

厚生科学研究研究費補助金

長寿科学総合研究事業

特定疾患遺伝子ヘテロ保因者に着目した老化性疾患の抑制
に関する地域長寿保健システムの構築に関する研究

平成13年度 総括・分担研究報告書
(1/2冊)

主任研究者 小泉 昭夫

平成14年(2002)年3月

目次

I. 総括研究報告		
特定疾患遺伝子ヘテロ保因者に着目した老化性疾患の抑制に関する 地域長寿保健システムの構築に関する研究	-----	1
小泉 昭夫		
II. 分担研究報告		
1. 多様な遺伝性疾患の原因となる遺伝子異常の遺伝疫学と保健予防活動 に関する研究	-----	10
小泉 昭夫		
2. 本邦における脊髄小脳変性症の分布に関する研究	-----	21
阿部 康二		
3. 日本人 Barth 症候群患者における TAZ (G4.5) 遺伝子の解析に関する 研究	-----	24
大浦 敏博		
4. 糖尿病遺伝素因に関する研究	-----	27
山田 祐一郎		
5. 脳動脈瘤の感受性要因に関する研究	-----	30
野崎 和彦		
6. 家族性脳動脈瘤、家族性脳動静脈奇形の遺伝解析に関する研究	-----	33
竹中 勝信		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	36
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	42

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

特定疾患遺伝子ヘテロ保因者に着目した老化性疾患の抑制
に関する地域長寿保健システムの構築に関する研究

主任研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻
環境衛生学分野・教授

研究趣旨：一般住民において、多様な遺伝性疾患の原因となる遺伝子異常を有する頻度は、数十名に一名から数万人に1名と幅広い分布を示す。今回対象とした疾患は、早期の介入により老後のQOLの改善が可能で疾患あるいは今後対応が求められる疾患である。小泉は、LPIで遺伝子を用いてマススクリーニングを行なうことの有用性を示し、Osler-Rendu-Weber disease、Autosomal dominant polycystic kidney(PKD)でも家系で遺伝子診断が可能であることを示し早期介入への道を開き、脳動脈瘤多発家系の遺伝疫学を行い、リスク要因を検索すると共に既に報告されている7番染色体への連鎖を検討し否定的な結果を得た。阿部は日本各地における遺伝性脊髄小脳変性症の分布を調査した岡山県を含む中国地方の山陽地域には、SCA6とは異なるHolmes型の遺伝性脊髄小脳変性症が複数家系存在していること可能性を見出した。大浦は日本人Barth症候群2症例において責任遺伝子であるTAZ(G4.5)の解析を行なった。Barth症候群の一部には成人例も存在しており、原因不明のX染色体連鎖性心筋症に遭遇した場合は本症も考慮すべきことを示した。山田は、膵β細胞に発現するイオンチャネル遺伝子と糖尿病遺伝素因との関連を検索し、Kir6.2およびα1Dの関与を否定した。野崎は、脳動脈瘤の形成におけるiNOSの役割を動物実験モデルおよびヒトにおいて検討しiNOS阻害薬および抗凝固による予防の可能性を示した。竹中は、無症候性の脳血管障害患者の発見を行う1つの手法として遺伝子解析と画像診断を組み合わせ地域保健診療の構築を試みた。その結果、家系発症が認められることから今後の遺伝子解析の必要性が示された。

以上の研究成果は、ポストゲノム時代における中高年における保健活動のあり方を考える上で有用であると考えられる。

授)(分担研究者)

小泉 昭夫 (京都大学大学院医学研究科
社会健康医学系健康要因学講座環境衛生学
分野・教授) (主任研究者)

阿部 康二(岡山大学医学部神経内科・教

大浦 敏博 (東北大学大学院医学研究科
小児医学講座小児病態学分野・助教授) (分
担研究者)

野崎 和彦 (京都大学大学院医学研究科

脳統御医学系・講師))(分担研究者)

山田 祐一郎 (京都大学大学院医学研究科病態代謝栄養学・助教授) (分担研究者)

竹中 勝信 (高山赤十字病院脳神経科・副部長)

A. 研究目的

我々人類は多くの DNA の変異を有しており、これらの極少数のものは優性あるいは劣性遺伝形式で若年で疾病を発症する。しかしその他多く変異は生物学的要因である加齢や、社会的要因であるライフスタイルの修飾を受け原因が現在まで明らかでない老化性疾患の原因となる可能性が存在する。我々はこの様な仮説に立ち、老化性疾患の保健システムの構築を試みる。

1. 小泉の検討課題：

1) LPI (Lysinuric protein intolerance), 2) Osler-Rendu-Weber 病, 3) Polycystic kidney (PKD1), 4) 家族性脳動脈瘤の4疾患を対象として検討してきた。我々が今回対象としてきた PKD1, Endoglin の異常は明らかな健康リスクを加齢との相互作用で有し、今回新たに解析の対象とした家族性脳動脈瘤は、喫煙や飲酒などライフスタイルによるリスク要因、加齢、性 が複雑に絡み発症する。我々が今回対象とした疾患すべてが早期の介入によりその後の QOL の改善が可能である。この様な遺伝子異常の多様な変異と老化過程での健康リスクに対して加齢過程でリスクを増加させる個人の同定が可能であり、これら遺伝子異常に対し公衆衛生学的対策が望まれる。我々はポストゲノム時代の高齢者の QOL の低下に対する予防対策のあり方を視野に、1) 遺伝子異常の一般人口における頻度の推定および、2) 健康ハザード

の大きさ、3) 効果の程度、4) 早期発見の技術的可能性と倫理的妥当性など今後の予防対策のあり方の4点について検討した。

2. 阿部の検討課題：日本の一地域としての中国地方における遺伝性脊髄小脳変性症の特徴を調査することにより、この地域における遺伝性脊髄小脳変性症の頻度や分布を明らかにし、また遺伝子診断にていずれの分類にも該当しない家族性の脊髄小脳変性症の家系を通して新しい遺伝性脊髄小脳変性症の発見をめざして調査を行った。

