

# 自閉症スペクトラム障害におけるリンパ芽球を用いた mRNA 発現定量解析についての検討およびリスク遺伝子と神経機能についての関連解析

—Gene expression analysis in lymphoblasts derived from patients with autism spectrum disorder—

安田由華<sup>1,2</sup>、橋本亮太<sup>1,2,3</sup>、山森英長<sup>1,4</sup>、大井一高<sup>1,2</sup>、福本素己<sup>1,2</sup>、梅田-矢野聡美<sup>4</sup>、毛利育子<sup>3,5</sup>、伊藤明<sup>4</sup>、谷池雅子<sup>3,5</sup>、武田雅俊<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>大阪大学大学院医学系研究科精神医学教室、<sup>2</sup>CREST (Core Research for Evolutionary Science and Technology)、JST (Japan Science and Technology Agency)、<sup>3</sup>大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所附属子どものこころの分子統御機構研究センター、<sup>4</sup>大阪大学大学院医学系研究科分子精神神経学 (大日本住友製薬) 寄付講座、<sup>5</sup>大阪大学大学院 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究所

## <要旨>

自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、社会的相互作用および言語的および非言語的なコミュニケーション能力の重篤で広汎な障害を来す神経発達障害である。また、ASD は、常同的な行動、興味、活動といった特徴も有する。これまでに *Neuroligin (NLGN) 3/4*、*Neurexin (NRXN) 1*、*SHANK3*、*MeCP2* や *NHE9* の様な遺伝子の稀な変異が ASD と関連があることが報告されている。そこで我々は ASD 患者 35 例と健常発達者 35 例、統合失調症患者 45 例と健常者 45 例の末梢血より樹立した不死化リンパ芽球を用いて、*NLGN3/4*、*MeCP2*、*NRXN1*、*SHANK3*、*MeCP2*、*NHE9* および *AKT1* の遺伝子の mRNA の発現量を real-time quantitative (RT-PCR) を用いて比較検討した。その結果、ASD では健常者と比較して *NLGN3* と *SHANK3* 遺伝子のリンパ芽球における mRNA の発現量は有意に減少していたが、*MeCP2*、*NHE9*、*AKT1* 遺伝子の mRNA の発現量については差が認められなかった。しかしながら、統合失調症患者では健常者と比較してこれらの遺伝子の mRNA 発現量に有意な差は認められなかった。また、*NLGN4* と *NRXN1* 遺伝子の mRNA はリンパ芽球において測定することができなかった。

以上の結果は *NLGN3* と *SHANK3* 遺伝子の発現が ASD 患者由来のリンパ芽球において、健常者と比較して減少する可能性を示唆している。つまり、これらの遺伝子の mRNA の発現量の減少が ASD の病態に関与していることが考えられる。

## <キーワード>

自閉症スペクトラム障害 (ASD)、リスク遺伝子、リンパ芽球、mRNA 発現定量解析

### 【はじめに】

自閉症スペクトラム障害 (ASD; Autism spectrum disorders) は、重篤で広汎な神経発達障害であり、社会的相互作用の障害、言語的・非言語的コミュニケーション能力の障害、常同的行動・興味・活動を特徴とする。ASD の有病率は 0.2-1.0% である (文献1)。さらに、双生児研究や家族研究により遺伝率は約 90% と報告されており (文献2)、環境因子と様々な

遺伝的因子が組み合わさった多因子疾患であると考えられている。近年の遺伝子研究により ASD を引き起こすいくつかの脆弱性部位と遺伝子変異が同定された。そのうち、最も注目されているものの一つが、神経シナプスのタンパク質をコードする遺伝子である (文献3)。

