

201128200A

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

Pantothenate kinase-associated
neurodegeneration(PKAN) の
診断基準作成と実態調査に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長谷川 一子

平成24年3月

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

Pantothenate kinase-associated
neurodegeneration(PKAN) の
診断基準作成と実態調査に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長谷川 一子

平成24年3月

目次

I. 総括研究報告書

総括研究報告書	研究代表者 長谷川一子	1
	国立病院機構相模原病院 神経内科	

II. 分担研究報告書

分担研究報告書	研究分担者 舟塚 真	9
	東京女子医科大学 小児神経科	
分担研究報告書	研究分担者 豊島 至	11
	国立病院機構あきた病院 神経内科	
分担研究報告書	研究分担者 一瀬 宏	13
	東京工業大学大学院生命理工学研究科	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別冊・関連論文

Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)

Hallervorden-spatz 病

Hallervorden-spatz 病 (パントテン酸キナーゼ関連神経変性症)

I. 総括研究報告書

Pantothenate kinase-associated neurodegeneration(PKAN)の 診断基準作成と実態調査に関する研究

研究代表者 長谷川 一子 独立行政法人国立病院機構相模原病院神経内科医長
・電子顕微鏡室室長

研究要旨

Pantothenate kinase-associated neurodegeneration（以下 PKAN）はジストニア，コレア・アテトーシス，歩行障害を主徴とする緩徐進行性の錐体外路症状と球麻痺症状，知的機能低下を主徴とし，多くは幼児期に発症する常染色体性劣性遺伝様式を示す希少難病である．近年，MR-imaging で大脳基底核に鉄が沈着する Neurodegeneration with brain iron accumulation(以下 NBIA)の一つとして捉えられるようになった．神経病理学的には大脳基底核を主体に鉄の沈着が確認され，同部位に spheroids がみられる．NBIA の大多数を占めるのが PKAN で，PANK2 遺伝子に遺伝子異常が見られる．PKAN の有病率は人種差が大きく，我が国ではその存在が疑問視されていた．本研究では PKAN の遺伝子診断システムを構築すると共に，診断指針の策定を行った．遺伝子診断は患者自身もしくは法で定められた後見人が希望した場合には，遺伝子診断の指針に基づいて行うこととした．この後，PKAN の有病率を含む疫学調査を神経学会教育施設，準教育施設，神経病理学会評議委員，神経放射線医，小児神経学会専門医を対象として質問紙法により実施した．疫学調査により，NBIA と診断された症例は 61 名，遺伝子診断は 11 例で施行であった．症例の多くは精神発達遅滞とジストニアを示し，全介助の状態にあった．

研究分担者氏名・所属機関名・職名

- ・一瀬宏 東京工業大学大学院生命理工学研究科・生化学 教授
- ・豊島至 独立行政法人国立病院機構あきた病院 副院長
- ・舟塚真 東京女子医科大学小児神経 講師

A.研究目的

Pantothenate kinase-associated neurodegeneration（以下 PKAN）は Hallervorden-Spatz 病とかつて呼称されていた．本疾患はジストニア，コレア・アテトーシス，歩行障害を主徴とする緩徐進行性の錐体外路症状と球麻痺症状，知的機能低下を来す疾患で，多くは幼児期に発症

し，遺伝様式は常染色体性劣性遺伝を示す．アッシュケナジ系ユダヤ人でやや頻度が高く，我が国では希少難病の一つと考えられている．本疾患が一疾患単位とされるに至ったのはドイツの神経学者である Hallervorden と Spatz の功績が大であるが，ナチスの優生断種法および安楽死政策 Euthanasie に荷担した咎により Hallervorden-Spatz 病としての呼称に疑義が申し立てられたことにより，また，発症病理の観点から本疾患が Pantothenate kinase の異常に関連していることが明らかになったことから PKAN と呼称されるようになった．

