

Munakata, M., Uematsu, M., Iinuma, K., Kato, M., <u>Yamamoto, T.</u> Tsuchiya, S.	simplified gyri and enlarged extraaxial space.				
Okamoto, N., Hatsukawa, Y., Shimojima, K. <u>Yamamoto, T.</u>	Submicroscopic deletion in 7q31 encompassing CADPS2 and TSPAN12 in a child with autism spectrum disorder and PHPV.	<i>Am J Med Genet A</i>	155A	1568-157 3	2011
Shimojima, K., Okanishi, T. <u>*Yamamoto, T.</u>	Marfanoid hypermobility caused by an 862 kb deletion of Xq22.3 in a patient with Sotos syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	155A	2293-229 7	2011
Okumura, A., <u>Yamamoto, T.</u> , Shimojima, K., Honda, Y., Abe, S., Ikeno, M. Shimizu, T.	Refractory neonatal epilepsy with a de novo duplication of chromosome 2q24.2q24.3.	<i>Epilepsia</i>	52	e66-69	2011
Yamashita, S., <u>*Okumura, A.</u> , <u>Yamamoto, T.</u> , Shimojima, K., Tanabe, T. Shimizu, T.	SCN1B is not related to benign partial epilepsy in infancy or convulsions with gastroenteritis.	<i>Neuropediatric s</i>	42	135-137	2011
Sigberg, L., Peippo, M., Sipponen, M., Miikkulainen, T., Shimojima, K., <u>Yamamoto, T.</u> , Ignatius, J. Knuutila, S.	9q22 Deletion--first familial case.	<i>Orphanet J Rare Dis</i>	6	45	2011
Shimojima, K., Sugawara, M., Shichiji, M., Mukaida, S., Takayama, R., Imai, K. <u>Yamamoto, T.</u>	Loss-of-function mutation of collybistin is responsible for X-linked mental retardation associated with epilepsy.	<i>J Hum Genet</i>	56	561-565	2011
Liang, J. S., Shimojima, K., Takayama, R., Natsume, J., Shichiji, M., Hirasawa, K., Imai, K., Okanishi, T., Mizuno, S., Okumura, A., Sugawara, M., Ito,	CDKL5 alterations lead to early epileptic encephalopathy in both genders.	<i>Epilepsia</i>	52	1835-184 2	2011

T., Ikeda, H., Takahashi, Y., Oguni, H., Osawa, M. Yamamoto, T.					
Kitoh, H., Kaneko, H., Kondo, M., Yamamoto, T., Ishiguro, N. Nishimura, G.	Spondylometaphyseal dysplasia with cone-rod dystrophy.	<i>Am J Med Genet A</i>	155A	845-849	2011
Shimajima, K., Isidor, B., Le Caignec, C., Kondo, A., Sakata, S., Ohno, K. Yamamoto, T.	A new microdeletion syndrome of 5q31.3 characterized by severe developmental delays, distinctive facial features, and delayed myelination.	<i>Am J Med Genet A</i>	155A	732-736	2011
Okamoto, N., Tamura, D., Nishimura, G., Shimajima, K. Yamamoto, T.	Submicroscopic deletion of 12q13 including HOXC gene cluster with skeletal anomalies and global developmental delay	<i>Am J Med Genet A</i>	155A	2997-300 1	2011
Tanaka, T., Motoi, N., Tsuchihashi, Y., Tazawa, R., Kaneko, C., Nei, T., Yamamoto, T., Hayashi, T., Tagawa, T., Nagayasu, T., Kuribayashi, F., Ariyoshi, K., Nakata, K. Morimoto, K.	Adult-onset hereditary pulmonary alveolar proteinosis caused by a single-base deletion in CSF2RB.	<i>J Med Genet</i>	48	205-209	2011
Filges, I., Shimajima, K., Okamoto, N., Rothlisberger, B., Weber, P., Huber, A. R., Nishizawa, T., Datta, A. N., Miny, P. Yamamoto, T.	Reduced expression by SETBP1 haploinsuffici- ency causes develop- mental and expressive language delay indicating a phenotype distinct from Schinzel- Giedion syndrome.	<i>J Med Genet</i>	48	117-122	2011
山本俊至	マイクロアレイ染色体検 査の臨床応用	日小児誌	116	32-39	2012
山本俊至	疾患の責任遺伝子に関す る研究の進歩	脳と発達			印刷中
山本俊至、下島圭子	てんかん診療最前線 ア レイ CGH 法 新技術によ るてんかんの遺伝子研究	<i>Epilepsy: てん かんの総合学術 誌</i>	5	47-52	2011

山本俊至、下島圭子	ゲノムコピー数異常と疾患 iPS 細胞を用いた病態解析.	東京女子医科大学雑誌	81	215-219	2011
山本俊至	次世代シーケンサーによる遺伝子解析	小児科	52	1591-1597	2011
下島圭子、山本俊至.	【神経系における iPS 細胞 iPS 細胞の活用も含めた神経機能修復の現状と将来】 iPS 細胞の小児神経疾患の病態解析への応用	脳 21	14	218-223	2011
元井奈都紀, 田中健之, 根井貴仁, 森本浩之輔, 土橋佳子, 田澤立之, 栗林太, 山本俊至, 有吉紅也, 中田光.	疾患形成における標的分子の役割 成人発症の GM-CSF 受容体 common β 鎖発現異常による先天性肺胞蛋白症症例の分子機序	分子呼吸器病	15	106-110	2011
Toritsu, H., Iwaki, A., Takeshita, K., Hiwatashi, A., Sanefuji, M., Fukumaki, Y., Hara, T.	Clinical and genetic characterization of a 2-year-old boy with complete <i>PLP1</i> Deletion.	<i>Brain Dev</i>			In press
Suzuki, S.O., Iwaki, T., Arakawa, K., Furuya, H., Fujii, N., Iwaki, A.	An autopsy case of adult-onset hereditary spastic paraplegia type 2 with a novel mutation in exon 7 of the proteolipid protein 1 gene.	<i>Acta Neuropathol.</i>	122	775-781	2011
Miura, S., Shibata, H., Kida, H., Noda, K., Toyama, T., Iwasaki, N., Iwaki, A., Ayabe, M., Aizawa, H., Taniwaki, T., Fukumaki, Y.	Partial <i>SPAST</i> and <i>DPY30</i> deletions in a Japanese spastic paraplegia type 4 family.	<i>Neurogenetics</i>	12	25-31	2011
Matsuoka, T., Fujii, N., Kondo, A., Iwaki, A., Hokonohara, T., Honda, H., Sasaki, K., Suzuki, S.O., Iwaki, T.	An autopsied case of sporadic adult-onset amyotrophic lateral sclerosis with FUS-positive basophilic inclusions.	<i>Neuropathology</i>	31:	71-76	2011

研究成果の刊行物・別刷（抜粋）

= 総 説 =

先天性大脳白質形成不全症

—Pelizaeus-Merzbacher 病とその類縁疾患—

井上 健¹ 岩城 明子² 黒澤 健司³ 高梨 潤一⁴
出口貴美子¹ 山本 俊至⁵ 小坂 仁⁶

要旨 先天性大脳白質形成不全症は、Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) を代表とする主に遺伝性的原因により大脳白質の髄鞘形成不全を特徴とする疾患群の総称である。これまで PMD 以外の疾患については、臨床および分子遺伝学的な分類が困難であった。しかし、ここ数年で新たな疾患概念の確立や疾患遺伝子の同定が進み、PMD 以外の先天性大脳白質形成不全症に関する多くの知見が明らかになった。これらを加味した先天性大脳白質形成不全症の診断基準や疾患分類は、臨床上有用と思われる。本稿では、先天性大脳白質形成不全症に関する研究班による成果による新たな診断基準や、この疾患群に含まれる 11 疾患の鑑別診断のためのフローチャートを含む疾患分類を中心に、先天性大脳白質形成不全症に関する最新の知見をまとめた。

見出し語 髄鞘, 低形成, 疾患分類, 診断基準, 中枢神経

はじめに

先天性大脳白質形成不全症は、大脳白質の髄鞘形成不全を主要な病態とする疾患群の総称である。ごく最近まで、本疾患群の特徴を呈する疾患で、その原因遺伝子や病態が明らかなのは、Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) のみであった。そして、臨床的に大脳白質の髄鞘形成不全を呈するものの、PMD の原因遺伝子プロテオリビッド蛋白 1 (PLP1) 遺伝子の変異が見いだせない症例については、Pelizaeus-Merzbacher 様病 (PMLD) という除外診断的な名称を与えざるを得なかった。

PMD の原因遺伝子として PLP1 遺伝子が同定された後、多くの先天性大脳白質形成不全症の患者の検索が行われ、多くの PLP1 遺伝子変異が様々な重症度や臨床症状を呈する患者に見いだされた¹⁾。その一方で、臨床的に PMD を疑われた患者の少なくとも 2~3 割には PLP1 の変異が見いだされない

ということも、明らかになってきた。これらの症例には、常染色体劣性遺伝が疑われる家系や遺伝学的に PLP1 遺伝子座が除外された家系も含まれた。便宜的に PMLD と定義されたこれらの症例の一部で、近年、新たな原因遺伝子が同定されてきた。また、臨床的な再検討により、これらの症例は PMD と症状等がやや異なることも明らかになってきた。こういった背景から、従来、PMLD と分類された疾患も含めた疾患の分類や診断基準の見直しが必要になってきた。しかし、現段階では国際的コンソーシアムなどによる統一の診断基準の作成はなされておらず、個々の研究者レベルで個別に分類を試みているのみである²⁾。こういった背景の中、新たに先天性大脳白質形成不全症という疾患群としての概念を定義し、その中で中枢神経系の髄鞘形成不全という共通の病態に基づく疾患の分類と診断基準を作成することが必要になってきた。

平成 21 年度より、厚生労働省の主導により希少難治性疾患に関する臨床的な研究が推進されることになり、我々は先天性大脳白質形成不全症に関する研究班を立ち上げ、先天性大脳白質形成不全症の診断基準を作成するに至った³⁾。具体的には、国内外の症例報告などの文献を参考に、本疾患に関する臨床小児神経学、画像診断学、遺伝子診断学、および臨床遺伝学の専門家 6 名による研究班において診断基準を作成した。PMD 以外の疾患に関しては、まとまった症例での検討は少なく、数編の症例報告やそれらの遺伝学的解析に関する論文が存在するのみであり、多数例の検討に関する論文に重きをおいて作成する客観的なエビデンスに基づく手法を用いるのは現段階では困難と判断し、これまで報告されている症例に関する各文献を吟味し、これに基づく診断基準が作成さ

¹ 国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第 2 部² 九州大学生体防衛医学研究所³ 神奈川県立こども医療センター遺伝科⁴ 亀田メディカルセンター小児科⁵ 東京女子医科大学統合医学研究所⁶ 神奈川県立こども医療センター神経内科

連絡先 〒187-8502 小平市小川東町 4-1-1

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

疾病研究第 2 部 (井上 健)

E-mail: kinoue(a)ncnp.go.jp

(受付日: 2010. 10. 22, 受理日: 2010. 12. 6)