染色体 Xq13 と Xp22.3 に位置する *neuroligin3/4 (NLGN3/4)* 遺伝子は ASD 患者やそ

の他の神経発達障害患者において見出された（文献4-8）。*NLGN3*(Arg451Cys)遺伝子の変異はNLGN3タンパク質のプロセッシングを欠失させることが知られている（文献9）。さらに、*NLGN4*遺伝子の1186insT変異はフレームシフトを起こして421アミノ酸が欠損した（タンパク質の51%の）未熟な*NLGN4*遺伝子(D396X)を作る（文献4）。Neuroiginは哺乳類の脳において興奮性シナプスであるグルタミン酸や抑制性のGABA系シナプスを編成する上で必須の後シナプスに存在する、細胞接着分子とシナプス前 $\beta$ -neurexins (NRXN)と結合しており、軸索と連絡する際の機能的な前シナプス構造を形成する契機となる。染色体2q32に位置する*neurexin1* (*NRXN1*)遺伝子の変異もASD患者から発見された（文献10-13）。さらに、新規のコピー数多型解析によりASD患者の*NRXN1*-containing遺伝子の領域に欠失が認められた（文献14）。NRXN1とNLGNの結合体はシナプスを発達させる（文献15）。また、*NLGN3*遺伝子の変異はNRXNとの結合能力を障害する（文献9）。さらに、neuroiginは同じくASDと関連する、後シナプスの足場タンパク質であるSHANK3と結合し（文献16）、染色体22q13.3のテロメア端に局在する。SHANKタンパク質は神経伝達物質受容体、イオンチャンネル、他の膜たんぱく

質をアクチン骨格とG蛋白共役シグナル経路と結合する、また、シナプス形成と樹状突起の成熟に関与する（文献17）。*SHANK3*遺伝子を含む遺伝子部位の欠失・転座や*SHANK3*遺伝子の新奇の変異は未成熟な終止コドンを生じさせ、これらはASDで見出されている（文献16、18、19）。

自閉性障害の家族研究ではMorrowらがASDと*sodium/hydrogen exchanger 9* (*NHE9*)遺伝子の変異との関連を報告している（文献20）。特に、彼らはASDの患者においてCGAがTGAにかわり、アルギニン423が終止コドンに変わるナンセンス変異を発見した（文献20）。*NHE9*遺伝子は、染色体3q24にあり、膜のイオン流入を制御するNa<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>エキスチャンジャーファミリーの一つである（文献21）。一方、Ret1症候群は、PDDの一つであり、*methyl-CpG-binding protein 2* (*MeCP2*)遺伝子が、その原因遺伝子である。MeCP2はメチル化CpGジヌクレオチドと結合する翻訳抑制体であり、通常は遺伝子プロモーターに位置してヒストンジアセチラーゼ1 (HDAC1) やクロマチンの抑制に関与する他のタンパク質を誘導する（文献22）。Ret1症候群の女性患者の80%において、*MeCP2*遺伝子のde novo変異が染色体Xp28にある。また、(PI3K)/AKT経路の異常がASDに関与するという報告がいくつかあるが、*AKT1*遺伝子の変異で

ASDの原因になるという変異の報告はない。リン酸化/活性化されたAKTキナーゼの発現は自閉症の脳で減少している(文献23)。PTEN遺伝子(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)は、PI3K/AKT経路の主要な負の制御因子であり、PTEN遺伝子の変異はASDと関連がある(文献24)。

近年、リンパ芽球化細胞を使用して、レット症候群や双極性障害、脆弱X症候群などの神経精神疾患と候補遺伝子の生物学的な関連が同定されるようになってきている。そこで我々は、ASD患者、統合失調症患者および健常者から樹立した末梢血由来の不死化リンパ芽球化細胞において、前述のような、様々な遺伝子のmRNA発現レベルを比較検討した。

#### 【方法】

##### 対象者

対象者として、日本ヒト脳表現型コンソーシアムのリサーチバイオリソース(<http://www.sp-web.sakura.ne.jp/consortium.html>)のASD患者、統合失調症患者、健常者のmRNAサンプルを使用した。第一群として、ASD患者35例と健常者35例を使用した(表1)。ASD患者と統合失調症患者は共に大坂大学医学部附属病院の入院及び外来患者であり、2人以上の熟練した児童精神科医もしくは小児神経科