3. 大浦の検討課題：Barth 症候群は 1983 年 Barth により報告された拡張型心筋症、低身長、好中球減少、3-メチルグルタコン酸尿を主徴とする伴性劣性遺伝疾患である。原因不明の心筋症患者の中に今まで見逃されていた Barth 症候群が発見される可能性がある。今回我々は日本人 Barth 症候群患者の 2 例（典型例と軽症例）の解析を初めて行ない遺伝子型と表現型の相関に関して解析をおこなった。

4. 山田の検討課題：わが国の糖尿病において主たる地位をしめるインスリン分泌障害の遺伝素因について検討した。

5. 野崎の検討課題：脳動脈瘤の形成における遺伝的要因として、動脈壁の特性要因である iNOS の多型性と血液側の特性であるずり応力の遺伝的要因の 2 つの面から検討した。

6. 竹中の検討課題：脳動脈瘤、脳動静脈奇形家系、もやもや病の代表的脳血管疾患について遺伝疫学的検討を行なった。

B. 研究方法

1. 小泉の分担課題の方法：

1) LPI(Lysinuric protein intolerance) :昨年引き続き岩手県東北部

の3地域において新生児のLPIマスキリーニングを行なった。

平成13年度は、3省合同の遺伝子検査のガイドラインに基づいた倫理審査を京都大学の「医の倫理委員会」に倫理審査を申請し、承認された様式と手続きに基づいて行なった。また以下の点について検討した。LPI患者の臨床像およびマスキリーニングの費用効果分析の2点について検討した。

2) Osler-Rendu-Weber病(Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia: HHT): 遺伝疫学を疫学平行責任遺伝子の変異検索を行なった。

3) Autosomal Polycystic Kidney Disease (PKD): 阪神地域に在住する8家系の協力を得て検討を行なった。これら8家系において Polycystin 遺伝子の全約50 kb 46exons の遺伝子変異をアジア人ではじめて検討した。

4) 家族性脳動脈瘤: 西日本の7病院の脳神経外科において脳動脈瘤の患者調査を行い、家系における遺伝解析を行った。昨年 Onda et al (2001)によって、7番染色体の Elastin が脳動脈瘤の責任遺伝子であるとの報告がなされたため7番染色体領域への連鎖を検証した。

2. 阿部の分担課題の方法: 岡山県・広島県出身の家族性脊髄小脳変性症の家系のうち、SCA6に類似した phenotype を持つものについて調査した。informed consent を得て末梢血から分離した DNA を使用して PCR 法にて遺伝子検査を行い、SCA6と判明したものは除き、さらに他の triplet repeat を伴う既知の脊髄小脳変性症を除外した。

3. 大浦の分担課題の方法: 2例の

Barth 症候群症例の遺伝子解析を行った。症例1では EB ウイルスにより株化したリンパ芽球を用いて total RNA を抽出し、cDNA を合成後 RT-PCR を行ない、その産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法にて決定した。さらに、症例1、2及びその母親ではゲノム DNA を用いてそのエクソン部分を増幅し塩基配列を決定した。

4. 山田の分担課題の方法: Kir6.2 遺伝子および $\alpha 1D$ 遺伝子における遺伝子変異の検索を行なった。

5. 野崎の検討課題の方法: 脳動脈瘤発症動物モデルおよびヒトの手術摘出標本を用いて検討した。

6. 竹中の検討課題の方法: 対象人口17万人を擁する医療圏の2地域基幹病院で脳血管疾患の治療を受けた患者の診療録をもとに遺伝疫学的検討を行なった。これらの患者およびその家系を最近10年間にさかのぼり診療録を中心に調査を行った。

C. 研究結果

1. 小泉の課題の結果:

1) LPI マスキリーニングの結果:

(1) 平成13年度のマスキリーニング: 2001年4月から平成2002年3月までに1496名の参加者を得た。今年度はLPI発症者2名を診断できた。

長期に患者発見まで時間はかかるものの経済効果は、遺伝子診断により著しく高いことが証明された。

2) Osler-Rendu-Weber病: 本研究により調査地域における本疾患の頻度は1:8000と推測された。遺伝子診断の可能性が示された。Polycystic kidney: 全46エクソンの遺伝子変異の解析の可能性が示された。

3) 家族性脳動脈瘤：脳動脈瘤多発家系 1 1 家系を見出し遺伝解析を行った。既に報告されている 7 番染色体への連鎖は認められなかった。

2. 阿部の研究課題の結果：3 家系が見いだされた。近親婚はなくまた男女とも冒されていることなどから、遺伝型式は常染色体優性遺伝と推定された。PCR 法による遺伝子検索では、検索を行った発症者においては発端者を含めて SCA6 は全て陰性であった。

3. 大浦の検討課題の結果：症例 1 では、培養リンパ芽球より total RNA を抽出し RT-PCR を行ったところ、エクソン 1 からエクソン 6 の領域の増幅において正常より長いバンドが得られた。サブクローンしてシクエンスを行ったところ、エクソン 3 とエクソン 4 の間に挿入配列が認められた。新しい cleavage site の 4 塩基下流に 1 塩基置換が見いだされた (IVS3+110G>A)。この変異により variant GC consensus が形成され、新たな donor site として認識されたものと考えられた。もう一例の症例では、エクソン 3 に 1 塩基置換が見いだされた (R94S)。患児は現在 17 歳であるが身長は 165.7cm、心エコー検査でも心筋の拡張、肥厚は認めず、Ejection fraction は正常範囲内である。

4. 山田の検討課題の結果：Kir6.2 遺伝子の解析 2 種類のポリモルフィズムが見出された。しかし、糖尿病との関連は認められなかった。 $\alpha 1D$ 遺伝子の解析 trinucleotide repeat 数の異なる変異を認めた。しかし、糖尿病患者に特異的なポリモルフィズムとは考えられなかった。

5. 野崎の検討課題の結果：ヒト及び動

物モデルで iNOS の免疫反応がそれぞれ類似していた。iNOS 阻害薬の投与により脳動脈瘤の形成が抑制された。また、抗凝固剤の投与により脳動脈瘤の形成が抑制されていた。