表1 先天性大脳白質形成不全症の分類

疾患名	OMIM	略号	HLD 分類	遺伝形式	遺伝子座	原因遺伝子
第1群；主として中枢神経の先天性髄鞘形成不全を呈する疾患群						
(1) Pelizaeus-Merzbacher 病	#312080	PMD	HLD1	X 劣	Xq22	PLP1
(2) Pelizaeus-Merzbacher 様病 I	#608804	PMLD1	HLD2	常劣	1q42.13	GJC2
(3) 基底核および小脳萎縮を伴う髄鞘形成不全症	%612438	HABC	HLD6	不明	不明	不明
(4) 18q 欠失症候群	#601808	18qDEL		染色体 欠失	18q22-qter	MBP
(5) Allan-Herndon-Dudley 症候群	#300523	AHDS		X 劣	Xq13.2	SLC16A2
(6) Hsp60 shaperon 病	#612233	MITCHAP60	HLD4	常劣	2q33.1	HSPD1
(7) Salla 病	#604369	SD		常劣	6q13	SLC17A5
(8) 小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症	未	HCAHC		不明	不明	不明
第2群；中枢神経および末梢神経の先天性髄鞘形成不全を呈する疾患群						
(1) 先天性白内障を伴う髄鞘形成不全症	#610532	HCC	HLD5	常劣	7p15.3	FAM126A
(2) 失調，歯牙低形成を伴う髄鞘形成不全症	612440	ADDH	HLD7	不明	不明	不明
(3) 脱髄型末梢神経炎，中枢性髄鞘形成不全症，Waardenburg 症候群，Hirschsprung 病	#609136	PCWH		常優	22q13	SOX10

HLD: hypomyelinating leukodystrophy の略。OMIM では先天性大脳白質形成不全症に含まれる疾患の一部を HLD として分類しているため、本分類でもこれに倣った。

X 劣：X 連鎖劣性，常劣：常染色体劣性，常優：常染色体優性。

れた。各疾患に関する概要に関しては、その臨床的特徴の記載とともに鑑別診断のためのフローチャートを作成し、臨床現場での使い勝手を重視した。本稿では、これらの疾患分類と診断基準をもとに、先天性大脳白質形成不全症についての概要をまとめた。

I 先天性大脳白質形成不全症の定義と疾患分類

先天性大脳白質形成不全症は、大脳をはじめとする中枢神経系の白質の髄鞘形成が遺伝的要因により先天的に不完全（低形成）な疾患群と定義される。これは髄鞘の構成成分や髄鞘化に必要な因子などの遺伝的な異常が原因で起こる、中枢神経系の髄鞘化の広範かつ著明な低下あるいは停止を特徴とする疾患群である。現在までに PMD をはじめ、11 疾患が知られている（表 1）。脱髄性疾患および代謝性や全身性障害に伴う二次的な髄鞘化障害による疾患は除外される。

II 共通して認められる臨床症状および検査所見

先天性大脳白質形成不全症に認められる必須所見として、以下の 2 点がある。(1) 錐体路障害：痙性四肢（下肢）麻痺、(2) MRI 画像所見：T2 強調画像で、白質にび慢性的の高信号領域。脱髄の所見は除外。

また、随伴所見として、以下の 6 点があげられる。

(1) 眼振、(2) 精神運動発達遅滞、(3) 小脳障害：体幹・四肢の失調症状、企図振戦、小児期には測定障害、変換障害、不明瞭言語など、(4) 大脳基底核障害：固縮、ジストニア、(5) てんかん、(6) 電気生理学的検査所見：誘発電位では中枢伝導障害を示す。

これらの臨床症状の特徴として、錐体路障害は、幼児期には低緊張のことが多いが、上下肢の腱反射が亢進し、Babinski 反射等の病的反射が残存し、次第に痙性四肢（下肢）麻痺を

呈する。複合型あるいは単純型痙性対麻痺の表現型をもつ症例の存在が知られており、下肢痙性が初発症状のことがある。精神運動発達遅滞はほとんどの症例で見られる。一般的に運動障害が、知的障害よりも高度であり、言語理解力が表出言語能力を上回る。小脳障害は遠心路、求心路ともに起こる。体幹・四肢の失調症状、企図振戦、小児期には測定障害、変換障害、不明瞭言語などが認められることがある。固縮やジストニアなどの大脳基底核症状は、経過にともなって出現する場合も多い。白質異常により、皮質症状としてのてんかんを合併することもある。生理学的検査では、聴性脳幹反応や体性感覚誘発電位、視覚誘発電位では中枢性伝導障害を示す。また、末梢神経伝導速度あるいは筋電図所見により末梢神経障害がある場合は I 群、ない場合は II 群に分類する。画像検査では、MRI 撮影が診断的に有用かつ必須である。T2 強調画像で、白質にび慢性的の高信号領域を認める。CT 像では、白質の低吸収域を呈することがあるが、診断の有用性は低い。血清・生化学的所見では、Allan-Herndon-Dudley 症候群 (AHDS) を除き、特異的な所見はない。

III 鑑別診断のためのフローチャート (図 1)

まず MRI 所見より、T2 強調画像での高信号が正常の髄鞘化の遅延・停止なのか、脱髄なのかを明らかにする。軽度の髄鞘化遅延は、半年以上の経過をおいて再検査し、髄鞘化遅延の有無を確定する。脱髄性疾患では、T2 強調画像で著しい高信号を呈する部位を認めることが多く、同部位は T1 強調画像では低信号を呈することがある。髄鞘化遅延の判断には、正常小児の髄鞘化パターンを知ることが必要である。ついで末梢神経伝導速度測定などにより末梢神経障害のない群 (1 群) と末梢神経障害を合併する群 (2 群) に大別する。各群に含まれる疾患は表 1 に示す。

次に遺伝学的な検査を念頭に鑑別診断を進める (図 2)。家族歴の有無、発端者の性別、発症年齢、眼振の有無などの臨床情報が重要である。第 1 群については、まず、多発奇形を伴う場合には、18q 欠失症候群を疑い、染色体検査あるいは 18q サブテロメア FISH を行う。男児で甲状腺機能異常を認める場合は AHDS を疑う。これらの異常がない先天性大脳白質形成不全症の男児の場合は、最も頻度の高い PMD を疑い、PLP1 遺伝子異常の検索を行う。PLP1 の異常が認められない男児、あるいは女児の症例では、PMLD1 を疑い GJC2 遺伝子の異常を検索する。これらで異常が認められない場合は、Salla 病 (SD)、Hsp60 chaperon 病 (MitCHAP60)、基底核および小脳萎縮を伴う髄鞘形成不全症 (HABC)、小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症 (HCAHC) の可能性を疑う。SD では尿中あるいは髄液中の遊離シアル酸の高値、HABC では大脳基底核や小脳の萎縮、HCAHC では大脳基底核萎縮を伴わない小脳萎縮と脳梁低形成が特徴である。一方で、PLP1 遺伝子の部分重複や PLP1 や GJC2 の翻訳領域外の変異など、一般的な遺伝子解析方法では検出が困難な稀な変異による PMD あるいは PMLD1 の可能性も考慮する。

第 2 群については、随伴する症状の特徴から、比較的容易に鑑別が可能である。白内障を伴う場合には先天性白内障を伴う髄鞘形成不全症 (HCC)、歯牙低形成や成長障害が認められれば失調、歯牙低形成を伴う髄鞘形成不全症 (ADDH)、Waardenburg 症候群や Hirschsprung 病を認める場合には、脱髄型末梢神経炎、中枢性髄鞘形成不全症、Waardenburg 症候群、Hirschsprung 病 (PCWH) と考えられる。なお、PLP1 遺伝子機能喪失変異による PMD 患者は、末梢神経障害を呈する。

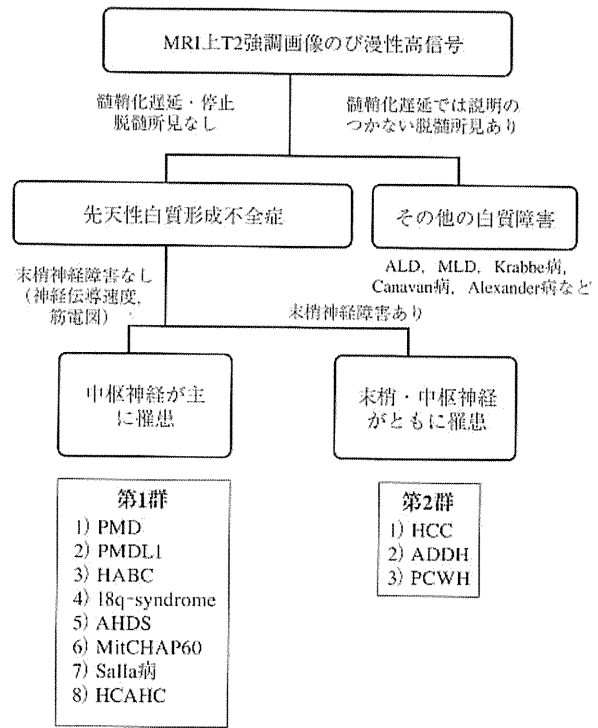


図 1 先天性大脳白質形成不全症の診断のためのフローチャート

臨床所見からみた先天性大脳白質形成不全症の分類。末梢神経障害の有無により、第 1 群と第 2 群に分類される。

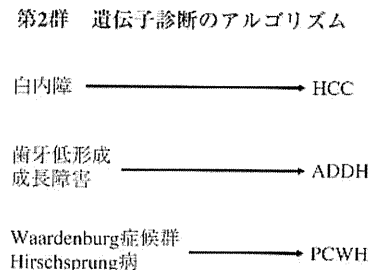
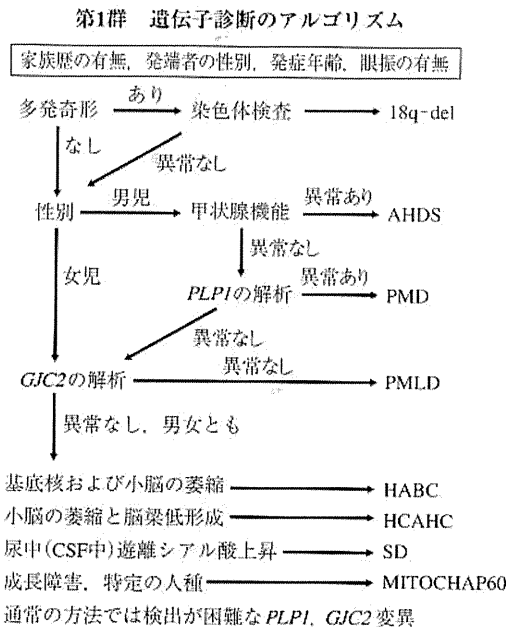


図 2 先天性大脳白質形成不全症の遺伝子診断のためのアルゴリズム
左：第 1 群疾患の遺伝子診断アルゴリズム、右：第 2 群疾患の遺伝子診断アルゴリズム。

本分類基準のいずれの疾患にも該当しない症例が少なからず存在することから、まだ疾患概念が確立されていない先天性大脳白質形成不全症があると考えられる。

IV 各疾患の概要

1. 第1群；主として中枢神経の先天性髄鞘形成不全症

(1) Pelizaeus-Merzbacher 病 (Pelizaeus-Merzbacher disease ; PMD, HLD1, OMIM#312080)

疾患の概念：X連鎖性劣性遺伝形式をとる中枢神経系の髄鞘形成不全症であるため、患者は例外を除き男児のみである。神経病理学的には、中枢神経系白質の髄鞘が消失・あるいは極度に低下するが、神経細胞および軸索は保持され、明らかな脱髄性変化を伴わず、残存した髄鞘が斑状の tigroid の像を呈することを特徴とする。遺伝学的には、プロテオリピドプロテイン1 (*proteolipid protein 1* ; *PLP1*) 遺伝子の異常がこの疾患の主たる原因である¹⁾。