医がアメリカ精神医学会精神疾患診断基準第4版-改定版(DSM-IV-TR)を用いて診断した。また、診断にあたり日本自閉症協会による広汎性発達障害評価尺度および日本語版アスペルガー質問紙を用いて診断の参考とした。その結果、20名は自閉性障害、11名はアスペルガー障害、4名は特定不能の広汎性発達障害(PDD-NOS)と診断された。また、ASD患者のうち、11名において、知能指数(IQ)が70未満であった。第二群として、年齢と性別をマッチさせた統合失調症患者45例と健常者45例を用いた(表2)。統合失調症の診断は、2名以上の熟練した精神科医によりDSM-IV-TRを用いて構造化面接を用いて実施した。

健常対象者は、生物学的に独立した日本人であり、DSM-IV、第I軸疾患、非患者ヴァージョン(SCID-I/NP)の構造化面接を用いた。(1)神経疾患、精神疾患、中枢神経疾患を有する可能性のある者、(2)精神疾患を有する、および/または精神科薬物療法を受けたことのある者、(3)第二親等以内に精神疾患の近親者のいる者、(4)ウェクスラー式成人知能検査第3版によるIQが70未満の者、以上の者については排除した。また、全ての対象者に対して、本人もしくはその保護者に対して、書面を用いてインフォームドコンセントを実施した。この研究は世界医学

協会のヘルシンキ宣言に準拠しており、大坂大学倫理委員会の承認を得て行われた。

#### 不死化リンパ球の樹立と RNA 抽出

株式会社 SRL に委託して、末梢血から EB ウイルスを用いて不死化リンパ芽球を樹立した。不死化した患者由来リンパ芽球を 20%ウシ胎児血清を用いて培養した。RNA は the RNeasy Mini Kit (Qiagen K.K., Tokyo, Japan)を用いて細胞より抽出した。RNA は 260nm で吸光度を測定してアガロースゲルによる電気泳動で解析した。

#### Dnase 処理と逆転写反応

RNA は DNase Treatment & Removal Reagents (Ambion, Austin, TX, USA) を使用して DNA を除去した。RNA (10  $\mu$ g) を the SuperScript First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) を用いて cDNA を合成した。

#### リアルタイム定量的 RT-PCR

The Pre-Developed TaqMan Assay Reagent kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を使用して *NLGN3*, *NLGN4*, *NRXN1*, *SHANK3*, *MECP2*, *NHE9*, *AKT1* およびハウスキーピング遺伝子 ( $\beta$ -actin 遺伝子および *TBP* 遺伝子) の mRNA の発現量を定量した。プライマーは Applied Biosystems で購入した(遺伝子名: ア

ッセイ ID、 トランスクリプト ID、 標的領域;

*NLGN3*: Hs01043809\_m1 , NM\_181303.1 , Exon4-5; *NLGN4*: Hs00535592\_m1, NM\_020742.2, Exon1-2; *NRXN1*: Hs00985123\_m1 , NM\_001135659.1 , Exon22-23; *SHANK3*: Hs01586468\_m1, NM\_001080420.1, Exon22-23; *MECP2*: Hs00172845\_m1, NM\_004992.3, Exon2-3; *NHE9*: Hs00543518\_m1 , NM\_173653.3 , Exon7-8; *AKT1*: Hs00920503\_m1, NM\_001014432.1, Exon13-14;  $\beta$ -actin: 4326315E, NM\_001101, 領域なし; *TBP*: 4326322E, NM\_003194, 領域なし)。これらの遺伝子の発現量はリアルタイム qRT-PCR 法を用いて、ABI Prism 7900 Sequence Detection System (Applied Biosystems) の 384 ウェルフォーマットにより測定した。PCR データは Sequence Detector software (SDS version 2.1; Applied Biosystems) により取得し、スタンダードカーブ法により定量した。各々の遺伝子の発現量はハウスキーピング遺伝子によって相対補正した。

#### 統計解析

統計解析は SPSS の Windows version 16.0 software (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan) を用いた。群間比較は、カテゴリーデータ (性別) は  $\chi^2$  検定、連続変数は Mann-Whitney U テストを使用した。mRNA の翻訳レベルの群間比