6. 竹中の検討課題の結果：3 家系の多発脳動脈瘤家系 (一家系内に 3 名以上) (5 名、3 名、3 名 (3 世代にわたる) の家系内脳動脈瘤発症者の存在)、4 家系の家族性脳動脈瘤奇形家系 (おのおの一家系内 2 名の発症)、3 家系のもやもや病家系 (一家系内 6 名 (3 世代にわたる)、3 名、2 名の発症) が見出された。

D. 考察

小泉の示した如く、LPI、Osler-Rendu-Weber 病、Polycystic kidney これらいずれの 3 疾患においても、遺伝子を用いた発症者の予測が可能であることが示された。特に創始者効果が認められる場合には極めて効率よくスクリーニングが行なえることが示された。

また、家族性脳動脈瘤では、今回の我々の検討では 7 番染色体への連鎖は証明されなかった。結果の違いは、①遺伝解析の方法による違い、②解析集団の違い、2 つに起因すると考えられ座位異質性が考えられた。

阿部が示した如く、中国地方の家族性脊髄小脳変性症で、遺伝子診断可能なものとしては SCA6 が多いが、全体では原因遺伝子不明の症例が最も多い。今回我々が検索した 3 家系も、SCA6 と類似した表現型を示しており、Holmes 型 SCA に分類される。今後は、採取した DNA の解析とトリプレットリピートの検出を行い新たな原因遺伝子の検索を行なう。

大浦の考察：心筋症は肥大型と拡張型に大別され、前者では β ミオシン重鎖、 α トロポミオシン、トロポニンT等に変異を持つ家系が報告されている。しかし、拡張型での遺伝子異常の報告は少ない。Barth症候群の典型例では症例1の如く小児期に死亡することが多い。しかし、症例2の如く軽症例では成人例も存在し、原因不明の拡張型心筋症としてフォローされている例も少なからず存在すると考えられる。また軽症例では加齢とともに心肥大が増強することも予想され、原因不明の拡張型心筋症の男子例に遭遇した場合は本症も疑い、尿中有機酸分析、好中球減少の有無、さらにはG4.5遺伝子の解析も行なうべきと考えられる。

山田の考察：イオンチャネルは、種々の疾患で原因遺伝子となっている。今回2つの代表的イオンチャネルであるKir6.2遺伝子と α 1D遺伝子の変異を検索したが、糖尿病とに特異的な変異は認められなかった。

野崎の考察：抗凝固剤は、ずり応力の減少によりiNOSの誘導を抑制し脳動脈瘤の形成を抑制したのと考えられた。抗凝固剤およびiNOSとも同じ作用機序で動脈瘤の形成を抑制し今後の1次予防、2次予防に有効な手段となる可能性が示唆された。

竹中の結論：3疾患において好発家系が見出されたことから3疾患とも高度な遺伝要因の関与が示唆された。また地域内で複数以上の家系が見出されたことから創始者効果の存在が予測され効率的な遺伝診断の可能性が示唆された。

E. 結論

小泉の結論：遺伝子を利用した健康リスク管理は、有益であるとともに、疾患患

伝子方法などが大きく異なることがしめされた。さらにこれら多様性に対応し、異なる次元の倫理的問題も存在することも示された。遺伝子レベルの情報を用いた公衆衛生学的施策を行なうためには、今後こうした問題を解決すべきであろう。

阿部の結論：中国地方出身で常染色体優性遺伝をし、Holmes型に分類されるSCA家系には未知の原因遺伝子の関与が示唆される疾患が認められわが国における遺伝的多様性を示唆するものと考えられた。

大浦の結論：日本人Barth症候群の遺伝子解析を初めて行ない、原因不明の拡張型心筋症患者に遭遇した場合は本症も念頭に入れて鑑別すべきと考えられる。

山田の結論：糖尿病遺伝素因の解析は、候補遺伝子による解析は困難と考えられた。

野崎の結論：本研究では、動脈壁の要因と血液側の2つの要因が動脈瘤の形成に重要な役割を果たすことが示された。この結果は、家族性脳動脈瘤の遺伝的背景の解析に有用と考えられる。

竹中の結論：発病予防のためには、さらに家系を幾世代にもわたり詳細に調査する必要と、その疾患感受性遺伝子の同定を早期におこない、これを住民検診スクリーニングに応用することができれば発病率の低下に結びつくのではないかと考えられた。

疾患自体はまれでもヘテロ保因者まで考慮に入れると遺伝子異常を有するものの割合は非常に高い。本研究によって、遺伝子異常によるphenotypeは、加齢により大きく修飾を受けることが明らかになった。国民全体で遺伝子異常に起因すると思われる疾患は未知のものまで考えるとかなりの高

頻度に登る (1 : 100 以上)。従って遺伝子を利用した健康リスク管理は、有益であるとともに、疾患遺伝子の種類により、遺伝子異常を共有する人口集団の規模や変異の検出の難易度、効果、方法などが大きく異なることがしめされた。さらにこれら多様性に対応し、異なる次元の倫理的問題も存在することも示された。遺伝子レベルの情報を用いた公衆衛生学的施策を行なうためには、今後こうした問題を解決すべきであろう。

F.健康危険情報

それぞれの章に記載した。

G.研究発表

1. 論文発表

小泉の発表

1) Takahashi T, Nozaki J, Komatsu M, Wada Y, Utsunomiya M, Inoue K, Takada G, Koizumi A. A new locus for a dominant form of multinodular goiter on 3q26.1-q26.3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;284:650-4.

2) Nozaki J, Dakeishi M, Ohura T, Inoue K, Manabe M, Wada Y, Koizumi A. Homozygosity mapping to chromosome 5p15 of a gene responsible for Hartnup disorder. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;284(2):255-60.

3) Abe T, Nakajima A, Satoh N, Ohkoshi M, Sakuragi S, Koizumi A. Suppression of experimental autoimmune uveoretinitis by

dietary calorie restriction. *Jpn J Ophthalmol.* 2001

Jan-Feb;45(1):46-52.