臨床症状：生直後から遅くも1カ月程度までに眼振で気づかれることが多い。水平性眼振であることが多く、代償性の頭部振戦を認める場合がある。生後から半年程度までは筋緊張低下の症状を呈するが、原始反射の消失が遅れ、Babinski 反射は半年を超えても陽性であり、やがて腱反射の亢進も明らかになり一次ニューロンの問題を示す。小脳症状としての企図振戦は1歳過ぎには、注意深く観察すると明らかであることが多い。また、2歳頃にはアテトーゼ様の異常肢位が発現してくる。このように中枢神経系の、運動、運動制御系、大脳基底核のすべての症状が相次いで出現するのがこの疾患の特徴であるが、後年眼振は目立たなくなり、関節拘縮が進むと小脳症状も気づかれず、年長児で痙性と固縮をもつ脳性麻痺として診断されている例も多い。また、乳幼児期の運動知的発達が正常で、学童期以降にゆっくりと退行する、X連鎖性痙性対麻痺の表現型をとることもある。通常10～20歳代を過ぎると症状の退行が始まり、平均寿命は30歳前後である。症状の退行と平行して、画像上の脳萎縮を認める。*PLP1* 機能喪失変異の症例では、末梢神経障害を呈する。

検査・画像所見：検査所見では、聴性脳幹反応では、II波以降がまだらな中枢伝導時間を反映して消失する。末梢神経伝導速度は正常であるが、*PLP1* 欠失など機能喪失型の変異による症例では、軽度低下する。血清生化学・尿所見に異常は認めない。髄液所見では、蛋白上昇を含め明らかな異常は認めない。脱髄疾患とは異なり myelin basic protein の値も正常範囲から正常上限であることが多い。MRI 画像は極めて特徴的であり、T2 強調画像ではび漫性の白質の高信号および T1 強調画像で、皮質・白質のコントラストが消失（あるいは低下）していることが特徴的である。一般的に、T2 強調像の信号では正常の新生児期よりも髄鞘化に乏しく年齢が長じても変化が乏しい。T1 強調画像上は、ゆっくりとした髄鞘化を認めるが、皮質・白質のコントラストが悪い。CT 検査では、非特異的な大脳萎縮を認めるのみで診断的な情報は少ない。

遺伝子診断：*PLP1* 遺伝子重複、点変異、遺伝子欠失など様々な変異が存在する¹⁾。*PLP1* 遺伝子重複はほぼ半数（50～75%）の症例で認める。これは、定量的 PCR 法や間核 FISH 法などにより正常の2倍量の *PLP1* の存在により確認できる。また、新たな技術として MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) やアレイ CGH (microarray-based comparative genomic hybridization) などでも診断可能である。2割前後（15～25%）の患者では、*PLP1* 蛋白コード領域やスプライス部位の点変異による。アミノ酸置換型変異が最も頻度が高いが、他にスプライシング異常やナンセンス変異、挿入あるいは欠失なども認める。変異の検出には、直接塩基配列決定法などを用いる。*PLP1* 遺伝子全長の欠失は稀である（2%以下）。欠失は上記のいずれの方法でも検出される。PMD 遺伝子診断は、変異の多様性を念頭に置き、異なる検査方法を組み合わせる必要がある。

(2) Pelizaeus-Merzbacher 様病1 (Pelizaeus-Merzbacher like disease 1 ; PMLD1, HLD2, OMIM#311601)

疾患概念：臨床的には PMD と区別がつかない症状を呈するにもかかわらず、*PLP1* 遺伝子の異常を認めない症例を PMLD と呼び、PMD と区別する。従来、PMD 女児例として報告されていたものを含む。稀な疾患である。常染色体劣性遺伝形式をとる一部の症例では、*gap junction protein C2* (*GJC2*) 遺伝子の変異が原因であり²⁾、これを PMLD1 と呼ぶ。

臨床症状と検査所見：生後早期より眼振を認め、1歳前に運動発達遅滞に気づかれ、その後 PMD と同様に錐体路症状、小脳症状、大脳基底核症状が明らかになる。また、聴性脳幹反応では中枢伝導時間の延長を示し、頭部 MRI の T2 強調画像では白質のび漫性高信号などの所見を呈する。これらの臨床症状や検査所見は PMD に酷似する。一方で、33例の報告例のうち12例で自立歩行が可能であると報告されており、PMD より最大運動発達は良好である。しかしながら、全例で10歳前に退行が始まり、10歳までには支持歩行を失う。痙性下肢麻痺の経過をとる軽症例の報告もある。

原因遺伝子：*GJC2* 遺伝子 (別名 *Cx47* あるいは *GJA12*) の異常が2004年に報告され、遺伝学的にも PMD とは異質であることが明らかとなった²⁾。その一方で、*GJC2* 変異のない PMLD 患者も存在することから、これ以外の遺伝子の関与も示唆されている。既知の変異は、すべてコード領域内の変異であるので、遺伝子診断では、塩基配列決定法などを用いて変異を検出する。これらの変異は、オリゴデンドロサイトの細胞膜上の *gap junction* の機能を喪失させると考えられている³⁾。

(3) 基底核および小脳萎縮を伴う髄鞘形成不全症

(Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum ; HABC, HLD6, OMIM#612438)

疾患概念：先天性の白質形成不全に加えて、大脳基底核（尾状核頭、および被殻に顕著）の進行性萎縮を認める疾患。HABC は、2002年に初めて症例報告され、2007年に疾患概念

として確立された新しい疾患である⁶⁾⁷⁾。血族婚例があることより、常染色体劣性が疑われるが、原因遺伝子は未同定である。

臨床症状：生下時には異常なく、眼振も認めない症例が多い。最大運動機能としては、支持歩行を3歳頃までに獲得する。10歳前に発達退行を示し、数年の経過で支持歩行を消失する。生下時にははっきりしないが、徐々に痙性、小脳失調を示し、錐体外路症状（アテトーゼ、ジストニア、固縮）が出現するのが特徴である。精神遅滞は、中等度から重度だが、発語がなくとも笑顔など非言語性的コミュニケーションが可能なお例がある。半数近くの症例で感音性難聴や小頭症、低身長をみる。

検査所見：頭部MRIではび慢性のT2強調高信号を呈する。脳幹は低信号だが、錐体路が高信号として描出されるのが特徴である。白質容量は低下して脳室拡大を認める。大脳および小脳白質に認めるT2の高信号は徐々に低信号化し、ミエリンの消失を反映する。小脳、特に虫部の萎縮性変化が著しい。視床・淡蒼球は保たれるが、被殻は小さく、やがて消失する。尾状核も徐々に萎縮する。

原因遺伝子：原因遺伝子は未同定である。

(4) 18q欠失症候群 (Chromosome 18q deletion syndrome ; 18qdel, OMIM#601808)

疾患概念：18q欠失症候群は、18番染色体長腕端部欠失による染色体異常症候群で、欠失範囲に多数の遺伝子が含まれるため、多様な症状を来す。大脳白質形成不全症は *myelin basic protein (MBP)* 遺伝子の欠失が原因である⁸⁾。

臨床症状：成長障害（特に低身長）、発達遅滞、筋緊張低下、協調運動障害、眼振、伝音性難聴、けいれん、小頭症、顔面正中部低形成、くぼんだ眼球、眼裂狭小、鯉様の口などの多様な臨床症状を呈する。生命予後は良好である。18q欠失症候群の重要な合併症として、膀胱尿管逆流、尿路感染症があげられる。

検査所見：頭部MRIではT2強調画像にて大脳白質の高信号を認める。大脳白質全体の高信号から散在性の高信号までその程度は様々である。脳梁の低信号は保持されやすい。血液検査においてIgA欠損や成長ホルモン分泌低下がしばしば認められる。末梢神経伝導速度、視覚誘発電位は正常との報告がある。聴性脳幹反応に関しては報告が見あたらない。

遺伝子診断：18q21→qterの長腕端部欠失の報告が多く、症例の3/4は *de novo* 変異（発端者突然変異）である。他に家族性の相互均衡転座、*de novo* 転座、家族性の逆位などの報告がある。診断はG分染法染色体検査およびFISH法を用いる。症状に関与する染色体責任部位は18q22→q23とされる。大脳白質病変を呈する症例では、FISH解析で18q23に位置する *MBP* 遺伝子の1コピー欠失を同定する。髄鞘化遅延は *MBP* 遺伝子のハプロ不全により起こると推測される。

(5) Allan-Herndon-Dudley 症候群 (Allan-Herndon-Dudley syndrome ; AHDS, OMIM#300523)

疾患概念：X連鎖精神遅滞症候群の1つである。重度の精神発達遅滞、構音障害、アテトーゼ運動、筋低形成、痙性対麻痺を主症状とし、乳幼児期からMRI検査により髄鞘化の遅れが認められる。Xq13.2に存在する *solute carrier family 16, member 2 (SLC16A2; monocarboxylic acid transporter 8 (MCT8))* 遺伝子の異常による甲状腺ホルモンの膜輸送の障害が原因と考えられている⁹⁾。近年、*PLP1*などの既知遺伝子異常を認めないPMD患者の約1割が *SLC16A2 (MCT8)* の変異を有することが報告された¹⁰⁾。

臨床症状：いわゆる症候性X連鎖精神発達遅滞を示すが、幅広い症状のスペクトラムを示す。最重症例においては、著しい低緊張、眼振、ジストニア、強剛痙性対麻痺を示し、運動や言語の発達遅滞を示す。軽症例は男性にも女性にも認められ、筋緊張低下から次第に痙性対麻痺や構音障害、失調歩行、舞踏病運動、顔面筋罹患を来す。甲状腺ホルモン以外の内分泌機能に異常はなく、内臓奇形などは合併しない。難聴も認められない。

検査・画像所見：甲状腺ホルモンの異常と特徴的な画像所見を示す。甲状腺ホルモン検査ではT4低値、T3高値を示し、TSHは正常値の上限を示すことが多い。頭部MRI検査では初期にはほとんど異常が見られないこともあるが、次第に皮質萎縮、あるいはT2強調画像でのび慢性高信号などの髄鞘低形成の所見を示す。文献的に聴性脳幹反応の報告はないが、中枢神経における伝達速度が低下するとされている。

遺伝子診断：*SLC16A2 (MCT8)* の変異を塩基配列決定などで同定する。*SLC16A2* はX染色体q13.2に位置し、12膜貫通ドメインを持つ蛋白をコードしている。*SLC16A2 (MCT8)* は甲状腺ホルモンの膜能動輸送に関わっていると考えられている。ナンセンス変異やミスセンス変異が報告されており、変異により重症度が異なる。*SLC16A2 (MCT8)* 領域の転座による女児例の報告もある。以下のような症状を示す場合、*SLC16A2 (MCT8)* 変異を疑う。①重度精神運動発達遅滞を伴うX連鎖痙性対麻痺、②頭部MRI画像で髄鞘形成障害を認める、③甲状腺ホルモン検査でT4低値、T3高値、TSHは正常値の上限を示す。

(6) HSP60 chaperon 病 (Mitochondrial Hsp60 chaperonopathy ; MitCHAP60, HLD4, OMIM #612233)

疾患概念：ミトコンドリアシャペロニン Hsp60 蛋白質の異常による先天性大脳白質形成不全症である。原因遺伝子は2q33.1に位置する *Hsp60* 遺伝子 (*HSPD1*) で、常染色体劣性遺伝形式をとる。これまでに報告されたのは、血族結婚を繰り返したイスラエルの大家系のみである¹¹⁾。