20 世紀後半に至るまで，確定診断は病理学的所見のみで行われていたが，遺伝子診断が可能となったこと，また，MR 画像が各地で撮像できる様

になったことにより、本疾患に特異的な所見である eye-of-the-tiger 徴候が同定される頻度が高くなり、診断率が上昇していると思われる。さらに、このMR画像で大脳基底核に鉄が沈着する疾患群は PKAN のみではないことも明らかになり、大脳基底核に鉄が沈着する疾患群を総称して Neurodegeneration with brain iron accumulation (以下 NBIA)として捉えるようになった。これらの疾患はいずれも、神経病理学的に大脳基底核を主体に鉄の沈着が確認され、同部に axonal spheroids が認められる。NBIA の大多数を占めるのが PKAN で、NBIA type1 と呼ばれ、PANK2 遺伝子に遺伝子異常がある。NBIA に属する多くの疾患は NBIA type2 が infantile neuroaxonal dystrophy, type3 が neuroferritinopathy, type4 が aceruloplasminemia, type5 が fatty acid hydroxylase associated neurodegeneration である。本研究の主たる対象である PKAN では、先に述べたように有病率に人種差が大きく、我が国ではその存在が疑問視されていた。本研究の目的は我が国に於ける NBIA の頻度、特に PKAN の頻度を初年度に調査し、その後遺伝子検査での確定診断の可能性を模索すること、ひろく NBIA 症例の治療状況などについて調査することとしている。

B.研究方法

PKAN および NBIA の診断指針の作成については Pub Med による検索を主体に行った。検索用語は Hallervorden-Spatz 病および症候群、NBIAs, PKAN である。これらを下に診断指針を別紙1のような簡略版とともに詳細版を作成した。詳細版は冊子体である「ジストニア 2012」に収録した。

遺伝子診断システムについては検体の流れを如何にするかを先ず、解決した。他の研究班である AGS 班の遺伝子検査検体の動線をそのまま利用し、遺伝子診断希望者が班員および班長にコン

タクトをとった後、それぞれの施設での遺伝子診断指針を遵守した上で、当方に個人情報なしの検体を SRL 社で DNA 化した後、班長の施設に搬送。班長は一瀬班員に DNA 検体を送付することとした。検索結果については一瀬班員から班長および、依頼医師に送付することとした。遺伝子診断の範囲は報告されているもののみならず、網羅的に行うこととしている。また、遺伝子診断を行う範囲については患者自身もしくは法で定められた後見人が希望した場合にのみ、遺伝子関連の学会の診断指針および神経学会の遺伝子診断の指針を遵守して行うこととした。これらを確定後、質問紙に遺伝子解析のご希望のある場合とし別紙3のような案内を行った。

疫学調査については PKAN を含む NBIA 全体についても同時に行うこととし、対象を神経学会教育施設、準教育施設、教育関連施設の責任者、神経病理学会評議委員、神経放射線医、小児神経学会専門医とした。方法は質問紙法により実施した。質問紙は別紙2のとおりである。なお、質問紙の他に可能な場合には個人情報を除いた病歴サマリー添付して頂いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立病院機構相模原病院および東京工業大学の倫理委員会の承認のもとに行った。CSF 採取に当たっては、書面による本人の同意を得て行った。

C.研究結果

NBIA と診断された症例は 61 名、遺伝子診断は 11 例で施行済みであった。神経病理学会評議委員からは 6 症例の報告があり、atypical PKAN が 5 症例、neuroferritinopathy が 1 例であった。神経放射線医からは 4 症例の報告が 1 医師からあり、classical PKAN 1 例、atypical PKAN 1 例、neuroferritinosis 1 例、aceruloplasminemia 1 例であった。神経学会認定施設からの報告は 23 症例あり atypical PKAN 2 例、neuroferritinosis 1 例で、圧倒的に aceruloplasminemia が 11 例と

多かった。その他の9症例は病型分類不能例であった。一方、小児神経専門医に対する調査では classical PKAN が10例、atypical が3例で、そのうち遺伝子診断での確定例が5症例であった。その他は INAD が5例、FAHN 疑いが2症例、病型分類未法令が4症例であった。神経病理学会評議員や神経放射線医でなく小児神経専門医、神経学会の認定施設で関わっている症例が多く報告されており、症例に対してのケアがなされているものと理解できる。