4) Fujita H, Haseyama T, Kayo T, Nozaki J, Wada Y, Ito S, Koizumi A. An Increased Expression of Glutathione S-Transferases in the Renal Proximal Tubuli in the Early Stage of Diabetes: a Study in a Mouse Model of Type 2 Diabetes, Akita Mouse. *Exp Nephrol.* 2001;9:380-386

5) Dakeishi M, Shioya T, Wada Y, Shindo T, Otaka K, Manabe M, Nozaki J, Inoue S, Koizumi A. Genetic epidemiology of hereditary hemorrhagic telangiectasia in a local community in the northern part of Japan. *Human Mut.* In press

6) Seiichi Oyadomari, Akio Koizumi, Kiyoshi Takeda, Tomomi Gotoh, Shizuo Akira, Eiichi Araki, Masataka Mori. A targeted disruption of The CHOP gene protects mice against ER stress-induced diabetes. *J Clin Invest.* In press

7) Sumiko Inoue, Kayoko Inoue, Maki Utsunomiya, Jun-ichi Nozaki, Yuichiro Yamada, Toshio Iwasa, Eitaro Mori, Takeo Yoshinaga, Akio Koizumi. Mutation Analysis of PKD1 in Japanese Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) Patients. *Human Mutation.*

In press

阿部の発表

- 1) Y. Manabe, Y. Shiro, K. Takahashi, K. Kashihara, and K. Abe. A case of spinocerebellar ataxia accompanied by severe involvement of the motor neuron system. *Neurol. Res.* 22 (2000) 567-570
- 2) K. Abe. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells J. *Cereb. Blood against ischemic brain injury. Flow Metabol.* 20 (2000)1393-1408
- 3) Y. Onodera, M. Aoki, T. Tsuda, H. Kato, T. Nagata, T. Kameya, K. Abe, and Y. Itoyama. High prevalence of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) in an isolated region of Japan. *J. Neurol. Sci.* 178 (2000) 153-158.
- 4) Y. Manabe, J.M. Wang, T. Murakami, H. Warita, T. Hayashi, M. Shoji, and K. Abe. *Journal of Neuroscience Research* 65: 371-377: Expressions of nitrotyrosine and TUNEL immunoreactivities in cultured rat spinal cord neurons after exposure to glutamate, nitric oxide, or peroxynitrite, 2001
- 5) Warita, Y. Manabe, T. Murakami, Y. Shiro, I. Nagano, and K. Abe. *Apoptosis* 6:345-352: Early decrease of survival signal-related proteins in spinal motor neurons of presymptomatic transgenic mice with a mutant SOD1 gene, 2001
- 6) Y. Manabe, H. Warita, T. Murakami, M. Shiote, T. Hayashi, I. Nagano, M. Shoji, and K. Abe. *Brain Research* 915:104-107: Early decrease of redox factor-1 in spinal motor neurons of presymptomatic transgenic mice with a mutant SOD1 gene, 2001
- 7) Warita, T. Murakami, Y. Manabe, K. Sato, T. Hayashi, T. Seki, and K. Abe. *Neuroscience Letters* 300: 75-78: Induction of polysialic acid-neural cell adhesion molecule in surviving motoneurons of transgenic amyotrophic lateral sclerosis, 2001
- 8) T. Murakami, I. Nagano, T. Hayashi, Y. Manabe, M. Shoji, Y. Setogushi, and K. Abe. *Neuroscience Letters* 308: 149-152: Impaired retrograde axonal transport of adenovirus-mediated E. Coli LacZ gene in the mice carrying mutant SOD1 gene, 2001
- 9) T. Murakami, H. Warita, T. Hayashi, K. Sato, Y. Manabe, S. Mizuno, K. Yamane, and K. Abe. *Journal of the Neurological Science* 189: 45-47: A novel SOD1 gene mutation in familial ALS with low penetrance in females, 2001
- 10) 阿部康二、村上哲郎：筋萎縮性側索

硬化症(ALS). 遺伝子検査早わかり事典.
中外医学社, 2001, 75.

11) 阿部康二、永野功: 筋萎縮性側索硬化症(ALS). 神経・筋疾患の最新医療, 先端医療シリーズ14 神経・筋疾患. 先端医療技術研究所, 2001, 175-179.

大浦の発表

1) Sakamoto O, Kito T, Ohura T, Ohya N, Iinuma K.
Novel missense mutation (R94S) in the TAZ (G4.5) gene in a Japanese patient with Barth syndrome.

J Hum Genet (2002) in press.

2) Yuriko Katsushima, Ikuma Fujiwara, Osamu Sakamoto, Toshihiro Ohura, Shigeaki Miyabayashi, Akira Ohnuma, Seiji Yamaguchi, Kazuie Iinuma.

Normal pituitary function in a Japanese patient with Barth syndrome.

Eur J Pediatr (2002) 161: 67-68

3) Osamu Sakamoto, Toshihiro Ohura, Yuriko Katsushima, Ikuma Fujiwara, Eishin Ogawa, Shigeaki Miyabayashi and Kazuie Iinuma.

A novel intronic mutation of the TAZ (G4.5) gene in a patient with Barth syndrome: creation of a 5' splice donor site with variant GC consensus and elongation of the upstream exon.

Human Genetics 2001;109,559-563

山田の発表

1) Yamada Y, Kuroe A, Li Q, Someya Y, Kubota A, Ihara Y, Tsuura Y, Seino Y Genomic variation in pancreatic ion channel genes in Japanese type 2 diabetic patients. Diabetes Metab Res Rev 17(3):213-216, 2001

2) Sugawara F, Yamada Y, Kuroe A,

Someya Y, Kubota A, Ihara Y, Takahashi K, Seino Y. Human TSC-22 gene: no association with type 2 diabetes. Intern Med 40(10): 993-997, 2001

3) Shihara N, Yasuda K, Moritani T, Ue H, Uno M, Adachi T, Nuno K, Seino Y, Yamada Y, Tsuda K Synergistic effect of polymorphisms of uncoupling protein 1 and beta3-adrenergic receptor genes on autonomic nervous system activity. Int J Obes 25(6):761-766, 2001