臨床症状：上記家系の10名の症例報告によると、生直後～3カ月より筋緊張低下、眼振、精神運動発達遅滞に気づかれる。顕著な痙性、発達遅滞、退行をみる。てんかんの合併は約半数に見られる。摂食不良による栄養不良ならびに成長障害をみる。20歳までに嚥下性肺炎や原因不明の突然死により死亡する症例が多い。出生後1～2年で死亡する重症例もあ

る。2年以上生存した患者は、進行性の四肢の痙性麻痺と拘縮を認める。家族内・家族間での表現型の差異を認める。

検査所見：MRIで大脳および小脳白質にT2強調画像でび漫性に高信号を呈し、髄鞘化を全く認めない。脳梁の非薄化と脳室拡大、脳幹と小脳の萎縮も認める。聴性脳幹反応ではI波の遅延とII波以降の消失をみる。

遺伝子診断：HSPD1のDNA塩基配列決定法による。上記の家系ではD29G変異のホモ接合体で発症し、ヘテロ接合体の保因者は無症状である。HSPD1の他の変異は、常染色体優性遺伝形式をとる痙性対麻痺13型(SPG13;OMIM#605280)の原因となる。

(7) Salla病(Salla disease; SD, OMIM#604369)

疾患概念：SDは、常染色体劣性遺伝形式をとり、リソゾームへのシアル酸蓄積を特徴とする。MRI所見上、先天性大脳白質形成不全症に共通するび漫性白質病変を呈する。原因遺伝子は、SLC17A5遺伝子(6q14-q15)である。同じ遺伝子変異によるinfantile sialic acid storage disorder (ISSD, OMIM#269920)は乳児期に致命的であるが、SDは乳児期に発症するが進行は緩徐であり、軽症型ないし成人型とされる。

臨床症状：多くの症例はフィンランド(Salla地方)に集積している。発達遅滞、発達退行、身体発育不全、運動失調、眼振、筋緊張低下、痙性、てんかんなどを呈する。

検査所見：尿中遊離シアル酸(N-acetylneuraminic acid; NANA)の増加が診断に有用である。稀に尿中NANAの増加を見ない症例も存在するが、髄液中のNANAは全ての症例で増加する。MRIではT2強調画像で白質の広範な高信号(hypomyelinating pattern)を認め、PMDと近似する。MRS検査ではN-acetylaspartate (NAA)の高値を呈するが、これはNANAとNAAは1.5テスラMR装置では区別できないためであり、実際にはNANAの増加を反映しており、診断的に有用である。末梢神経伝導速度は約半数で低下するが、視覚誘発電位、聴性脳幹反応は通常正常である。

遺伝子診断：SDは、SLC17A5遺伝子のR39Cの創始者異常による症例がほとんどであり、本邦での症例は報告されていない。近年、フィンランド人で見いだされているR39Cの変異以外にも少数のSDの原因遺伝子変異が明らかになっている。変異SLC17A5のグルタミン酸/アスパラギン酸トランスポーター機能異常による神経伝達障害が大脳病変の分子病態と推測される。

(8) 小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび漫性大脳白質形成不全症(Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum; HCAHC)

疾患概念：2009年に本邦から提唱された新しい疾患概念¹²⁾。中枢神経系の髄鞘形成不全に加え、小脳萎縮と脳梁低形成を伴う。大脳基底核の萎縮は認めない。

臨床症状：これまで報告された3例はいずれも1~3歳代に自立歩行を獲得しているが、10代に入り徐々に進行する歩行失調、振戦、緩徐言語、錐体路症状を認め、軽度から中等

度の精神運動発達遅滞を示している。アテトーゼを認める例はないが、2/3例でジストニアを呈する。

検査所見：末梢神経伝導速度、視覚誘発電位、聴性脳幹反応は正常である。MRI所見は、び漫性T2高信号とT1での同等あるいは軽度高信号を呈す。脳梁低形成と小脳(ことに皮質)萎縮を示す。当初認めない大脳萎縮も、臨床的な退行が認められる時期には観察される。

遺伝子診断：原因遺伝子は不明であり、家族例の報告もなく遺伝形式も不明である。

(9) その他、分類不能な疾患

2. 第2群；中枢神経および末梢神経の先天性髄鞘形成不全症

(1) 先天性白内障を伴う髄鞘形成不全症(Hypomyelination and congenital cataract; HCC, HLD5, OMIM#610532)

疾患概要：大脳白質形成不全と白内障を合併する1疾患単位として、2006年に初めて報告された常染色体劣性遺伝形式をとる新しい先天性大脳白質形成不全症である¹³⁾。稀少で、これまで10例の報告があるのみである。

臨床症状：生後1カ月未満に白内障に気づかれ、定額や座位獲得の異常はないが、1歳過ぎに歩行が未獲得であることより発達遅滞に気づかれる。2歳頃までに支持歩行を獲得するが、独立歩行には至らない。緩弱に退行し、9/10例で成人までに歩行を消失する。全例で錐体路徴候があり、病的反射は陽性であるが腱反射は低下していることが特徴である。9/10例で小脳症状を認めており、また、末梢神経症状として筋力低下と下肢遠位筋の萎縮を認めている。大脳基底核症状(ジストニア、アテトーゼなど)については記載がない。精神発達遅滞は軽度から中等度で、熱性けいれん以外のけいれんは2例で認めている。

検査所見：9/10例で末梢神経伝導速度の低下を認め、末梢神経生検では有髄線維の減少と、電顕上、髄鞘形成不全像が認められている。また、MRI所見は、び漫性T2高信号とT1での同等あるいは軽度高信号を呈すが、一部脳室周囲にT2の強い高信号、T1の低信号領域を認め、このような部位では白質の水分含量が増大している可能性が示されている。

遺伝子診断：疾患原因遺伝子FAM126A(DRCTNNB1A)(7p15.3)のDNA塩基配列決定法により変異を同定する。FAM126Aはβカテニン/Wntシグナルに関連し、オリゴデンドロサイトの分化への関与が示唆されている。

(2) 失調、歯牙低形成を伴う髄鞘形成不全症(Ataxia, delayed dentition, and hypomyelination; ADDH, HLD7, OMIM612440)

疾患概念：進行性の失調、乏歯・欠歯などの歯牙低形成を特徴とする大脳白質形成不全症である¹⁴⁾。発症は、幼児期から小児期早期で症状は全体に進行性である。現在まで報告症例数が20家系足らずの稀な疾患である。原因遺伝子は未同定である。ほとんどが孤発例であるが、血縁家系での同胞発生もあり、常染色体劣性および常染色体優性遺伝形式いずれの可能性もあり、遺伝的異質性が考えられる。ほかに、精

神遅滞，下垂体低ゴナドトロピン性性腺機能低下なども合併することもある。

臨床症状：乳幼児期の発達は正常なことが多い。しかし，独歩達成時期から運動発達の遅れが目立つようになる。幼児期正常発達例でも10代前半までには運動失調が目立つようになり，症状が目立つ年齢にはやや家系ごとに幅がある。錐体路症状の有無は症例ごとに異なる。乏歯・欠歯などの歯牙低形成（主に切歯が欠損）は幼児期から気づかれる。ほかに，筋緊張低下，成長障害なども目立つことがある。下垂体性低ゴナドトロピン性性腺機能不全による二次性徴を認めない例もあるが，この内分泌学的特徴が本症に共通する特徴であるかは，報告症例の年齢の違いが大きいためにはっきりしない。精神発達は，正常から中等度精神遅滞まで幅がある。予後に関しては症例数が少ないため不明である。

検査所見：頭部MRIにて，T2強調画像での大脳白質のびまん性高信号による髄鞘低形成と小脳の萎縮を認める。脳梁は菲薄化する。MRSでの診断も有用で，大脳白質におけるmyo-inositolの上昇と，NAAおよびcholineの低下を特徴とする。歯牙低形成は，パノラマ撮影で切歯の欠損を確認する。

遺伝子診断：原因遺伝子および遺伝子座は未同定である。

(3) 脱髄型末梢神経炎，中枢性髄鞘形成不全症，*Waardenburg* 症候群，*Hirschsprung* 病 (Peripheral demyelinating neuropathy, central dysmyelinating leukodystrophy, *Waardenburg* syndrome, and *Hirschsprung* disease; PCWH, OMIM#609136)

疾患概念：オリゴデンドロサイトの発生異常に加え，Schwann細胞，メラノサイト，腸管ガングリア細胞など神経堤由来細胞の発生異常を本態とする稀な疾患である¹⁵⁾。臨床的には，中枢神経系の髄鞘形成不全に加え，末梢神経系では脱髄型ニューロパチーを呈し，さらに*Waardenburg* 症候群，*Hirschsprung* 病を合わせた4症候群を合併する。原因遺伝子は*SOX10*で，常染色体優性遺伝形式をとるが，多くは突然変異による孤発例である¹⁶⁾。

臨床症状：多くの症例で出生直後に*Hirschsprung* 病に対する外科的治療を要する。神経症状については，重症例では，生直後より末梢・中枢ともに髄鞘形成がほとんど見られず，早期に死亡の転機をとる。中等度の症例では，精神運動発達遅滞と低緊張，約半数で痙性四肢麻痺を呈するとともに，脱髄型ニューロパチーを合併する。軽症例では軽度の運動発達遅滞と脱髄型ニューロパチーを呈する。*Waardenburg* 症候群に関しては虹彩や毛髪，皮膚等の部分的な低色素と感音性難聴を呈する。

検査所見：頭部MRIでは，T2強調画像にて様々な程度で大脳白質のびまん性高信号を認める¹⁶⁾。重症例では白質の形成不全による脳幹や小脳，大脳白質の萎縮を認める。一方，軽症例では脳室周囲白質の軽微な高信号を認める。末梢神経伝導速度の低下も様々な程度で認める。

遺伝子診断：ほとんどの症例は，原因遺伝子*SOX10*のコー

ド領域の点変異によるもので，DNA塩基配列決定法により検出する。多くは患児に新規の変異として起こる。*SOX10*を含むゲノム領域の欠失の報告もある。

(4) その他，分類不能な疾患

おわりに

先天性大脳白質形成不全症の診断は，特異的生化学マーカーがほとんどないため，MRIによる画像診断と遺伝子解析とともに臨床所見に頼らざるを得ない。本稿では，11疾患の分類と概要を明らかにしたが，依然これらの分類に当てはまらないと思われる症例が少なからず存在する。こういった症例が，未知の遺伝子変異による新たな疾患なのか，あるいは既知の遺伝子異常による疾患であるのか，残念ながら，現在本邦で可能な遺伝子解析体制でこれを明らかにすることは容易ではない。希少性疾患である先天性大脳白質形成不全症の疾患概念と病態をさらに明らかにしていくためには，1例1例の症例を積み重ねていく以外に方法はない。我々は，本稿にまとめた診断基準が臨床現場で役立つことを期待するとともに，既知疾患の表現型の多様性や新たな疾患の同定により，さらに改訂されていくことを望んでいる。

本稿の診断基準は，平成21年度厚生労働科研究報告書に報告された診断基準の内容（一部修正・加筆）に基づいたものである。本研究は，厚生労働科研究費難治性疾患克服研究事業「先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究」により，日本小児神経学会共同研究支援事業の承認を受けて行われている。

本稿脱稿後に，ADDHの原因遺伝子として*POLR3R*が同定された (Bernard et al. *Am J Hum Genet* 2011, in press)。今後も，次々に新たな原因遺伝子が同定され，病態との関連性が明らかになっていくと思われる。