症例の多くは小児神経医が把握している症例以外では20歳前後での発症者が多く、罹病期間は様々であった。小児期発症者では精神発達遅滞、成人後の発症では認知障害を示し、運動症状としてはほぼ全例で痙性四肢麻痺とジストニアを示し、言語障害を認めている。ADL はほぼ全例で全介助の状態にあった。合併症として特記すべきものは特になかった。

治療については小児期発症の PKAN について両側淡蒼球内接刺激療法が13例中4例に、同部位の凝固術が1例で施行されていた。ジストニアや痙性四肢麻痺に伴う疼痛の緩和にこれらの治療法は一部有効であるとされた。

D. 考察

NBIA に関する疫学調査を行ったところ、神経病理医や神経放射線医よりも神経小児専門医、神経学会認定施設で把握している症例が多く認められた。このことは NBIA 症例が臨床医により何らかの治療的介入を受けていることを示していると考えられる。特に小児期発症の症例に対する脳深部刺激療法の施行などは小児神経医、脳神経外科医が治療介入により患者の疼痛を軽減するなどの誠意を示しているといえる。

NBIA の内訳からは小児期発症例では PKAN, INAD が多く、成人発症の場合には neuroferritinopathy や aceruloplasminemia の頻度が高いことが示された。PKAN の成人発症例は諸外国と同様に atypical PKAN が多く、また、

一部の症例には INAD が含まれていることに留意する必要がある。今後、パーキンソン病およびジストニア関連の遺伝子の解明が進むにつれ、NBIA を来す疾患群にこれらの遺伝子が関連してくる可能性も有り、NBIA に対する関心が持続することも望まれる。

E. 結論

我が国に於ける NBIA と認定された症例は61例であった。小児期発症例の多くは classical PKAN, 成人発症の場合は aceruloplasminemia が多かった。回答率が低く不完全な疫学調査であったが、我が国に於ける NBIA 症例は100人内外と思われる。

F. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

1. 長谷川一子：Neurodegeneration with brain iron accumulation(NBIA). ジストニア 中外医学社 2012 pp136-149,2012

2. 学会発表

舟塚真, 伊藤康, 塩田睦記, 大澤真紀子：小児神経学会専門医に対する Pantothenate kinase-associated neurodegeneration(PKAN)関連疾患の実態調査. 平成24年度小児神経学会総会(演題提出)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究奨励分野 研究対象 疾患概要

【疾患名】	Pantothenate kinase-associated neurodegeneration(PKAN)
【患者数】	100人以下
【概要】	進行性のジストニアを主体とする錐体外路症状と知的機能低下を主症状とする神経変性疾患で、常染色体劣性遺伝様式を示す。神経病理学的には大脳基底核の鉄の沈着が示され、これがMRIで見られるPKANの特徴的所見であるeye of the tiger徴候となる。典型例の発症年齢は10歳未満で、全経過は15年程度である。
【原因の解明】	Pantothenate kinase 2: PANK2の遺伝子変異; 小欠失、ミスセンス、ノンセンス変異を示す。
【主な症状】	錐体外路症状としてジストニア、コレア・アテトーシスを認める。病状が進行すると四肢の変形を来し、錐体路徴候も明らかとなる。知的機能は退行を示し、最終的には全介助の状態となる。
【主な合併症】	進行期に網膜色素変性症を合併する頻度が高い。
【主な治療法】	特異的治療法はない。
【研究班】	Pantothenate kinase-associated neurodegeneration(PKAN)の診断基準作成と実態調査に関する研究