野崎の発表

1) Fukuda S, Hashimoto N, Naritomi H, Nagata I, Nozaki K, Kondo S, Kurimoto M, Kikuchi H. Prevention of rat cerebral aneurysm formation by inhibition of nitric oxide synthase. Circulation 1012000:2532-2538

竹中の発表

1) 脳卒中患者のゲノム解析の現状 竹中勝信、加藤貴之、村川孝次 高山赤十字病院紀要 第24号: p3-7 (2000)

2. 学会発表

小泉の発表

1) 山田茂樹、宇都宮真木、井上佳代子、小泉昭夫 家族性脳動脈瘤の多発家系 日本衛生学会、三重 2002年3月

2) 宇都宮真木、野崎潤一、井上佳代子、井上純子、松浦範夫、吉永侃夫、小泉昭夫 パラメトリックおよびQTLモデルを用いた低身長における遺伝要因のゲノムワイ

ト探索 日本衛生学会、三重 2002年
3月

3) 井上純子、井上佳代子、松浦範夫、宇
都宮真木、吉永侃夫、小泉 昭夫 PKD1,
PKD2 非連鎖性多発のう胞腎家系の連鎖
解析 日本衛生学会、三重 2002年3
月

4) 中留啓介、野崎潤一、中迫由里、吉永
侃夫、小泉 昭夫 アキタマウスのプロイ
ンスリンのミスホールドによる糖尿病発
症機構の蛋白化学的分析 日本衛生学会、
三重 2002年3月

5) 井上悠輔、深萱恵一、松浦範夫、宇都
宮真木、井上佳代子、吉永侃夫、小泉昭夫
LPI の変異の起源とそれに基づくマスキ
ングの人口の推定 日本衛生学
会、三重 2002年3月

阿部の発表

1) 小野寺好明、青木正志、津田丈秀、加
藤宏之、糸山泰人、阿部康二：東北地方
の SCA1 患者出身地の集積。第 41 回日本
神経学会総会、松本市、2000. 5.24

2) 村上哲郎 松原悦朗 永野功 真邊泰
宏 東海林幹夫 阿部康二：日本人家系
における Notch3 遺伝子の解析。第 42
回日本神経学会総会、東京、2001.5.11

大浦の発表

1) 第 44 回日本先天代謝異常学会。
平成 13 年 11 月 8.10 日、久留米市
Barth 症候群における特異なイントロン
変異：5'GC consensus の形成とエクソン
伸長。

坂本修、大浦敏博、勝島由利子、藤原幾
磨、小川英伸、宮林重明、飯沼一字

2) 第 46 回日本人類遺伝学会
平成 13 年 10 月 3.5 日、さいたま市
Barth 症候群の遺伝子解析：5' GC
consensus の形成と上流のエクソン伸長
の原因となったイントロン内 1 塩基置換。

坂本修、大浦敏博、勝島由利子、藤原幾
磨、小川英伸、宮林重明、飯沼一字

H. 的財産権の出願・登録状況

該当なし。

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

多様な遺伝性疾患の原因となる遺伝子異常の

遺伝疫学と保健予防活動に関する研究

分担研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻

環境衛生学分野・教授

研究趣旨：一般住民において、多様な遺伝性疾患の原因となる遺伝子異常を有する頻度は、数十名に一名から数万人に1名と幅広い分布を示す。平成13年度には以下の5点の検討を行なった。1) LPI:名のマウスクリーニングを行いヘテロ保因者16名を見出し患者2名を診断した。2) Osler-Rendu-Weber diseaseの地域疫学： 従来アジア人には頻度が少ないと考えられて来たが、我々は秋田県のある医療圏での検討を行ない、遺伝子変異および有病率の推定を行い地域保健としての意義を検討した。3) Autosomal dominant polycystic kidney(PKD)の遺伝疫学： 我々は近畿地方におけるPKD家系の遺伝疫学を行い、アジア人ではじめてPolycystin 1の変異の様相を明らかにした。4) 脳動脈瘤多発家系の遺伝疫学：西日本における8医療施設との共同研究で脳動脈瘤多発家系を15家系を見出した。これら家系のリスク要因を検索すると共に既に報告されている7番染色体への連鎖を検討した。

我々はポストゲノム時代の高齢者のQOLの低下に対する予防対策のあり方を視野に、1) 遺伝子異常の一般人口にける頻度の推定、2) 今後の予防対策のあり方の2点について検討した。我々の成果は、ポストゲノム時代における中高年における保健活動のあり方を考える上で有用であると考えられる。

A. 研究目的

一般住民において、多様な遺伝性疾患の原因となる遺伝子異常を有する頻度は、数十名に一名から数万人に1名と幅広い分布を示す。これら遺伝子異常の内、あるものは早期介入により高齢期のQOLの改善が確実に期待できるため、高齢期の予後を左右する実行可能な保健政策として重要である。しかし、地域における政策決定の過程で他の健康政策との競合が生じ、医療経済的効率および機会の均等性・公平性などを評価する必要性が生じる。これらの基礎となる情報として、1) 健康ハザードの大きさ、2) 効果の程度、3) 早期発見の可能性、

4) 倫理的妥当性などがある。

平成13年度には我々は、1) LPI (Lysinuric protein intolerance), 2) Osler-Rendu-Weber病, 3) Polycystic kidney (PKD1), 4) 家族性脳動脈瘤の4疾患を対象として検討してきた。我々が今回対象としてきたPKD1, Endoglinの異常は明らかな健康リスクを加齢との相互作用で有し、今回新たに解析の対象とした家族性脳動脈瘤は、喫煙や飲酒などライフスタイルによるリスク要因、加齢、性 が複雑に絡み発症する。我々が今回対象とした疾患すべてが早期の介入によりその後のQOLの改善が可能である。このような遺伝子異常の

多様な変異と老化過程での健康リスクに対して加齢過程でリスクを増加させる個人の同定が可能であり、これら遺伝子異常に対し公衆衛生学的対策が望まれる。我々はポストゲノム時代の高齢者の QOL の低下に対する予防対策のあり方を視野に、1) 遺伝子異常の一般人口にける頻度の推定および2) 健康ハザードの大きさ、3) 効果の程度、4) 早期発見の技術的可能性と倫理的妥当性など今後の予防対策のあり方の4点について検討した。我々の成果は、ポストゲノム時代における中高年における保健活動のあり方を考える上で有用であると考えられる。