較には、Mann-Whitney U テストを使用した。その後の検定においては、Bonferroni の多重検定を行った。P 値は両側検定で  $P < 0.05$  を有意とした。

### 【結果】

35 例の ASD と 35 例の健常者の不死化リンパ芽球における、*NLGN3*、*SHANK3*、*NHE9*、*MeCP2* と *AKT1* 遺伝子を 2 つのハウスキーピング遺伝子である  $\beta$ -actin と *TBP* で補正した (図 1)。 $\beta$ -actin または *TBP* で補正した *NLGN3* 遺伝子の mRNA 発現量は ASD 患者において、各々 35% または 26% 減少していた ( $\beta$ -actin:  $P = 0.00024$ ; *TBP*:  $P = 0.00089$ )。  $\beta$ -actin または *TBP* で補正した *SHANK3* 遺伝子の mRNA 発現量は ASD 患者において、各々 39% または 40% 減少していた ( $\beta$ -actin:  $P = 0.000036$ ; *TBP*:  $P = 0.0061$ )。 *NHE9* 遺伝子の mRNA 発現量は 24% ( $P = 0.052$ ;  $\beta$ -actin 補正) と 39% ( $P = 0.048$ ; *TBP* 補正) 増加していた。  $\beta$ -actin または *TBP* 補正した *MeCP2* 遺伝子は二群間で有意な差はなかった。 ( $P > 0.1$ )。 *AKT1* 遺伝子の mRNA 発現量は 11% 減少していた ( $P = 0.03$ ;  $\beta$ -actin 補正); しかしながら、*TBP* 補正においては有意差は認められなかった ( $P = 0.45$ )。その後の多重検定により *NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子の mRNA 発現量は健常者と比較して ASD 患者にお

いて有意に減少していた (*NLGN3*: corrected  $P = 0.0012$ 、 $\beta$ -actin 補正、corrected  $P = 0.0045$ 、*TBP* 補正; *SHANK3*: corrected  $P = 0.00018$ 、 $\beta$ -actin 補正、corrected  $P = 0.03$ 、*TBP* 補正)。しかしながら、*NHE9* 遺伝子と *AKT1* 遺伝子においてはその後の多重検定により、有意差が認められなかった ( $P > 0.1$ )。

次に、疾患特異性を検討するために、*NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子の不死化リンパ芽球における mRNA 発現量を 45 例の統合失調症患者と健常者で比較検討した (図 2)。  $\beta$ -actin 遺伝子または *TBP* 遺伝子によって補正したこれらの遺伝子の mRNA 発現量は、統合失調症患者と健常者の間で有意な差を認めなかった ( $P > 0.2$ )。これらの結果は、*NLGN3* 遺伝子および *SHANK3* 遺伝子の mRNA 発現量の減少が、ASD には関係しているが統合失調には関係していないことを示唆していると考えられる。

### 【考察】

今回の研究により、我々は ASD 患者において健常者と比較して *NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子が有意に減少している可能性があることを見出した。これまで、ASD の候補遺伝子の変異は稀であり、特異な ASD において、その関連が見出されてきた。我々の結果は、候補遺伝子の稀な変異だけでなく、これらの遺伝子の翻訳レベ

ルにおける機能的な変化もまた、ASD の病態に関与している可能性があることを示唆している。*NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子はシナプス関連遺伝子であり、ASD では障害されていることが報告されている。一方で、*NHE9* 遺伝子や *MeCP2* 遺伝子といった、他の遺伝子は、シナプスにおいて主要な役割を担っておらず、ASD では障害されていることが見出されていない。これらの知見は、シナプスの機能障害が ASD の病態に関連することを示しているのかもしれない。