文 献

- Inoue K. PLP1-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. *Neurogenetics* 2005;6:1-16.
- Schiffmann R, van der Knaap MS. Invited article: an MRI-based approach to the diagnosis of white matter disorders. *Neurology* 2009;72:750-9.
- 先天性大脳白質形成不全症の診断基準・治療指針。厚生労働省科研究費難治性疾患克服研究事業「先天性大脳白質形成不全症の診断と治療に向けた研究」平成21年度総括・分担報告書。2010;57-75.
- Uhlenberg B, Schuelke M, Ruschendorf F, et al. Mutations in the gene encoding gap junction protein $\alpha 12$ (connexin 46.6) cause Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *Am J Hum Genet* 2004;75:251-60.
- Orthmann-Murphy JL, Enriquez AD, Abrams CK, Scherer SS. Loss-of-function GJA12/Connexin47 mutations cause Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *Mol Cell Neurosci* 2007;34:629-41.
- van der Knaap MS, Linnankivi T, Paetau A, et al. Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum: follow-up and pathology. *Neurology* 2007;69:166-71.
- van der Knaap MS, Naidu S, Pouwels PJ, et al. New syndrome characterized by hypomyelination with atrophy of the basal gan-

- glia and cerebellum. *AJNR Am J Neuroradiol* 2002;23:1466-74.
- 8) Gay CT, Hardies LJ, Rauch RA, et al. Magnetic resonance imaging demonstrates incomplete myelination in 18q-syndrome: evidence for myelin basic protein haploinsufficiency. *Am J Med Genet* 1997;74:422-31.
 - 9) Dumitrescu AM, Liao XH, Best TB, Brockmann K, Refetoff S. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *Am J Hum Genet* 2004;74:168-75.
 - 10) Vaur-Barriere C, Deville M, Sarret C, et al. Pelizaeus-Merzbacher-Like disease presentation of MCT8 mutated male subjects. *Ann Neurol* 2009;65:114-8.
 - 11) Magen D, Georgopoulos C, Bross P, et al. Mitochondrial hsp60 chaperonopathy causes an autosomal-recessive neurodegenerative disorder linked to brain hypomyelination and leukodystrophy. *Am J Hum Genet* 2008;83:30-42.
 - 12) Sasaki M, Takanashi J, Tada H, Sakuma H, Furushima W, Sato N. Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum. *Brain Dev* 2009;31:582-7.
 - 13) Zara F, Biancheri R, Bruno C, et al. Deficiency of hyccin, a newly identified membrane protein, causes hypomyelination and congenital cataract. *Nat Genet* 2006;38:1111-3.
 - 14) Wolf NI, Harting I, Boltshauser E, et al. Leukoencephalopathy with ataxia, hypodontia, and hypomyelination. *Neurology* 2005;64:1461-4.
 - 15) Inoue K, Tanabe Y, Lupski J. Myelin deficiencies in both the central and peripheral nervous system associated with a *SOX10* mutation. *Ann Neurol* 1999;46:313-8.
 - 16) Inoue K, Khajavi M, Ohyama T, et al. Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet* 2004;36:361-9.

Congenital Cerebral Hypomyelination—Pelizaeus-Merzbacher Disease and Associated Disorders

Ken Inoue, MD, Akiko Iwaki, Kenji Kurosawa, MD, Jun-ichi Takanashi, MD,
Kimiko Deguchi, MD, Toshiyuki Yamamoto, MD and Hitoshi Osaka, MD

Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience,

National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Tokyo (KI, KD) ;

Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, Fukuoka (AI) ;

Departments of Genetics (KK) and Neurology (HO), Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Kanagawa ;

Division of Pediatrics, Kameda Medical Center, Kamogawa, Chiba (JT) ;

Institute for Integrated Medical Sciences, Tokyo Women's Medical University, Tokyo (TY)

Congenital cerebral hypomyelination includes a group of genetic disorders, such as Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD), and is characterized by hypomyelination of the cerebral white matter. Until recently, no classification system was available for congenital hypomyelination disorders that are clinically and genetically excluded for PMD. However, the establishment of new disease entities with gene discoveries has generated a clinical need for a new classification and diagnostic criteria for this group of disorders. Here, we review the recent findings on congenital cerebral hypomyelination, which includes 11 diseases, with a novel disease classification and diagnostic criteria with flow charts.

No To Hattatsu 2011;43:435-42

Mutations in *POLR3A* and *POLR3B* Encoding RNA Polymerase III Subunits Cause an Autosomal-Recessive Hypomyelinating Leukoencephalopathy

Hiroto Saitsu,^{1,*} Hitoshi Osaka,² Masayuki Sasaki,³ Jun-ichi Takanashi,⁴ Keisuke Hamada,⁵ Akio Yamashita,⁶ Hidehiro Shibayama,⁷ Masaaki Shiina,⁵ Yukiko Kondo,¹ Kiyomi Nishiyama,¹ Yoshinori Tsurusaki,¹ Noriko Miyake,¹ Hiroshi Doi,¹ Kazuhiro Ogata,⁵ Ken Inoue,⁸ and Naomichi Matsumoto^{1,*}

Congenital hypomyelinating disorders are a heterogeneous group of inherited leukoencephalopathies characterized by abnormal myelin formation. We have recently reported a hypomyelinating syndrome characterized by diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum (HCAHC). We performed whole-exome sequencing of three unrelated individuals with HCAHC and identified compound heterozygous mutations in *POLR3B* in two individuals. The mutations include a nonsense mutation, a splice-site mutation, and two missense mutations at evolutionally conserved amino acids. Using reverse transcription-PCR and sequencing, we demonstrated that the splice-site mutation caused deletion of exon 18 from *POLR3B* mRNA and that the transcript harboring the nonsense mutation underwent nonsense-mediated mRNA decay. We also identified compound heterozygous missense mutations in *POLR3A* in the remaining individual. *POLR3A* and *POLR3B* encode the largest and second largest subunits of RNA Polymerase III (Pol III), RPC1 and RPC2, respectively. RPC1 and RPC2 together form the active center of the polymerase and contribute to the catalytic activity of the polymerase. Pol III is involved in the transcription of small noncoding RNAs, such as 5S ribosomal RNA and all transfer RNAs (tRNA). We hypothesize that perturbation of Pol III target transcription, especially of tRNAs, could be a common pathological mechanism underlying *POLR3A* and *POLR3B* mutations.

Congenital hypomyelinating disorders form a heterogeneous group of central nervous system leukoencephalopathies that is characterized by abnormal myelin formation. Although these conditions are readily recognized by brain magnetic resonance imaging (MRI), many cases are not diagnosed correctly.¹ Several syndromes affecting myelination, such as hypomyelination with hypodontia and hypogonadotropic hypogonadism (4H) syndrome (MIM 612440) and hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) (MIM 612438), have been described.^{2–5} We have recently reported a hypomyelinating syndrome characterized by diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum (HCAHC).⁶ Individuals with HCAHC do not show hypodontia or atrophy of the basal ganglia, which are observed in 4H syndrome and H-ABC; however, diffuse hypomyelination, atrophy, or hypoplasia of the cerebellum and corpus callosum are overlapping features of these three syndromes, suggesting that there might be a common underlying pathological mechanism.

Here, we report on four individuals with HCAHC from three unrelated families (Figure 1A; Table 1). Clinical

information and peripheral blood or saliva samples were obtained from the family members after obtaining written informed consent. Experimental protocols were approved by the Institutional Review Board of Yokohama City University. To identify pathogenic mutations, we performed whole-exome sequencing of three probands from three unrelated families (individuals 1, 3, and 4). DNAs were captured with the SureSelect Human All Exon 50Mb Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) and sequenced with one lane per sample on an Illumina GAIIX (Illumina, San Diego, CA) with 108 bp paired-end reads. Image analysis and base calling were performed by sequence control software real-time analysis and CASAVA software v1.7 (Illumina). A total of 90,014,368 (individual 1), 86,942,264 (individual 3), and 92,168,758 (individual 4) paired-end reads were obtained and aligned to the human reference genome sequence (GRCh37/hg19) with MAQ⁷ and NextGENe software v2.00 with sequence condensation by consolidation (SoftGenetics, State College, PA). This approach resulted in more than 88% of target exomes being covered by ten reads or more (see Table S1, available online). Single nucleotide variants (SNVs) were called with MAQ and NextGENe. Small insertions and deletions were

¹Department of Human Genetics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan;

²Division of Neurology, Clinical Research Institute, Kanagawa Children's Medical Center, 2-138-4 Mutsukawa, Minami-ku, Yokohama 232-8555, Japan;

³Department of Child Neurology, National Center of Neurology and Psychiatry, 4-1-1 Ogawahigashi-cho Kodaira, Tokyo 187-8551, Japan; ⁴Department

of Pediatrics, Kameda Medical Center, 929 Higashi-cho, Kamogawa-shi, Chiba 296-8602, Japan; ⁵Department of Biochemistry, Yokohama City University

Graduate School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan; ⁶Department of Molecular Biology, Yokohama City University

Graduate School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan; ⁷Department of Neurology, Kameda Medical Center, 929 Higashi-cho,

Kamogawa-shi, Chiba 296-8602, Japan; ⁸Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, National Center

of Neurology and Psychiatry, 4-1-1 Ogawahigashi-cho Kodaira, Tokyo 187-8551, Japan

*Correspondence: hsaitso@yokohama-cu.ac.jp (H.S.), naomat@yokohama-cu.ac.jp (N.M.)

DOI 10.1016/j.ajhg.2011.10.003. ©2011 by The American Society of Human Genetics. All rights reserved.