留意事項

患者数欄には年間発生数や発生率等ではなく、国内の推定患者数(人)を記入してください。
研究班欄には研究課題名の末尾に「班」や「研究班」をつけて記入してください。

別紙 1. Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN)と関連疾患の概要

	疾患	遺伝様式	遺伝子	発症年齢	臨床症状	MRI 所見
NBIA1	Classical PKAN	AR	<i>PANK2</i>	<6 歳	歩行障害, ジストニア, 痙直, 網膜色素変性症	Eye-of-the tiger” sign 淡蒼球と黒質への鉄沈着
	Atypical PKAN	AR	<i>PANK2</i>	平均 14 歳 (1-28 歳)	言語障害 (錯語, 構語障害), ジストニア, 痙直, 認知障害, 精神症状	Eye-of-the tiger sign 淡蒼球と黒質への鉄沈着
NBIA2a	Classical INAD	AR	<i>PLA2G6</i>	平均 1 歳 (0.5-2.5 歳)	精神・運動発達遅滞, 体幹低緊張, ジストニア, 痙直, 小脳失調, てんかん	淡蒼球と黒質に限局した鉄沈着 小脳萎縮
NBIA2b	Atypical INAD	AR	<i>PLA2G6</i>	平均 4.4 歳 (1.5-6.5 歳)	社会的退行, 失調, 言語発達遅滞	淡蒼球と黒質に限局した鉄沈着 小脳萎縮
NBIA3	Neuroferritinopathy	AR	<i>FTL</i>	平均 39 歳 (13-63 歳)	認知障害なし, 舞踏運動, ジストニア	基底核, 小脳, 大脳皮質への鉄沈着 被殻と尾状核の空胞化
NBIA4	aceruloplasminemia	AR	<i>CP</i>	平均 51 歳 (16-72 歳)	認知症, 網膜病変, 小脳失調	基底核, 小脳, 大脳皮質への鉄沈着
	FAHN	AR	<i>FA2H</i>	3-11 歳	精神発達遅滞, ジストニア, 錐体路障害, 失調, 眼症状 (視神経萎縮, 眼球運動障害), てんかん	淡蒼球への鉄沈着 大脳萎縮, 小脳, 脳幹萎縮

NBIA1: Neurodegeneration brain iron accumulation,

PKAN: pantothenate kinase associated neurodegeneration,

PANK2: pantothenate kinase 2,

PLA2G6: Phospholipase A2 group 6,

INAD: infantile neuroaxonal dystrophy,

FTL: ferritin light chain

CP: ceruloplasmin,

FAHN: fatty acid hydroxylase associated neurodegeneration

別紙2. Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN)患者調査票

(患者様1名につき1部としてください。多数症例がございましたらお手数ですが、コピーをお願いします)

- なお、可能でしたら病歴サマリーなどの添付をよろしくお願いたします。 -

1 カテゴリー (どれかにチェックしてください。)

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Classical PKAN | <input type="checkbox"/> Atypical PKAN |
| <input type="checkbox"/> Classical INAD | <input type="checkbox"/> Atypical INAD |
| <input type="checkbox"/> Neuroferritinopathy | <input type="checkbox"/> Aceruloplasminemia |
| <input type="checkbox"/> FAHN | <input type="checkbox"/> 上記のどれかではあるが特定できていない |

2 症例の属性

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> 男 | <input type="checkbox"/> 女 |
| <input type="checkbox"/> 生存中：年齢 () | <input type="checkbox"/> 死亡：年齢 () |
| <input type="checkbox"/> 過去 (年前) に診療した
発症年齢 () 歳 | <input type="checkbox"/> 現在, 診療中
観察期間 () 年 |

3 家族性発症

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> あり | (<input type="checkbox"/> 同胞のみ <input type="checkbox"/> それ以外; 具体的にお書きください) |
| <input type="checkbox"/> 遺伝子変異が証明されている: | 具体的にお書きください () |
| <input type="checkbox"/> なし | |

4 神経所見

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> 精神発達遅滞がある | <input type="checkbox"/> ジストニアを認める |
| <input type="checkbox"/> 痙直がある | <input type="checkbox"/> 言語障害がある |
| <input type="checkbox"/> 小脳失調がある | <input type="checkbox"/> てんかん発作がある |
| <input type="checkbox"/> 全介助である | <input type="checkbox"/> その他 () |

5 画像所見

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> MRI、もしくはCTで異常がある | <input type="checkbox"/> eye-of-the-tiger 徴候がみられる |
| <input type="checkbox"/> 鉄沈着がある: 部位 () | |
| <input type="checkbox"/> 小脳萎縮がある | |
| <input type="checkbox"/> その他 () | |