ASD 患者のリンパ芽球における、*NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子発現量の減少は、先行研究における、これらの遺伝子の変異がタンパクの発現量の減少や機能喪失を生じさせるという知見と一致する。ところで、*NLGN3* 遺伝子は X 染色体に局在するため、性別により発現量に差がある可能性がある。しかしながら、 $\beta$ -actin 遺伝子または *TBP* 遺伝子により補正された *NLGN3* 遺伝子の発現量は、健常者においても ASD 患者においても性別による有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。これは女性においては片方の X 染色体が不活化することによると考えられる (文献 25)。ASD における、*NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子の発現量の減少の原因には、いくつかの可能性が考えられる。第一に、

我々の ASD の孤発例においては、*NLGN3* 遺伝子や *SHANK3* 遺伝子の遺伝子変異、遺伝子多型や、コピー数多型が存在する可能性があり、この為に、遺伝子の発現量の減少が生じているのかもしれない。第二に、*NLGN3* 遺伝子や *SHANK3* 遺伝子の発現量の減少を制御するような遺伝子の変異や多型が原因である可能性が考えられる。我々の知る限りでは、*NLGN3* 遺伝子を制御するような遺伝子の報告はないが、*SHANK3* 遺伝子の発現を制御するものについてはいくつかの報告がある。例えば、*SHANK3* 遺伝子の発現は、DNA メチレーションによって制御される (文献 26、27)。さらに、*SHANK3* 遺伝子は、制御されていないマイクロ RNA (miRNA) の予測ターゲットの一つであり、miRNA 発現量の変化が自閉性障害患者の死後脳において認められている (文献 28)。今後、さらなる、エピジェネティック解析により、*SHANK3* 遺伝子の発現量減少のメカニズムが明らかになるのかもしれない。

今回の我々の研究では、いくつかの限界がある。我々のサンプルにおいて ASD と健常者の群間の年齢がマッチしていないことや、サンプル数が少ないという問題点が挙げられる。また、今回のサンプルにおいて変異の検索は行っていない。したがって、今後これらの点について

のさらなる検証が必要である。また、我々のサンプルでは、健常者と比較してASD患者のIQが低いため、今回の結果が低いIQによって引き起こされている可能性がある。しかしながら、*NLGN3*遺伝子または*SHANK3*遺伝子の発現量低下は、統合失調症の病前予測IQがより低い対象群において認められなかった。また、ASD患者において、IQが70未満の群と70以上の群における、これらの遺伝子の発現量に有意差が認められなかった (data not shown)。従って、ASD患者において見出された、遺伝子の発現量の減少は、低いIQによるものではないのではないかと考えられる。また、ASDで認められた*NLGN3*遺伝子または*SHANK3*遺伝子の発現量低下が、統合失調症患者では認められなかったことより、これらが、ASDの疾患特異的な変化である可能性が示唆される。今後、その他の精神疾患における検討も必要であろう。

リンパ芽球細胞は神経細胞ではないため、今回の知見はASDの脳の病態を反映していない可能性もある。今後、これらの点についても更なる見当が望まれる。

#### 【参考文献】

1. Levy SE, *et al.*: Autism. *Lancet* 2009, 374:1627-1638.
2. Lichtenstein P, *et al.*: The genetics of autism spectrum disorders and related neuropsychiatric disorders in childhood. *Am J Psychiatry* 2010, 167:1357-1363.
3. Walsh CA, *et al.*: Autism and brain development. *Cell* 2008, 135:396-400.
4. Jamain S, *et al.*: Paris Autism Research International Sibpair Study: Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins *NLGN3* and *NLGN4* are associated with autism. *Nat Genet* 2003, 34:27-29.
5. Laumonnier F, *et al.*: X-linked mental retardation and autism are associated with a mutation in the *NLGN4* gene, a member of the neuroligin family. *Am J Hum Genet* 2004, 74:552-557.
6. Lawson-Yuen A, *et al.*: Familial deletion within *NLGN4* associated with autism and Tourette syndrome. *Eur J Hum Genet* 2008, 16:614-618.
7. Yan J, *et al.*: Analysis of the neuroligin 3 and 4 genes in autism and other neuropsychiatric patients. *Mol Psychiatry* 2005, 10:329-332.
8. Talebizadeh Z, *et al.*: Novel splice isoforms for *NLGN3* and *NLGN4* with