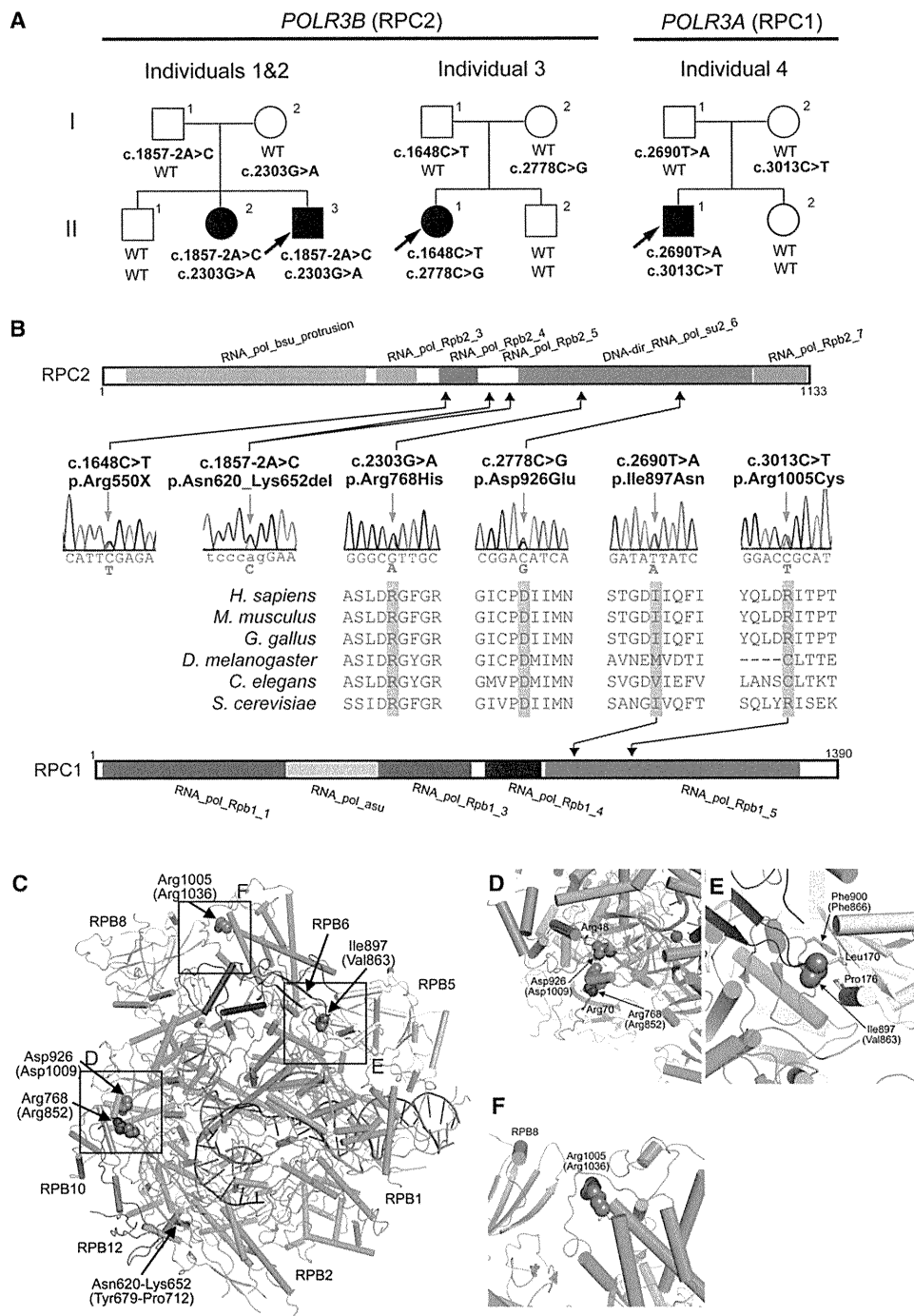


Figure 1. Mutations in *POLR3B* and *POLR3A*

(A) Pedigrees of four kindreds with HCAHC are shown. We identified four mutations in *POLR3B* encoding RPC2 in three individuals from two unrelated families and two mutations in *POLR3A* encoding RPC1 in one family. The segregation of each mutation is shown.

(B) Schematic representation of RPC2 (upper) and RPC1 (lower) proteins with Pfam domains (from Ensembl). Locations of each amino-acid-altering mutation are depicted with electropherograms. All of the missense mutations occurred at evolutionally conserved amino acids. Homologous sequences were aligned with the CLUSTALW website.

(C–F) 3D representations of RPC1 and RPC2 mutations. Mutated amino acids in RPC1 and RPC2 are shown along with their equivalent positions in the homologous RPB1 and RPB2 subunits of RNA Polymerase II (amino acid and its position in parenthesis). The structure and positions of mutations are illustrated by PyMOL with the crystal structure (PDB accession number 3GTP). RPB3, RPB9, and RPB11 subunits, which are specific to RNA Polymerase II, have been omitted from the figure. RPB1 is shown in green, RPB2 in sky blue, RPB5 in yellow, RPB6 in dark blue, RPB8 in pink, RPB10 in orange, RPB12 in purple, DNA in brown, and RNA in red. Amino acids that interact with mutated amino acids are also shown.

Table 1. Clinical Features of the Individuals

Clinical Features	Individual 1	Individual 2	Individual 3	Individual 4
Genes	<i>POLR3B</i>	<i>POLR3B</i>	<i>POLR3B</i>	<i>POLR3A</i>
Mutations, DNA	c.1857-2A>C, c.2303G>A	c.1857-2A>C, c.2303G>A	c.1648C>T, c.2778C>G	c.2690T>A, c.3013C>T
Mutations, protein	p.Asn620_Lys652del, p.Arg768His	p.Asn620_Lys652del, p.Arg768His	p.Arg550X, p.Asp926Glu	p.Ile897Asn, p.Arg1005Cys
Gender	M	F	F	M
Current age (years)	27	30	16	17
Intellectual disability	mild	mild	moderate	mild
Cognitive regression	-	-	-	-
Seizures	-	-	-	-
Initial motor development	normal	normal	normal	normal
Age of onset (years)	3	3	2	4
Motor deterioration	-	-	-	+
Wheelchair use	-	-	-	+
Optic atrophy	-	-	-	-
Myopia	+	+	-	+
Nystagmus	+	+	-	-
Abnormal pursuit	+	+	+	-
Vertical gaze limitation	+	+	+	-
Dysphagia	-	-	+	-
Hypersalivation	-	-	-	-
Cerebellar signs	+	+	+	+
Tremor	-	+	+	+
Babinski reflex	-	-	-	-
Spasticity	-	-	mild	-
Peripheral nerve involvement	-	-	-	-
Nerve biopsy	NA	NA	NA	NA
Hypodontia	-	-	-	-
Hypogonadism	+	+	-	-

NA is an abbreviation for not available.

detected with NextGENe. Called SNVs were annotated with SeattleSeq Annotation.

We adopted a prioritization scheme to identify the pathogenic mutation in each individual, similar to the approach taken by recent studies (Table S2).⁸⁻¹⁰ First, we excluded the variants registered in the dbSNP131 or 1000 Genome Project from all the detected variants. Then, SNVs commonly detected by MAQ and NextGENe analyses were selected as highly confident variants; 364 to 374 SNVs of nonsynonymous (NS) or canonical splice-site (SP) changes, along with 113 to 124 small insertions or deletions (indels), were identified per individual. We also excluded variants found in our 55 in-house exomes, which are derived from 12 healthy individuals and 43 individuals with unrelated diseases, reducing the number

of candidate variants to ~250 per individual. Assuming that HCAHC is an autosomal-recessive disorder based on two affected individuals in one pedigree (individuals 1 and 2), we focused on rare heterozygous variants that are not registered in the dbSNP or in our in-house 55 exomes.

We surveyed all genes in each individual for two or more NS, SP, or indel variants. We found three to eight candidate genes per individual (Table S2). Among them, only *POLR3B* encoding RPC2, the second largest subunit of RNA Polymerase III (Pol III), was common in two individuals (individuals 1 and 3). The inheritance of the variants in *POLR3B* (transcript variant 1, NM_018082.5) was examined by Sanger sequencing. In individual 1, we confirmed that a canonical splice-site mutation (c.1857-2A>C [p.Asn620_Lys652del]), 2 bp upstream of exon 18, was

inherited from his father, and that a missense mutation (c.2303G>A [p.Arg768His]) in exon 21 were inherited from his mother (Figure 1A). The two mutations were also present in an affected elder sister (individual 2) but not present in a healthy elder brother. In individual 3, we confirmed that a nonsense mutation (c.1648C>T [p.Arg550X]) in exon 16 was inherited from her father and that a missense mutation (c.2778C>G [p.Asp926Glu]) in exon 24 was inherited from her mother (Figure 1A). The two mutations were not present in a healthy younger brother. To examine the mutational effects of c.1857-2A>C and c.1648C>T, reverse transcription PCR and sequencing with total RNA extracted from lymphoblastoid cells derived from the individuals was performed as previously described.¹¹ We demonstrated that the c.1857-2A>C mutation caused deletion of exon 18 from the *POLR3B* mRNA (Figures 2A–2C), resulting in an in-frame 33 amino acid deletion (p.Asn620_Lys652del) from RPC2 (Figure 1B). In addition, the mutated transcript harboring the nonsense mutation (c.1648C>T) was found to be expressed at a much lower level compared with the wild-type transcript (Figure 2D). The expression level of the mutated transcript was increased after treatment with 30 μ M cycloheximide (CHX),¹¹ which inhibits nonsense-mediated mRNA decay (NMD), indicating that the mutant transcript underwent NMD (Figure 2D). The two missense mutations (p.Arg768His and p.Asp926Glu) found in the three individuals occurred at evolutionary conserved amino acids (Figure 1B). Among the other candidate genes in individuals 1 and 3, *MSLN* (MIM 601051), encoding mesothelin isoform 1 preproprotein that is cleaved into megakaryocyte potentiating factor and mesothelin, is a potential candidate in the family of individual 1 as its homozygous variant segregated with the phenotype; however, it is expressed in epithelial mesotheliomas, and the mutation affects less conserved amino acid (Table S3). The other candidate genes' variants did not cosegregate with the phenotype. Thus, mutations in *POLR3B* are most likely to cause HCAHC in two families.

In individual 4, in whom no *POLR3B* mutations were found, there were six candidate genes for an autosomal-recessive model. Among them, *POLR3A* (MIM 614258, GenBank accession number NM_007055.3), harboring two missense mutations, appeared to be a primary candidate because it encodes the largest subunit of Pol III (RPC1) (Figure 1A and Table S2). By Sanger sequencing, we confirmed that a missense mutation (c.2690T>A [p.Ile897Asn]) in exon 20 was inherited from his father and that another missense mutation (c.3013C>T [p.Arg1005Cys]) in exon 23 was inherited from his mother (Figure 1A). The two mutations were not present in a healthy younger sister. The two missense mutations (p.Ile897Asn and p.Arg1005Cys) occurred at relatively conserved amino acids (Figure 1B). In total, we found four mutations in *POLR3B* and two mutations in *POLR3A*. Evaluation of the missense mutations by PolyPhen-2 program showed that three mutations (p.Arg768His,

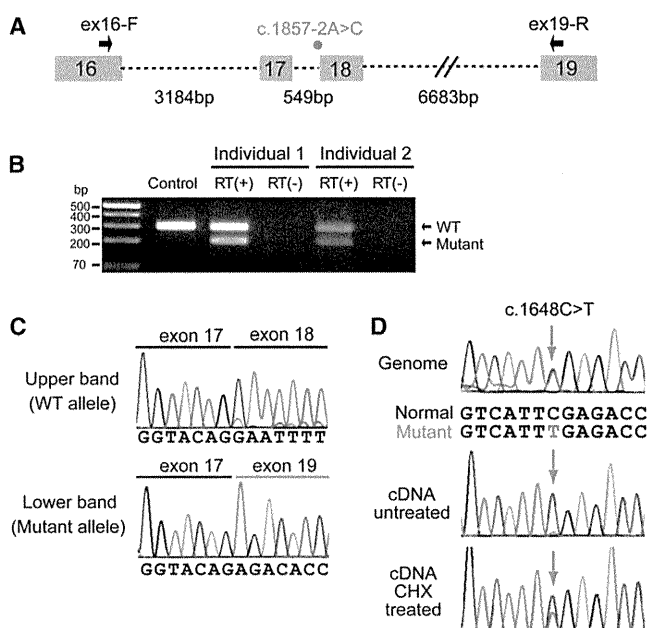


Figure 2. Effects of Splice-Site and Nonsense Mutations in *POLR3B*

(A) Schematic representation of the genomic structure of *POLR3B* from exon 16 to 19. Exons, introns, and primers are shown by boxes, dashed lines, and arrows, respectively. The mutation in intron 17 is depicted as a red dot.

(B) RT-PCR analysis of individuals 1 and 2 with c.1857-2A>C and a normal control. Two PCR products were detected from the individual's cDNA: the upper band is the wild-type (WT) transcript, and the lower band is the mutant. Only a single wild-type amplicon was detected in the control.

(C) Sequence of WT and mutant amplicons clearly showed exon 18 skipping in the mutant allele.

