATGTACC	TTACACGTCC	TCCTACTGA	GGGAAGATT	CCAGAAGCC	800
AGCCCGGAT	CAGAACGTTA	CCTGTCAAC	AGCCGATTC	TGGTGGTAC	850
CATGGCCAT	CTGTGTGCT	CTATGCAAG	CTGGCTCCG	AGCAAACTC	900
GGTGGCCCT	GCTGGATTG	GTGACATAA	GCCGCGCAC	TCTCACTGA	950
CGCGGGATCA	TCAACTCTAC	TGCTGGGAA	TATATTCCA	CCTTCTGGG	1000
AGTCCCTCT	GTACTGTAG	GTCACTGAT	ATATGGACT	TTTGAATGT	1050
TATCTCTCT	GGGAAACT	AGAGAGCC	ACACTGTAA	AGGAGAATC	1100
CGCAGCTCT	ATCGAGACT	CATGCTCTC	TTTTCTCA	CACCTCCAT	1150
GTACTGTCT	ACCTTTGCA	TAGSSGAC	CCCTTCCAG	ACATTTAGG	1200
CAGCAGAGT	AACTCTCTA	TTCGATCTT	CTTCAACTC	1250	
CTCTATGAT	TCTCTGTTA	TGTTCTCAG	CTAGTGTCA	CTGGTACTA	1300
AGAAAACAAT	TACCAGATA	GTATCTCTG	TAGAAAAGT	CCAAAAGCTG	1350
AGGCATGCA	GGAGAAGCC	GCATGGTCA	GGTTCTCTC	GACGGCCAG	1400
TTCACTGAG	ACACAGCTG	AGCCGAGAA	CGACACTT	ACGAGAATCA	1450
CCATTTGTA	TGTTCTCTA	AGCCGATTA	CTGTGACTG	ATAACCAACA	1500
CTTAGTCA	GCCTTTGTA	GTCTCTTT	ACCTTATTA	TATTTCCCTT	1550
GCCTTATGG	GCTATCTGA	GTCTAGTGA	GGTCAAGC	TACTAGACT	1600
TGTAGCAAC	GGCAGCAAA	CCATAGTGA	CACACTGCC	CAGCAAAAT	1650
ACTTACAGCA	CTACAGTCT	GTGATGGGT	GTTCATATA	TGAGTCTATA	1700
GAATCTGGA	ACACTAGGT	CCAGAAGAT	GTCTAGAA	ACACCAAGGG	1750
GTTTGTGCG	ATATCTGGT	TTGAGAGTA	TTTTAATTAC	CTTGGGAAC	1800
TCAACTGAT	CACCTGGCT	CCTAAGAAA	ATTTACAGCA	CATGTTGAG	1850
AAATCCCTT	TGAAAGCCC	TCAAATTTCA	CATTTTCA	AGGACATCAT	1900
CTTCTTAAA	AAATCAATG	ATGAGTCTGA	TGTAGTGCC	TCAGAAATG	1950
TTTTGTGGC	CAGAACATG	GAAACAACA	GAGAAACT	CTATGACTC	2000
TTGAAACCC	TGAGGAGCT	TTCTGTACC	TCGAGGTGA	AGTTCACTGT	2050
CTTCACTCG	TCCTTTGTA	ACATGATGG	ATATGCTCC	TCTCTGGGG	2100
CCGCTCTCA	CAACTCTGC	ATCAAGCTC	ATCTCTCTC	CTTCTCTCC	2150
CGATTCCTG	TGGCAGTTC	ACTGATTAAC	GTCTGGATCA	CTTCCAGAT	2200
TGTGTCCGG	GAGTTTGGAG	TGATAGTGT	CATGACATA	TGGAAAGT	2250
AACTGGACTG	CATTTCTGTG	CTATGCTTA	TTTTAGAA	TAATTTACCA	2300
ATTCAGAA	GTGCTCCAA	TTGTTCTGG	GCAAGGATT	2350	
CACAGAAGT	AAATGGGTA	AAATGGCTC	GGAAGTCA	GGGTAGCTA	2400
TTTTACAGAG	TTACTCTCG	TATTTGTTG	GTCTGATCC	TCTTGCAGT	2450
GTGCTTCAA	ATCTGACTG	TACACTGTC	AGTGTCTGT	TTTTAATAG	2500
ATTTGTACC	TCTTTGACT	GCTTTGCCAT	TTTACCTGTG	ATACTGACT	2550
TCTTCCACC	CCTTAGAAA	AAAGSARAG	AGAGAAAAA	TCTTGAAGT	2600
CGGAGGAAA	TGAGTGTGT	AGAAATGTA	GATATGTA	GTACCGTGT	2650
GGTTGACCA	ATTACACAG	TGTGATPAG	TCTGCTGGC	ATATTTTCC	2700