B. 研究方法

1) LPI(Lysinuric protein intolerance) :

(1) 昨年に引き続き岩手県東部の3地域において新生児のLPIマスキニングを行なった。

上記3地域にある産院の協力を得て平成12年度に出生した新生児を対象に、代謝異常のマスキニングの際に同時にLPIマスキニングも行なった。新生児より約20 μ lの血液を足より採血し、LPI用の濾紙にとり風乾後に京都大に郵送した。その後、濾紙からDNAを採取し、岩手県東部に創始者効果の存在が確認されこの地域で過剰のLPIの発生の原因となっているSLC7A7のR410X変異の検出を行なった。検査結果は、受領より2週以内に書面でなされ1ヶ月検診時には親に通知された。

平成13年度は、3省合同の遺伝子検査のガイドラインに基づいた倫理審査を京都大学の「医の倫理委員会」に倫理審査を申請し、承認された様式と手続きに基づいて行なった。

(2) LPI患者の臨床像： マスキニングの発端となった当地域での8名の患者の臨床像をまとめた。

(3) マスキニングの費用効果分析： 3年目にあたりマスキニングの原価計算を行い、地域における有病率を考慮し他の現行のマスキニングと比較し費用効果分析を行なった。

2) Osler-Rendu-Weber病(Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia: HHT):本年度から秋田県中央部の人口約17万の診療圏を中心にHHTの遺伝疫学を行なった。HHTの欧米における頻度は、1/1万人~2/4万人と報告されている。既にこの地域で数名のHHT発症者の存在が確認されており、患者居住地域の7家系を見出しこの地域の医療機関と共同で検討を行なった。7家系合計で137名の参加を得て、臨床的検討を行なった。また、臨床症状および連鎖解析の結果からタイプ1のHHTが疑われたため既に報告されているEndoglinの5'Promoter領域およびExon 1-14の決定(HENDUGLN1)を行なった。また、Splicing異常の認められた場合にはmRNAを抽出Reverse transcriptaseでcDNAに変換後cDNAの配列決定(g3392889)を行なった。

3) Autosomal Polycystic Kidney Disease (PKD):

のう胞性腎症(Polycystic kidney)は最も頻度の高い常染色体優性疾患であり頻度は400人に一名から1000人に一名と報告されている。我々は、兵庫県南部における限られた地域において昨年に引き続き地域の医療機関および患者の協力を得て遺伝疫学的検討を行なった。

Polycystic kidney は現在まで3型知られているが、16番染色体に連鎖するPKD1と4番染色体に連鎖するPKD2がほぼ大部分をしめ前者が全症例の85%以上をしめると報告されている。

今回我々は阪神地域に在住する8家系の協力を得て検討を行なった。これら8家系において Polycystin 遺伝子の全約50 kb 46exons の遺伝子変異をアジア人ではじめて検討した。

4) 家族性脳動脈瘤：西日本の7病院の脳神経外科において脳動脈瘤の手術を受けた患者に対し、家族歴、高血圧、喫煙、高脂肪血症、アルコール飲酒歴のアンケートを行い、家族歴の認められた患者に対しては、家族の大きさ、脳動脈瘤を有する3親等以内のものとの関係と人数、脳動脈瘤の遺伝要因に関する研究への参加の意思について確認を行なった。

参加の意思があり、家系内での生存者の3名以上が脳動脈瘤を有し、かつDNAの提供の可能性のある家系について遺伝解析を行った。

参加家系における参加者の脳動脈瘤の確認のために参加者全員（原則として30歳以上、但し、家系の要請により年齢を引き下げた）にMRAを行なった。また、遺伝解析においては、昨年 Onda et al (2001)によって、7番染色体の Elastin が脳動脈瘤の責任遺伝子であるとの報告がなされたため7番染色体領域への連鎖を検証した。

C. 研究結果

1) LPI マスクリーニングの結果：

(1) 平成13年度のマスクリーニング：2001年4月から平成2002年3月までに1496名の参加者を得た。その結果を表の1に示す。今年度はLPI発症者2名を診断できた。

平成13年度までの3年間に3962名の参加者を得た。病院毎のLPIのヘテロ保因者の頻度は、表2に示すようにG病院での0.32%からH病院の1.22%と大きな偏りを示した。

また本年度は、このマスクリーニングを契機として参加した2名の小児がLPIと診断され早期介入が実現された。

表1 LPI マスクリーニングの結果平成13年度(2001. 4. 4~2002. 3. 7)

病院名	マスクリーニング数(人)	陰性(人)	Hetero(人)	陽性(人)
A 病院	16	15	1	0
B 病院	292	288	4	0
C 病院	77	77	0	0
D 病院	467	463	4	0
E 病院	275	272	3	0
F 病院	139	138	1	0
H 病院	228	225	3	0
M 病院	0	0	0	2
合計	1496	1478	16	2

表2 ヘテロ保因者の地域的偏り

病院名	マススクリーニング数(人)	陰性(人)	Hetero(人)	陽性(人)	Hetero保因者頻度(%)	所轄保健所
A病院	86	85	1	0	1.16	盛岡
B病院	665	658	7	0	1.05	
C病院	210	209	1	0	0.48	
D病院	1118	1108	10	0	0.89	宮古
E病院	666	659	7	0	1.05	
F病院	319	317	2	0	0.63	
G病院	317	316	1	0	0.32	久慈
H病院	576	569	7	0	1.22	
I病院	1	0	1	0	100	
M病院	2	0	0	2	0	
合計	3960	3921	37	2	0.93	