- possible implications in autism. *J Med Genet* 2006, 43:e21.
9. Comoletti D, et al.: The Arg451Cys-neurexin-3 mutation associated with autism reveals a defect in protein processing. *J Neurosci* 2004, 24:4889-4893.
  10. Feng J, et al.: High frequency of neurexin 1 $\beta$  signal peptide structural variants in patients with autism. *Neurosci Lett* 2006, 409:10-13.
  11. Kim HG, et al.: Disruption of neurexin 1 associated with autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2008, 82:199-207.
  12. Autism Genome Project Consortium, Szatmari P, et al.: Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nat Genet* 2007, 39:319-328.
  13. Yan J, et al.: Neurexin 1 $\alpha$  structural variants associated with autism. *Neurosci Lett* 2008, 438:368-370.
  14. Glessner JT, et al.: Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitous and neuronal genes. *Nature* 2009, 459:569-573.
  15. Dean C, Dresbach T: Neuroligins and neurexins: linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function. *Trends Neurosci* 2006, 29:21-29.
  16. Durand CM et al: Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein SHANK3 are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet* 2007, 39:25-27.
  17. Vessey JP et al: scaffolding proteins of the post-synaptic density regulate dendritic patterning. *J Neurochem* 2007, 102:324-332.
  18. Bonaglia MC et al.: Disruption of the ProSAP2 gene in a t(12;22)(q24.1;q13.3) is associated with the 22q13.3 deletion syndrome. *Am J Hum Genet* 2001, 69:261-268.
  19. Moessner R et al.: Contribution of SHANK3 mutations to autism spectrum disorder. *Am J Hum Genet* 2007, 81:1289-1297.
  20. Morrow EM et al.: Identifying autism loci and genes by tracing recent shared



ancestry. *Science* 2008, 321:218-223.

21. Nakamura N *et al.*: Four Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger isoforms are distributed to Golgi and post-Golgi compartments and are involved in organelle pH regulation. *J Biol Chem* 2005, 280:1561-1572.

22. Chahrour M *et al.*: from clinic to neurobiology. *Neuron* 2007, 56:422-437.

23. Sheikh AM *et al.*: BDNF-Akt-Bcl2 antiapoptotic signaling pathway is compromised in the brain of autistic subjects. *J Neurosci Res*, 88:2641-2647.

24. Zhou J *et al.*: Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific *Pten* knock-out mice. *J Neurosci* 2009, 29:1773-1783.

25. Willard HF: X chromosome inactivation and X-linked mental retardation. *Am J Med Genet* 1996, 64:21-26.

26. Beri S *et al.*: DNA methylation regulates tissue-specific expression of Shank3. *J Neurochem* 2007, 101:1380-1391.

27. Maunakea AK *et al.*: Conserved role of intragenic DNA methylation in

regulating alternative promoters. *Nature* 2010, 466:253-257.

28. Abu-Elneel K *et al.*: Heterogeneous dysregulation of microRNAs across the autism spectrum. *Neurogenetics* 2008, 9:153-161.

表 1. ASD 患者と健常者の詳細

詳細	ASD (n = 35)	健常者 (n = 35)	P 値
性別、男/女	27/8	26/9	$\chi^2 = 0.078$ (1, N = 70)、 $P = 0.78$ $U = 86$ , $P = 0.60 \times 10^{-9}$ , $Z = -6.19$
平均年齢 (±SD)、歳	12.9 (12.4)	34.8 (9.7)	
年齢範囲、歳	3 - 63	21 to 65	
ASD (IQ < 70)	35 (11)	0	
自閉性障害 (IQ < 70)	20 (10)	-	
アスペルガー障害 (with IQ < 70)	11 (0)	-	
PDD-NOS (with IQ < 70)	4 (1)	-	