【 図 7 A - 2 】

CTTAGTCTT	ATCAAGACA	AAGAGTAT	CTTATGAA	CAATTAAT	2750
CAAAATCTT	CCCTTTTTA	AGATAGGAA	ACAGGCTTG	CCAAAATAA	2800
AAAAAATAA	AAAGGAAG	GACAGTGGG	AGAAATGGC	CTGGCATAT	2850
TTCACTTTT	AAACAAGG	AGTTGTATG	AGAATCCCA	CACACATAGA	2900
CACACACAC	CACACACAC	CACACACAC	CACACACAC	CCCTGGGAA	2950
CCTATAGTC	CTTAACTAA	GATCAAGAT	AAGAAAGCT	ATTACAAGC	3000
AGGATCCTG	CTTATCCAA	TGCGAGATG	TGCTGGATT	GTGACAAAAC	3050
CCACTGATT	AAAGTCAAC	TGCCAGGCA	GAAACACTT	TACGACTGT	3100
TCAAAACATA	AGGCTCCAG	AACTCTGTA	GAGCAGTCC	CCAGTCACT	3150
GTCTGTGTT	TGAGGTTTTA	GCTGTCTAC	CTAGTCCCT	AACTGTGAG	3200
GAGACTACT	TGAAAGTCT	GACCAAGAA	AGCAAGCCG	AGCCTTGGAA	3250
ACTGATATG	GGTAGAGTG	CAATCACTA	TGGATAAA	TGATTTACC	3300
GCTAATTTA	CCAGTGA	GAGTTTCT	TGCTAGAT	GAAATTTCA	3350
TATCCGCA	TGATGTGC	TTTAACTTT	GTATGTTG	GTTCCTTAA	3400
AACACTTAA	AAACATGAC	AGCTCCAGC	CTGAGAAAT	GGTGTATTC	3450
TACTTTGAA	TAGCTGTCA	CTTGTACCA	AATGGGCTG	CTTTATTAG	3500
TACAGCTCT	GGCAGGAGG	TCCAGGACC	CAAAACACA	GGCCAAACC	3550
CAAACTCTG	CGATGATGA	GCAAAAGCA	GTGTCTACT	GGACCCAGT	3600
ATAGTGTCT	CATTTTACA	ACACAACAA	AATGCCACC	TGTTACAGCT	3650
GTTCGATTG	GCCTACATG	CATTTTTTG	ATGGATTC	AGAAACTTC	3700
GCCACACAA	AACTGGGGG	AAAAAATG	AACTGAAA	TAGTTATTG	3750
CTGTGCTTC	CAACTGTAG	TGCGAGTCT	CCTTTGCTG	GAACACACC	3800
TGCTCAGGA	CAGAGAGGG	AGAGAGTCT	TTGGTATG	TAGTCTTCA	3850
CGCTGAGAG	CTTTGAAA	GTGCGGAGG	ATAGGGGCC	AAAGGAGGA	3900
TGAGTGAAA	ACACTGGAAA	AGATATTAC	GTATACAA	CTATCAATG	3950
TGGAGTCCA	ATTCCTCTG	TAAAGGCTC	GCACCTCAC	TGCTGGTTC	4000
CCCCACACC	TTTTTTGAT	TCATTTGCG	TCATCATAG	AAGGCCGCT	4050
TGTAATTTA	CAAGCTAGA	TATTTACTG	CTTGACTCC	AGTACTACA	4100
GAGAATGGT	TCAATGACT	AAACAGAA	GGTTAGATC	TAAAAAGCT	4150
GTATACGTT	CCAGGCCCC	TGCATTTCT	TAAATTTAT	AAAAATGAC	4200
TAAAACCTG	TTACATTTG	AGCAAAATC	TACAGTATT	TTCCCTTTA	4250
GAGATGTAG	TCTTTAGAC	ATCTGTAGT	GTAAAGCAT	CCCAAAAGCA	4300
TCTTACTTT	CTGACCTTA	GCGACATAC	TGCGAGCTT	ACCTTCTTC	4350
TCCAGAGAG	GAACTGAGA	CTGAGAGA	TAACTGACT	CACCTGACT	4400
ACACACTTA	AGGTTTCA	TCAATTCAG	ATACCTACA	CAGGGCAGT	4450
CAATTTGAG	TATTTCTATA	AGATGGCTT	TACTCTTGA	AAATGACTT	4500
TCCAAGTGA	GAACTAGGA	CTTGTGGC	CACAGGGAC	ACATTTTTT	4550
AGTGTCTGA	ATATAAATG	TTGAGGTTA	GGTTGGCAT	TGCTTTTCA	4600
AAAGGCCAA	TAATTCAGT	GTAACACAC	CAAGTGCAA	CCTGTGCTT	4650
CAATTTCA	TACTTTGTC	CATACAGTC	TAAATGACT	TGCAAGGGAT	4700
TGTAGTAA	GCATACACA	GCTGTGACT	CTTCTTGA	GACACACTAA	4750
GTGATCATC	CAAGTGTTA	TACACTCAC	TAGAAGATA	TAAGCTTTA	4800
TCTGAGGCA	AGTACAGTC	TGACAAAAG	GCAAGTTTC	ATAATGATC	4850
TCTGATCAT	TCTCTCCA	AGGGGCCCC	ACCTGACTA	TAATCTTAA	4900
AACACACTG	AAAGGGGAT	TGCTTTTACT	GTAAATCAT	GTCTTCTAA	4950
ATCATTTCT	GACAGTGTG	TCTAATACA	GCAATGAT	TAGCTGACG	5000
CAGTGGAGC	ACCTCGGCT	AAAGCAGCT	CACAAACCT	CACAGACAC	5050
ACACCAACT	TAATGGATT	TTGTTAGAA	TTAATCAT	CAATTTGCT	5100
AACCAAGAT	ACTTCTGTC	GAACTCTGT	TTATGAGTA	TAATGTTTT	5150
CCACTTGAT	TGAGTCTCT	TATACCCGG	GATATGAT	TTTTAATA	5200
AGGGCAATTT	CAAACTTCC	AACTCTCTT	TTCAGCACT	GAAATGAGG	5250
CTTAGGAA	TCTGACTGT	AAATGAA	TTCTATTGG	AAAAAATAA	5300