6 合併症

- | |
|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> 網膜色素変性症 |
| <input type="checkbox"/> その他 () |

アンケートにご協力ありがとうございました。

アンケート用紙は同封いたしました返信用封筒で郵送、もしくはFAX(042-742-8311)で返送をお願いいたします。

ご協力いただきました先生の住所・氏名、ご連絡先をお願いいたします。

住所
氏名
電話もしくはE-mail

(別紙3)

遺伝子診断・遺伝子解析のご希望がございましたら、下記に従ってご連絡をお願いします。

－ 遺伝子診断および検体送付システムについて－

1. 遺伝子診断・遺伝子解析のご希望がある場合には一瀬もしくは長谷川にご連絡ください。
メールアドレスは hichinos@bio.titech.ac.jp
k-hasegawa@sagamihara-hosp.gr.jp です。
2. 遺伝子診断・遺伝子解析のご要望のご連絡の前に、あらかじめ貴病院もしくは貴医院で
ご使用の遺伝子診断・遺伝子解析用の同意書を用いて、患者様またはご家族から遺伝子
診断・遺伝子解析研究に関する書面による同意を得ていただくことを原則としておりま
す。
3. もし遺伝子診断・遺伝子解析用の同意書がない場合にはご相談ください。
4. 患者様が死亡されているが、ご家族が診断を希望されている場合にもご相談ください。
5. 遺伝子解析の場合にはご家族（特に両親もしくは祖父母、発症が疑われる同胞）からの
採血なども検査させていただけると有用であることが多くみられます。ご家族からの採
血が可能かどうかのご連絡もいただけると幸いです。
6. ご連絡をいただいた場合、当方から貴施設の SRL の地区担当に連絡をいたします。SRL
の担当者が試料の受け取り、DNA の抽出などを行い、当方に移送します。
7. 採血は全血で EDTA 管（7ml 1 本、可能であれば 2 本）をお願いします。SRL 担当者が採
血当日に受け取りに参ることができない場合には、凍結（貴施設の冷凍庫）に保存して
いただければ問題ございません。
8. 遺伝子診断などに付随いたします個人情報につきましては、個人情報および遺伝子など
に関する倫理規定を遵守いたしますが、お手数ですが貴院から SRL にご依頼される際に
暗号化（例：緑区-1 など）していただけると幸いです。
9. 速やかに遺伝子診断などを行う予定ですが、ご不明の点につきましては一瀬まで
ご連絡くだされば、対応させていただきます。

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN) の
診断基準作成と実態調査に関する研究

舟塚 真 東京女子医科大学 小児科

研究要旨

本邦 PKAN の実態を明らかにするため、日本小児神経学専門医を対象にアンケート調査を実施した。PKAN の難治な病態が伺われ、遺伝子異常と臨床像に明らかな相関は認められなかった。

A. 研究目的

Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (以下 PKAN) はジストニアなど不随意運動を主症状とする、常染色体性劣性遺伝の希少難病である。本疾患および関連疾患の疫学調査はこれまでされていない。他学会での調査と連携することにより、本邦での同疾患の実態が明らかにできる。

B. 研究方法

全国の日本小児神経学専門医 1026 人を対象にアンケート調査を実施し、PKAN 関連疾患の診療歴の有無、病型、症例の属性、家族性発症、神経所見、画像所見、合併症などを調査した。

(倫理面への配慮)

調査にあたっては、主任研究者所属施設倫理委員会の審査を受けた。

C. 研究結果

152 人から回答があり (回答率 14.8%)、内

20 人に診療歴があった (13.2%)。PKAN 総数は 13 例 (典型例 10 例、非典型例 3 例) で遺伝子診断例が 5 例あったが、hot spot は認めなかった。関連疾患は 11 例で、infantile neuroaxonal dystrophy 5 例、fatty acid hydroxylase associated neurodegeneration (以下 FAHN) 疑い 2 例、その他 4 例であった。PKAN 4 例で両側淡蒼球内節刺激療法が、同 1 例で同部位凝固術が施行されていた。家族性発症は、PKAN で 2 家系、FAHN 疑いで 1 家系であった。頭部 MRI での eye-of-the-tiger 徴候は、PKAN 典型例の 1 例 (7 歳時) では確認できなかった。