(D) Analysis of the c.1648C>T mutation. Sequence of PCR products amplified with genomic (upper), cDNA from untreated cells (middle), and cDNA from CHX treated cells (lower) as a template. Although untreated cells show extremely low levels of c.1648C>T mutant allele expression, cells treated to inhibit NMD show significantly increased levels of mutant allele expression.

p.Asp926Glu, and p.Ile897Asn) were probably damaging and that p.Arg1005Cys is tolerable. The c.2303G>A mutation (*POLR3B*) was found in one allele out of 540 Japanese control chromosomes. The remaining five mutations were not detected in 540 Japanese control chromosomes, indicating that the mutations are very rare in the Japanese population. Among the other candidate genes in individuals 4, *IGSF10*, a member of immunoglobulin superfamily, is a potential candidate because its variants segregated with the phenotype (Table S3); however, considering a close relationship between *POLR3A* and *POLR3B*, and the fact that *POLR3A* mutations have been recently reported in hypomyelinating leukodystrophy (see below),¹² *POLR3A* abnormality is the most plausible culprit for HCAHC in individual 4.

The structure of Pol III^{13,14} and Pol II^{15,16} is highly homologous, especially in the largest subunits. Thus, we extrapolated the mutations of RPC1 or RPC2 onto the structure of yeast Pol II (Protein Data Bank [PDB] accession number 3GTP)¹⁷ (Figure 1C). RPB1 and RPB2 subunits of

yeast Pol II are homologous to RPC1 and RPC2 of Pol III, respectively. Asn620_Lys652 in RPC2 corresponds to Tyr679_Lys712 in RPB2. The deletion of Asn620_Lys652 (Tyr679_Lys712) would destroy a structural core of RPB2, leading to loss of RPB2 function. In addition, Arg768 (Arg852 in RPB2) interacts with the main-chain carbonyl group of Arg70 of the RPB12 subunit, and Asp926 (Asp1009 in RPB2) interacts with the side chain of Arg48 of the RPB10 subunit of Pol II (Figure 1D). Arg768His (Arg852His) and Asp926Glu (Asp1009Glu) substitutions are considered to disturb these subunit interactions, leading to dysfunction of the polymerase. Therefore, structural prediction suggests that the mutations in *POLR3B* (RPC2) could affect Pol III function. On the other hand, Ile897 and Arg1005 in RPC1 correspond to Val863 and Arg1036 in RPB1, respectively. Ile897 (Val863) has hydrophobic interactions with Leu170 and Pro176 of the RPB5 subunit and with Phe900 (Phe866) of the RPB1 subunit of Pol II (Figure 1E). Ile897Asn (Val863Asn) substitution is likely to disturb this interaction. Arg1005 (Arg1036) stabilizes interaction between RPB1 and RPB8 subunits (Figure 1F). The Arg1005Cys (Arg1036Cys) substitution appears to make this interaction unstable. Thus mutations in *POLR3A* are also predicted to affect Pol III function.

Clinical features of individuals with *POLR3A* or *POLR3B* mutations are presented in Table 1. MRI revealed high-intensity areas in the white matter in T2-weighted images, cerebellar atrophy, and a hypoplastic corpus callosum in all four individuals (Figure 3). Individuals 1 and 2 showed an extremely similar clinical course. They developed normally during their early infancy, i.e., walking unaided at 15 and 14 months, and uttering a few words at 12 and 13 months, respectively. After the age of 3, individual 1 presented with unstable walking and frequent stumbling and falling down, and individual 2 became poor at exercise. They both had severe myopia (corrected visual acuity of 0.7 and 0.5 at most, respectively). They graduated from elementary, junior high, and high schools with poor records, and the intelligence quotient (IQ) of individual 2 was 52 (WAIS-III). In individual 1, unstable walking was prominent at around 18 years, and he could not ride a bicycle because of ataxia; however, he could drive an automobile. Amenorrhea was noted in individual 2, and was successfully treated by hormone therapy. Individual 1 showed several signs of hypogonadism, including absence of underarm and mustache hair, thin pubic hair (Tanner II), and serum levels of testosterone, follicle stimulating hormone, and luteinizing hormone that were below normal for age 27. Neurological examination of both individuals revealed mild horizontal nystagmus, slowing of smooth-pursuit eye movement, and gaze limitation, especially in vertical gazing, hypotonia, mildly exaggerated deep-tendon reflex (patellar and Achilles tendon reflex) with negative Babinski reflex, and cerebellar signs and symptoms, including ataxic speech, wide-based ataxic gait, dysdiadochokinesis, and dysmetria. Clinical information for individual 3 has been reported previously.⁶ Addi-

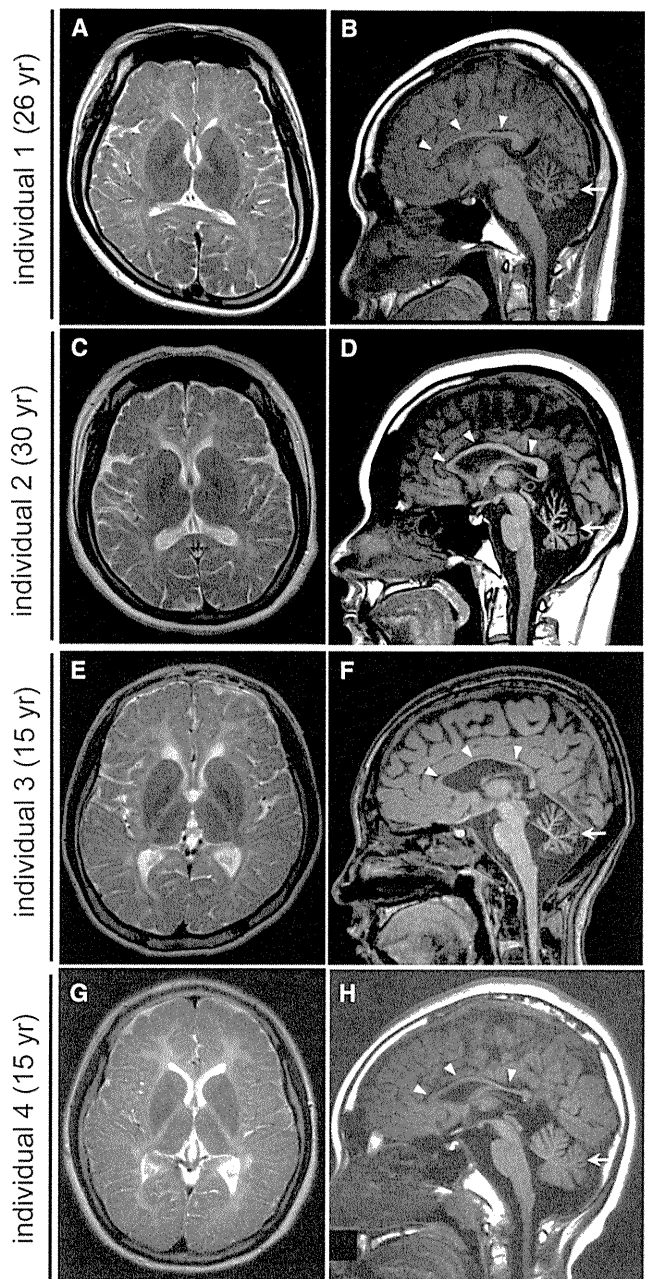


Figure 3. Brain MRI of Individuals with *POLR3B* and *POLR3A* Mutations

(A, C, E, and G) T2-weighted axial images through the basal ganglia. High-intensity areas in the white matter were observed in all individuals.

(B, D, F, and H) T1-weighted midline sagittal images. All the individuals showed hypoplastic corpus callosum (arrowheads) and atrophy of cerebellum (arrows).

tional findings are as follows: slowing of smooth-pursuit eye movement, gaze limitation in vertical gazing, normal auditory brain responses (ABR), cerebral symptoms with mild spasticity, and intellectual disability (an IQ of 43 according to the WISC-III test), and no myopia but hypermetropic astigmatism. She showed no deterioration besides a mild dysphagia and walks herself to a school for the disabled. Individual 4 developed normally during his

early infancy, had normal head control at 3 months, was speaking a few words at 12 months, and was walking unaided at 14 months. His parents noted mild tremors around 4 years. He had normal stature, weight, and head circumference. Although he had severe myopia, his eye movement was smooth with no limitation or nystagmus. He had sensory neuronal deafness on the left side. He showed normal muscle tone and had no spasticity or rigidity. His tendon reflexes were slightly elevated with a negative Babinski reflex. Cerebellar signs were noted; expressive ataxic explosive speech, intension tremor, poor finger to nose test, dysdiadochokinesis, dysmetria, and wide-based ataxic gait. His intelligence quotient was 57 (according to the WISC-III test). His peripheral nerve conduction velocity was within the normal range and his ABR showed normal responses on the right side. He suffered motor deterioration around age 14 and became wheelchair bound.

In this study, we successfully identified compound heterozygous mutations in *POLR3A* and *POLR3B* in individuals with HCAHC. Very recently, Bernard et al.¹² reported that *POLR3A* mutations cause three overlapping leukodystrophies, including 4H syndrome, suggesting that HCAHC is, at least in part, within a wide clinical spectrum caused by *POLR3A* mutations. The p.Arg1005Cys mutation was shared between individual 9 in their report and our individual 4. All 19 individuals with *POLR3A* mutations showed progressive upper motor neuron dysfunction and cognitive regression. In addition, individual 9 showed abnormal eye movement, hypodontia, and hypogonadism. None of these features were recognized in our individual 4; these differences further support phenotypic variability of *POLR3A* mutations.¹² Given the phenotypic similarities among 4H syndrome, HCAHC, and H-ABC, there is a possibility that H-ABC is also allelic and caused by recessive mutations in either *POLR3A* or *POLR3B*.

Pol III consists of 17 subunits and is involved in the transcription of small noncoding RNAs, such as 5S ribosomal RNA (rRNA), U6 small nuclear RNA (snRNA), 7SL RNA, RNase P, RNase MRP, short interspersed nuclear elements (SINEs), and all transfer RNAs (tRNAs). Pol III-transcribed genes are classified into three types based on promoter elements and transcription factors. 5S rRNA is a solo type I gene. Type II genes include tRNA, 7SL RNA, and SINEs. Type III genes include U6 snRNA, RNase P, and RNase MRP.^{18–20} The Pol III system is important for cell growth in yeast, and its transcription is tightly regulated during the cell cycle.²⁰ In zebrafish, *polr3b* mutant larvae that have a deletion of 41 conserved amino acids (Δ 239–279) from the Rpc2 protein showed a proliferation deficit in multiple tissues, including intestine, endocrine pancreas, liver, retina and terminal branchial arches.²¹ In the mutants, the expression levels of tRNA were significantly reduced, whereas the level of 5S rRNA expression was not changed, suggesting that this *polr3b* mutation can differentially affect Pol III target promoters.²¹ RPC2

contributes to the catalytic activity of the polymerase and forms the active center of the polymerase together with the largest subunit, RPC1.²² Thus, it is reasonable to consider that mutations in *POLR3A* and *POLR3B* cause overlapping phenotypes. Indeed, three individuals with *POLR3B* mutations showed diffuse cerebral hypomyelination, atrophy of the cerebellum and corpus callosum, and abnormal eye movements that overlap with *POLR3A* abnormalities.¹² Furthermore, two out of three individuals showed hypogonadism, suggesting a common pathological mechanism between *POLR3A* and *POLR3B* mutations. In the zebrafish *polr3b* mutants there were no defects of the central nervous system other than a reduced size of the retina, probably reflecting species differences; however, the reduced level of tRNA in the *polr3b* mutants raises the possibility that defects of tRNA transcription by Pol III could be a common pathological mechanism underlying *POLR3A* and *POLR3B* mutations. Supporting this idea, mutations in two genes involved in aminoacylation activity of tRNA synthetase cause defects of myelination in central nervous system: *DARS2* (MIM 610956) and *AIMP* (MIM 603605).^{23,24} In addition, mutations in four genes encoding aminoacyl-tRNA synthetase cause Charcot-Marie-Tooth disease (MIM 613641, 613287, 601472, and 608323), resulting from demyelination of peripheral nerve axons: *KARS* (MIM 601421), *GARS* (MIM 600287), *YARS* (MIM 603623), and *AARS* (MIM 601065).^{25–28} Thus, it is very likely that regulation of tRNA expression is essential for development and maintenance of myelination in both central and peripheral nervous systems.