(2) 患者の臨床像：表3(添付)に現在までの発見された患者の臨床像をまとめた。

(3) マススクリーニングの費用効果分析：現在わが国ではフェニールケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成症、神経芽細胞腫の7疾患が新生児マススクリーニングの対象になっている。これら疾患のマススクリーニングに関する指標を表の3にまとめた。これら疾患の頻度は、クレチン症の5300名に1名から、メープルシロップ尿症の47万人に1名まで広く分布する。1名の患者を見出すのに費やされる費用はクレチン症の3万1千ドルからメープルシロップ尿症の92万ドルまで分布する。このようなわが国の新生児マススクリーニングを参考に、岩手県北部におけるLPIマススクリーニングの指標を求めた。その結果、岩手県北部の人口を基に毎年出生する

新生児数から推定すると、1名の患者発見までに約39年かかり、1名の患者を見出すために費やされる費用は1万9千ドルと計算された(表4添付)。

このように長期に患者発見まで時間はかかるものの経済効果は、遺伝子診断により著しく高いことが証明された。詳細は添付論文(1)を参照のこと。

2) Osler-Rendu-Weber病：本研究により調査地域における本疾患の頻度は1:8000と推測された。またそのうち50%は肺動静脈ろうを有していた。責任遺伝子である Endoglin 遺伝子変異の検索の結果 Inv3+1G>C, c.282-829 ins A, c.1120-1123 del AAAG, c.1470-1471 insA の4つの新たな変異が認められた。

3) Polycystic kidney：8家系における PKD1 の変異の検索の結果、7024delAC, Q2014X, E2810X, T2083I, Q2969X, 641del29, IVS21 del AG の7つの変異を認めたが残る1家系においては変異は認めら

れなかった。これら8家系のうち11名は人工透析を受けており、2名が脳動脈瘤を有し12名が高血圧を発症していた。診断時の年齢は37+14.6歳であった。

4) 家族性脳動脈瘤

7病院の患者レコードから(平均追跡6.6±2.6年)、885名の患者を見出した。そのうち484名が破裂動脈瘤の手術を受けており、残る401名は非破裂動脈瘤を有していた。男女比は1:1.7であった。これら患者に郵送で質問票を送付し563名の返信を得た(63.4%)。平均年齢は58.3+11.4歳であり、男女比は、1:1.7であった。このうち79名の者が家族歴を有し平均年齢は59.0±9.5歳であった。男女比は1:1.2であった。図1(添付)に現在参加しつつある家系を示す。

参加家系のメンバーの内、MRAで脳動脈瘤の存在が確認されたものと60歳以上で脳動脈瘤が存在しないことが確認されたものについて遺伝的解析を行った。遺伝子解析に参加したものは50名であり、そのうち45名が脳動脈瘤を有し、28名がくも膜下出血の既往があった。

図2(添付)に7番染色体への連鎖解析の結果を示す。我々の用いた11家系の内いずれの家系においても7番染色体への連鎖は認められなかった。

D. 考察

1) LPI、Osler-Rendu-Weber 病、Polycystic kidney

これらいずれの3疾患においても、遺伝子を用いた発症者の予測が可能であることが示された。特に創始者こうか認められる場合には極めて効率よくスクリーニングが行なえることが示された。

また、家系内の発症者の予測は、Osler-Rendu-Weber 病、Polycystic kidneyとも早期の介入と生活指導により著しくリスクを減少させることができるため、遺伝子診断に基づく診断が有効と考えられる。

2) 家族性脳動脈瘤：今回の我々の検討では7番染色体への連鎖は証明されなかった。結果の違いは、①遺伝解析の方法による違い、②解析集団の違い、2つに起因すると考えられる。

Onda et al (2001)は、104名の sib-pair 分析を行い、7番染色体に連鎖を認めた。それに対して我々は、家系を中心とする連鎖解析を行なった。脳動脈瘤は多くの原因で発症するものと考えられる。従って、遺伝的背景も多様なものが考えられ、Locus heterogeneity は存在すると考えられる。Sib-pair 分析では、このような Locus heterogeneity はマスクされやすい。この一方家系に基づく連鎖解析は、Locus heterogeneity を連鎖解析に結果から知ることができる。しかし、7番染色体への連鎖はすべての家系で認められないことから結果の違いは方法の違いによるとは考えがたい。

家族性動脈瘤の家系において、多くの家系で同胞発症が圧倒的に多い。これらの家系に MRA を行い、他の同胞における脳動脈瘤の発症を検討したところ50%程度のメンバーに脳動脈瘤が見つかったものの、残りの50%には見つからなかったと報告されている。このことは、2名の発症家族には2名しか発症しない家系と2名以上発症する家系の2つがあることを示唆しており、遺伝的に不均一な集団と考えられる。今回我々は、一家系に3名以上いる集積家

系を対象とした。従って、我々は Onda et al と遺伝的に異なる家系を対象としてことを示唆している可能性が高い。

1. Onda H, Kasuya H, Yoneyama T, Takakura K, Hori T, Takeda J, Nakajima T, Inoue I. Genomewide-linkage and haplotype-association studies map intracranial aneurysm to chromosome 7q11 Am J Hum Genet 2001;69:804-819

E. 結論

以上から遺伝子を利用した健康リスク管理は、有益であるとともに、疾患遺伝子の種類により、遺伝子異常を共有する人口集団の規模や変異の検出の難易度、効果、方法などが大きく異なることがしめされた。さらにこれら多様性に対応し、異なる次元の倫理的問題も存在することも示された。

また、本年度から新たに行なわれた脳動脈瘤の遺伝疫学において我々は日本人脳動脈瘤において現在報告されている遺伝子座以外の遺伝子の関与が示唆された。

遺伝子レベルの情報を用いた公衆衛生学的施策を行なうためには、今後こうした問題を解決すべきであろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) .Takahashi T, Nozaki J, Komatsu M, Wada Y, Utsunomiya

M, Inoue K, Takada G, Koizumi A. A new locus for a dominant form of multinodular goiter on 3q26.1-q26.3. Biochem Biophys Res Commun. 2001;284:650-4.

- 2) Nozaki J, Dakeishi M, Ohura T, Inoue K, Manabe M, Wada Y, Koizumi A. Homozygosity mapping to chromosome 5p15 of a gene responsible for Hartnup disorder. Biochem Biophys Res Commun. 2001;284(2):255-60.