(つづき)

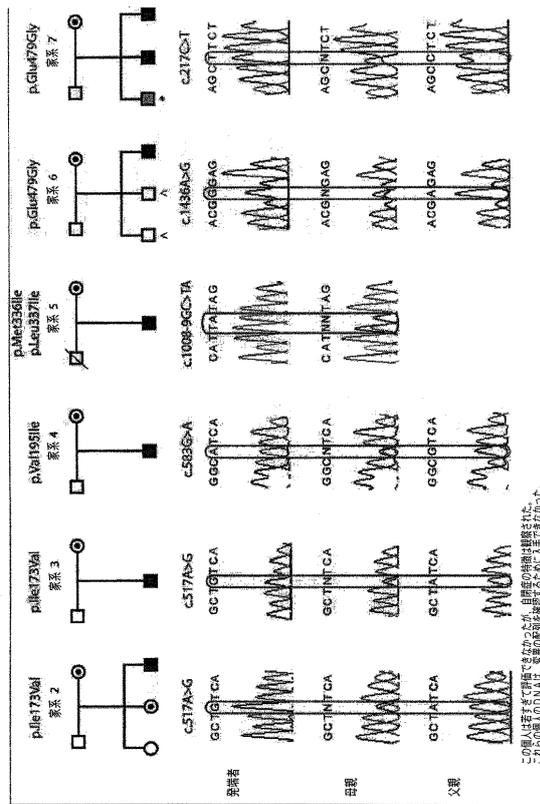
【 7 B 】

```

MLRQVLHRLGRLTCSRGLGHFIASHPVFFASAPVLSILLGASFSRYQVEE
SVEHLAPQHSIAKIERNLVNSLFPVNRSKHRLYSDLQTPGRYGRVIVTS
FQKANMLDQHHTDLILKHAAVTKIQVPRPFPNYTFAHICILNNDKTCIV
DDIVHVLEELKNARATNRTNFALTYPIHLKDGRAVYNGHQLGGVTVHSK
DRVKSAEAQLTYLQSIINSLNDMVAERWESSFCDTVRLQKSNKVKMY
PYTSSSLREDPQKTSRVSEYRVLVTSLLLVVTMAILCCSMQDCVRSKFWLG
LLGLVTSLSLTLTAAGIINLTGKRYNSTFLGVPFVMLGHGLYGTFFMLSS
WRKTRDQHVKERTAAVYADSMLSFSLTTRWLVYTFGICASFNIEAR
IFCCNSCIAIFFNLYLVLSFYGSSLYETGYIENNYQHSIFCRKVKPEAL
QEKPAWYRFLLTARFSEDTAEGEANTYESHLLVCLKRYCDMIINTYV
KPFVLFYLIYSFALMGYLQVSESDLSNIVATATQTIETTAQQKYFS
NYSVPVIGFYIYESIEYWNISVQEDVLEYTKGFVRIWFSYLYNLRLKLV
STGLPKNFMDLNRNSFLKAPQFSHFQEDIIIFSKKYNDVDDVVASRMFLV
AKTMEKNREELYDLLETLRRLSVTSKVKFIVFNPFSFVYMDRYVASSLGAPL
HNCSISALFLLFFSAFLVADSLINWVITLVVSVVEGIVGNTLWKGVELD
CISVLCIYGINITYIDNCAPMLSTFVLGKDFTRTKWVRNALEHVGVAILQ
SYLCYIVGLIPLAAVPSNLTCTLFRCLFLIAFVTFHCFALPVLITFLP
FSKKRKRKKNFENREEIECVEMVIDDSTRVVDQITTV

```

【 8 】



【 配列表 】

0005680964000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 スティーブン ダブリュ. シェーラー
カナダ エム5ジー 1エックス8 オンタリオ トロント ユニバーシティ アベニュー 55
5 セイント 5286 ザ ホスピタル フォー シック チルドレン内

(72)発明者 ジョン ビー. ピンセント
カナダ エム5エス 2エス1 オンタリオ トロント ラッセル ストリート 33 センター
フォー アディクション アンド メンタル ヘルス内

審査官 上條 肇

(56)参考文献 国際公開第2006/003523(WO, A2)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12Q 1/68

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq

PubMed

GeneCards