ASD: 自閉症スペクトラム障害、IQ: 知能指数; PDD-NOS: 特定不能の広汎性発達障害、SD; 標準偏差

性別の統計解析には  $\chi^2$  検定、年齢の統計解析は Mann-Whitney U 検定を用いた。

表 2. 統合失調症患者と健常者の詳細

詳細	統合失調症患者 (n = 45)	健常者 (n = 45)	P 値
性別、男/ 女	26/19	26/19	$\chi^2 = 0$ (1, N = 90)、 $P = 1.0$ $U =$
平均年齢 ( $\pm$ SD)、歳	37.9 (1.6)	38.1 (1.7)	988.5、 $P = 0.9$ 、 $Z = -0.2$
年齢範囲、歳	21 - 65	21 - 65	$U = 687$ 、
病全予測 IQ (JART50)	100.8 (9.3)	105.4 (8.4)	$P = 0.009$ 、 $Z = -2.6$

IQ: 知能指数、JART50: Japanese version of the National Adult Reading Test 50、SD; 標準偏差

性別の統計解析には  $\chi^2$  検定、年齢の統計解析は Mann-Whitney  $U$  検定を用いた。

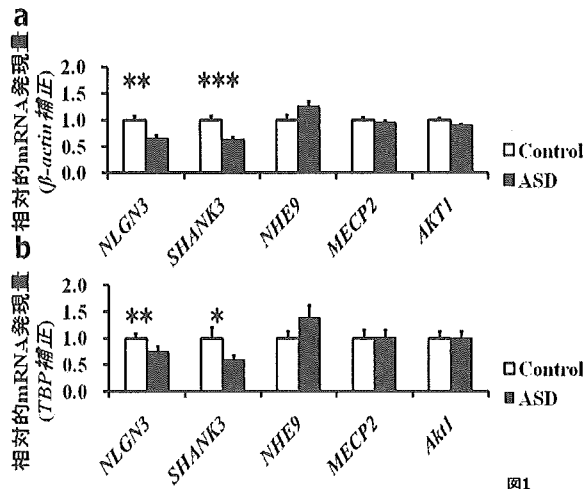


図 1. *NLGN3*、*SHANK3*、*NHE9*、*MeCP2* および *AKT1* 遺伝子の自閉症スペクトラム障害における発現解析。ASD 群と健常群において、ハウスキーピング遺伝子である  $\beta$ -actin (a) または *TBP* (b) によって補正された mRNA の発現量の平均相対値が示されている。棒は、平均値

の標準誤差を示している。5 つの遺伝子の mRNA 発現量の群間比較は、Mann-Whitney  $U$  検定を用いて実施し、その後の検定では Bonferroni の多重検定を実施した。\*\* $P < 0.01$ 。\*\*\* $P < 0.001$ 。

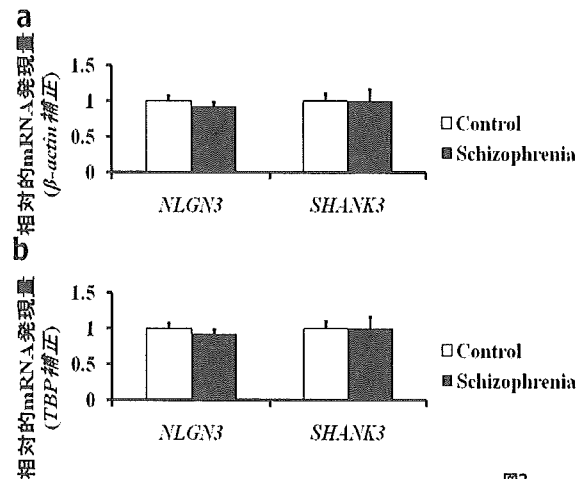


図 2

図 2. *NLGN3* 遺伝子と *SHANK3* 遺伝子の統合失調症および健常者における発現解析。統合失調群と健常群において、ハウスキーピング遺伝子である  $\beta$ -actin (a) または *TBP* (b) によって補正された mRNA の発現量の平均相対値が示されている。棒は、平均値の標準誤差を示している。2 つの遺伝子の mRNA 発現量の群間比較は、Mann-Whitney  $U$  検定を用いて実施した。