- 3) Abe T, Nakajima A, Satoh N, Ohkoshi M, Sakuragi S, Koizumi A. Suppression of experimental autoimmune uveoretinitis by dietary calorie restriction. Jpn J Ophthalmol. 2001 Jan-Feb;45(1):46-52.

- 4) Fujita H, Haseyama T, Kayo T, Nozaki J, Wada Y, Ito S, Koizumi A. An Increased Expression of Glutathione S-Transferases in the Renal Proximal Tubuli in the Early Stage of Diabetes: a Study in a Mouse Model of Type 2 Diabetes, Akita Mouse. Exp Nephrol. 2001;9:380-386

- 5) Dakeishi M, Shioya T, Wada Y, Shindo T, Otaka K, Manabe M, Nozaki J, Inoue S, Koizumi A. Genetic epidemiology of

hereditary hemorrhagic telangiectasia in a local community in the northern part of Japan. Human Mut. In press

6) Seiichi Oyadomari, Akio Koizumi, Kiyoshi Takeda, Tomomi Gotoh, Shizuo Akira, Eiichi Araki, Masataka Mori. A targeted disruption of The CHOP gene protects mice against ER stress-induced diabetes. J Clin Invest. In press

7) Sumiko Inoue, Kayoko Inoue, Maki Utsunomiya, Jun-ichi Nozaki, Yuichiro Yamada, Toshio Iwasa, Eitaro Mori, Takeo Yoshinaga, Akio Koizumi. Mutation Analysis of PKD1 in Japanese Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease

(ADPKD) Patients. Human Mutation. In press

2. 学会発表

- 1) 山田茂樹、宇都宮真木、井上佳代子、小泉昭夫 家族性脳動脈瘤の多発家系 日本衛生学会、三重 2002年3月
- 2) 宇都宮真木、野崎潤一、井上佳代子、井上純子、松浦範夫、吉永侃夫、小泉昭夫 パラメトリックおよび QTL モデルを用いた低身長における遺伝要因のゲノムワイド探索 日本衛生学会、三重 2002年3月

3) 井上純子、井上佳代子、松浦範夫、宇都宮真木、吉永侃夫、小泉 昭夫 PKD1, PKD2 非連鎖性多発のう胞腎家系の連鎖解析 日本衛生学会、三重 2002年3月

4) 中留啓介、野崎潤一、中迫由里、吉永侃夫、小泉 昭夫 アキタマウスのプロインスリンのミスホールドによる糖尿病発症機構の蛋白化学的分析 日本衛生学会、三重 2002年3月

5) 井上悠輔、深萱恵一、松浦範夫、宇都宮真木、井上佳代子、吉永侃夫、小泉昭夫 LPI の変異の起源とそれに基づくマススクリーニングの人口の推定 日本衛生学会、三重 2002年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

- 1) 許取得 なし
- 2) 実用新案登録 なし
- 3) その他 なし

表3. Alleviation of clinical symptoms in 10 lysunuric protein intolerance patients

Case	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sex	Male	Male	Male	Male	Female	Male	Male	Female	Female	Female
Age at the first visit to clinician	1	3	13	6	21	14	1	1	1	5
Age at diagnosis	4	5	15	23	22	22	5	1	2	5
Present age	13	15	27	33	27	32	12	5	2	5
Intelligence(IQ) ¹⁾	ND	71	76	44	ND	61	ND	ND	ND	ND
Hepatosplenomegaly	P	P	Abs	Abs	Abs	Abs	P	P	P	P
Short stature ²⁾	P	P	P	Abs	P	P	P	P	P	P
Hypotonia	P->P	Abs	Abs	Abs	P->P	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Protein aversion	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
Episodes of loss of consciousness	Abs	Abs	P->Abs	P->Abs	P->Abs	P->Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Epilepsy	Abs	Abs	Abs	P->P	P->P	P->P	Abs	Abs	Abs	Abs
Osteoporosis	P->P	Abs	Abs	Abs	P->P	P->P	Abs	Abs	Abs	Abs
Articulate dislocation	P->P	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Cataract	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Pancreatitis	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Pneumonia ³⁾	P->Abs	Abs	Abs	P->Abs	Abs	P->Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Renal disorder ⁴⁾	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P
Autoimmune disease	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Hepatitis	Abs	Abs	Abs
Encephalopathy	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs->P	Abs	Abs	Abs
Leukopenia	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	P->P	Abs

ND: Not determined Abs: Absence P: Presence

P->P, P->Abs or Abs->P: A given symptom was present after treatment (P->P), disappeared after treatment (P->Abs). Or appeared after treatment (Abs->P).

1) IQ:

Since Case 1, Case 5, and Case 7 achieved average scholastic records, IQ were not determined.

Cases 8-10 were not old enough to evaluate IQ.

2) Short stature:

Smaller than 2SD from the average for children and 1.5 SD from the average for adult.

3) Recurrent pneumonia episodes

4) Renal disorder is defined by the excess excretion of β_2 microglobulin in urine.

表4. Diseases currently mass screened in Japan and their economic parameters

Disease	Total annual cost in Japan (Yen) ¹⁾	Total annual cost in Japan (\$) ²⁾	Number needed to screen ³⁾	Total numbers of newborn patients /year	Cost needed to screen in (\$)
Phenyketoneuria (PKU)	333,240,000	3,029,455	81,000	14.8	204,488
Mayple syrup urine disease	256,820,000	2,334,727	471,600	2.5	917,548
Homocystinemia	264,090,000	2,400,818	176,000	6.8	352,120
Galcosemia	220,330,000	2,003,000	40,100	29.9	66,934
Congenital hypothyroidism	771,270,000	7,011,545	5,300	226.4	30,968
Congenital aderenal hyperplasia	1,018,850,000	9,262,273	17,600	68.2	135,847
Neuroblastoma	1,435,190,000	13,047,182	7,100	169.0	77,196

1) The total cost used was reported in 1993 by the Misnistry of Health and Welfare

2) Rate: 110 yen = 1 dollar

3) Prevalence is reported in the Ministry of Health and Welfare of Japan (1996)

4) Total numbers of newborns delivered annually in Japan was assumed as 1,200,000