An interesting clinical feature of *POLR3B* mutations is the absence of motor deterioration. All three individuals with *POLR3B* mutations could walk without support at ages 16, 27, and 30, whereas individual 3 with *POLR3A* mutations had motor deterioration around age 14. Bernard et al.¹² also reported progressive upper motor neuron dysfunction and cognitive regression in individuals with *POLR3A* mutations. Thus, there is a possibility that phenotypes caused by *POLR3A* mutations could be more severe and progressive than *POLR3B* mutant phenotypes. Identification of a greater number of cases with *POLR3B* mutations is required to confirm this hypothesis.

In conclusion, our data, together with that of a previous report,¹² demonstrate that mutations in Pol III subunits cause overlapping autosomal-recessive hypomyelinating disorders. Establishment of an animal model will facilitate our understanding of the pathophysiology of the multiple defects caused by Pol III mutations.

Supplemental Data

Supplemental Data include three tables and can be found with this article online at <http://www.cell.com/AJHG/>.

Acknowledgments

We would like to thank all the individuals and their families for their participation in this study. This work was supported by

research grants from the Ministry of Health, Labour, and Welfare (H.S., H.O., M.S., J.T., N. Miyake, K.I. and N. Matsumoto), the Japan Science and Technology Agency (N. Matsumoto), a Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas (Foundation of Synapse and Neurocircuit Pathology) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (N. Matsumoto), a Grant-in-Aid for Scientific Research from Japan Society for the Promotion of Science (H.O., N. Matsumoto), a Grant-in-Aid for Young Scientist from Japan Society for the Promotion of Science (H.S.). This work has been done at Advanced Medical Research Center, Yokohama City University.

Received: August 31, 2011

Revised: October 5, 2011

Accepted: October 10, 2011

Published online: October 27, 2011

Web Resources

The URLs for data presented herein are as follows:

ClustalW, <http://www.genome.jp/tools/clustalw/>
dbSNP, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>
Ensembl, <http://uswest.ensembl.org/index.html>
GenBank, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>
Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.omim.org>
PolyPhen-2, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>
Protein Data Bank, <http://www.pdb.org/pdb/home/home.do>
PyMOL, <http://www.pymol.org/>
SeattleSeq Annotation, <http://gvs.gs.washington.edu/SeattleSeqAnnotation/>

References

- Schiffmann, R., and van der Knaap, M.S. (2009). Invited article: an MRI-based approach to the diagnosis of white matter disorders. *Neurology* 72, 750–759.
- Timmons, M., Tsokos, M., Asab, M.A., Seminara, S.B., Zirzow, G.C., Kaneski, C.R., Heiss, J.D., van der Knaap, M.S., Vanier, M.T., Schiffmann, R., and Wong, K. (2006). Peripheral and central hypomyelination with hypogonadotropic hypogonadism and hypodontia. *Neurology* 67, 2066–2069.
- Wolf, N.I., Harting, I., Boltshauser, E., Wiegand, G., Koch, M.J., Schmitt-Mechelke, T., Martin, E., Zschocke, J., Uhlenberg, B., Hoffmann, G.F., et al. (2005). Leukoencephalopathy with ataxia, hypodontia, and hypomyelination. *Neurology* 64, 1461–1464.
- Wolf, N.I., Harting, I., Innes, A.M., Patzer, S., Zeitler, P., Schneider, A., Wolff, A., Baier, K., Zschocke, J., Ebinger, F., et al. (2007). Ataxia, delayed dentition and hypomyelination: a novel leukoencephalopathy. *Neuropediatrics* 38, 64–70.
- van der Knaap, M.S., Naidu, S., Pouwels, P.J., Bonavita, S., van Coster, R., Lagae, L., Sperner, J., Surtees, R., Schiffmann, R., and Valk, J. (2002). New syndrome characterized by hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 23, 1466–1474.
- Sasaki, M., Takahashi, J., Tada, H., Sakuma, H., Furushima, W., and Sato, N. (2009). Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum. *Brain Dev.* 31, 582–587.
- Li, H., Ruan, J., and Durbin, R. (2008). Mapping short DNA sequencing reads and calling variants using mapping quality scores. *Genome Res.* 18, 1851–1858.
- Doi, H., Yoshida, K., Yasuda, T., Fukuda, Y., Morita, H., Ikeda, S., Kato, R., Tsurusaki, Y., Miyake, N., et al. (2011). Exome sequencing reveals a homozygous *SYT14* mutation in adult-onset, autosomal-recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation. *Am. J. Hum. Genet.* 89, 320–327.
- Pierce, S.B., Walsh, T., Chisholm, K.M., Lee, M.K., Thornton, A.M., Fiumara, A., Opitz, J.M., Levy-Lahad, E., Klevit, R.E., and King, M.C. (2010). Mutations in the DBP-deficiency protein *HSD17B4* cause ovarian dysgenesis, hearing loss, and ataxia of Perrault Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 87, 282–288.
- Gilissen, C., Arts, H.H., Hoischen, A., Spruijt, L., Mans, D.A., Arts, P., van Lier, B., Steehouwer, M., van Reeuwijk, J., Kant, S.G., et al. (2010). Exome sequencing identifies *WDR35* variants involved in Sensesbrenner syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 87, 418–423.
- Saitu, H., Kato, M., Okada, I., Orii, K.E., Higuchi, T., Hoshino, H., Kubota, M., Arai, H., Tagawa, T., Kimura, S., et al. (2010). *STXBP1* mutations in early infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst pattern. *Epilepsia* 51, 2397–2405.
- Bernard, G., Chouery, E., Putorti, M.L., Tetreault, M., Takano-hashii, A., Carosso, G., Clement, I., Boespflug-Tanguy, O., Rodriguez, D., Delague, V., et al. (2011). Mutations of *POLR3A* Encoding a Catalytic Subunit of RNA Polymerase Pol III Cause a Recessive Hypomyelinating Leukodystrophy. *Am. J. Hum. Genet.* 89, 415–423.
- Jasiak, A.J., Armache, K.J., Martens, B., Jansen, R.P., and Cramer, P. (2006). Structural biology of RNA polymerase III: subcomplex C17/25 X-ray structure and 11 subunit enzyme model. *Mol. Cell* 23, 71–81.
- Fernández-Tornero, C., Böttcher, B., Riva, M., Carles, C., Steuerwald, U., Ruigrok, R.W., Sentenac, A., Müller, C.W., and Schoehn, G. (2007). Insights into transcription initiation and termination from the electron microscopy structure of yeast RNA polymerase III. *Mol. Cell* 25, 813–823.
- Cramer, P., Bushnell, D.A., and Kornberg, R.D. (2001). Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 angstrom resolution. *Science* 292, 1863–1876.
- Gnatt, A.L., Cramer, P., Fu, J., Bushnell, D.A., and Kornberg, R.D. (2001). Structural basis of transcription: an RNA polymerase II elongation complex at 3.3 Å resolution. *Science* 292, 1876–1882.
- Wang, D., Bushnell, D.A., Huang, X., Westover, K.D., Levitt, M., and Kornberg, R.D. (2009). Structural basis of transcription: backtracked RNA polymerase II at 3.4 angstrom resolution. *Science* 324, 1203–1206.
- Oler, A.J., Alla, R.K., Roberts, D.N., Wong, A., Hollenhorst, P.C., Chandler, K.J., Cassiday, P.A., Nelson, C.A., Hagedorn, C.H., Graves, B.J., and Cairns, B.R. (2010). Human RNA polymerase III transcriptomes and relationships to Pol II promoter chromatin and enhancer-binding factors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17, 620–628.
- Dieci, G., Fiorino, G., Castelnuovo, M., Teichmann, M., and Pagano, A. (2007). The expanding RNA polymerase III transcriptome. *Trends Genet.* 23, 614–622.
- Dumay-Odelot, H., Durrieu-Gaillard, S., Da Silva, D., Roeder, R.G., and Teichmann, M. (2010). Cell growth- and differentiation-dependent regulation of RNA polymerase III transcription. *Cell Cycle* 9, 3687–3699.

21. Yee, N.S., Gong, W., Huang, Y., Lorent, K., Dolan, A.C., Maraia, R.J., and Pack, M. (2007). Mutation of RNA Pol III subunit *rpc2/polr3b* Leads to Deficiency of Subunit Rpc11 and disrupts zebrafish digestive development. *PLoS Biol.* 5, e312.
22. Werner, M., Thuriaux, P., and Soutourina, J. (2009). Structure-function analysis of RNA polymerases I and III. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 19, 740–745.
23. Scheper, G.C., van der Klok, T., van Andel, R.J., van Berkel, C.G., Sissler, M., Smet, J., Muravina, T.I., Serkov, S.V., Uziel, G., Bugiani, M., et al. (2007). Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation. *Nat. Genet.* 39, 534–539.
24. Feinstein, M., Markus, B., Noyman, I., Shalev, H., Flusser, H., Shelef, I., Liani-Leibson, K., Shorer, Z., Cohen, I., Khateeb, S., et al. (2010). Pelizaeus-Merzbacher-like disease caused by AIMP1/p43 homozygous mutation. *Am. J. Hum. Genet.* 87, 820–828.
25. Latour, P., Thauvin-Robinet, C., Baudalet-Méry, C., Soichot, P., Cusin, V., Faivre, L., Locatelli, M.C., Mayençon, M., Sarcey, A., Broussolle, E., et al. (2010). A major determinant for binding and aminoacylation of tRNA(Ala) in cytoplasmic Alanyl-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Am. J. Hum. Genet.* 86, 77–82.
26. McLaughlin, H.M., Sakaguchi, R., Liu, C., Igarashi, T., Pehlivan, D., Chu, K., Iyer, R., Cruz, P., Cherukuri, P.F., Hansen, N.F., et al. (2010). Compound heterozygosity for loss-of-function lysyl-tRNA synthetase mutations in a patient with peripheral neuropathy. *Am. J. Hum. Genet.* 87, 560–566.
27. Antonellis, A., Ellsworth, R.E., Sambuughin, N., Puls, I., Abel, A., Lee-Lin, S.Q., Jordanova, A., Kremensky, I., Christodoulou, K., Middleton, L.T., et al. (2003). Glycyl tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Am. J. Hum. Genet.* 72, 1293–1299.
28. Jordanova, A., Irobi, J., Thomas, F.P., Van Dijck, P., Meerschaert, K., Dewil, M., Dierick, I., Jacobs, A., De Vriendt, E., Guergueltcheva, V., et al. (2006). Disrupted function and axonal distribution of mutant tyrosyl-tRNA synthetase in dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nat. Genet.* 38, 197–202.