D. 考察

回答率が低く、実態調査としては十分ではないが、同時に施行された他学会での調査と合わせて、実態をより明らかにすることは可能と思われる。PKAN では約 4 割で脳外科的治療が施されており、難治な病態が伺われた。遺伝子異常と臨床像に明らかな相関は認められなかった。

E. 結論

本研究により、本邦 PKAN の実態の一部を明らかにできた。

F. 研究発表

口 頭 発 表 1 件

原著論文による発表 0 件

それ以外（レビュー等）の発表 0 件

そのうち主なもの

学会発表

第 54 回日本小児神経学会総会（札幌）2012
年で発表予定

G. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)の疫学調査結果：

神経学会教育施設・教育関連施設・准教育施設を対象として

豊島 至 国立病院機構あきた病院神経内科

長谷川一子 国立病院機構相模原病院神経内科

研究要旨

Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA) の有病率を推定するため神経学会の関連施設に郵送アンケートで調査した。その結果 NBIA は 23 人の経験があり本邦全体では最大 100 人程度であることが明らかになった。

A. 研究目的

Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)は、遺伝性疾患で脳内に鉄沈着が起こり重篤な錐体外路障害を中心とした神経症状をしめす希少性神経難病である。これまで本邦での有病率は検討されることがなかったので全校調査を行った。本班員は成人を対象とし、神経学会の関連施設について検討した。

B. 研究方法

734 施設に調査依頼書を送付し調査した。

(倫理面への配慮)

国立病院機構相模原病院で疫学調査の倫理審査を受けた。

C. 研究結果

その結果 NBIA は 23 人の経験があり 10 名が aceruloplasminemia、2 名が PKAN、1 名が neuroferritinopathy で他は未特定であった。

PKAN は長崎 1 症例は詳細不明女性。静岡 1 症例は 26 歳生存中。変異:PNAK2 c.1583G>A, p.T528M 発症は 10 歳で、ジストニア、痙縮、言語障害がある。画像では Eye-of-the tiger sign があり、淡蒼球に鉄沈着がみられた。

Neuroferritinopathy の 1 例は長野の症例で発症 51 歳、変異:FTL1 exon4 4 塩基重複で、ジストニア、言語障害、口舌ジスキネジア、嚥下障害があり、画像で鉄沈着を認めた。

Aceruloplasminemia は 10 症例で、発症:14-68 歳、変異:2602delG(homo)、607Ains、1286TACACins、intron17accepter 変異であった。症状は精神遅滞(1)、認知症(4)、ジストニア(8)、言語障害(8)、小脳失調(6)、口舌ジ

スキネジア(1)、しかめ顔(1)、パーキンソン
症状(1)、全介助(2)で 画像は鉄沈着(7)、小
脳萎縮(4)であった。

未特定例は 10 症例であった。

D. 考察

今回の全調査集計結果としては、調査依頼
数； 1196 施設、NBIA の経験：全体で 33 人で
あった。内訳は Classical PKAN： 1 人、
Atypical PKAN： 8 人、Classical INAD：0 人、
atypical INAD： 1 人、Neuroferritinopathy：
2 人、Aceruloplasminemia： 11 人、FAHN： 0
人、上記のどれかであるが特定できない： 10
人であった。

E. 結論

今後の予定として、非定型 PKAN の症例検討、
PKAN の遺伝子変異の検討、未同定例における
症例検討、未同定例における遺伝子変異の検
出、遺伝子変異の病態発現メカニズムの検討
などがあげられる。

F. 研究発表

口頭発表	0 件
原著論文による発表	0 件
それ以外（レビュー等）の発表	0 件

G. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

PKAN 遺伝子診断に関する研究

一瀬 宏 東京工業大学大学院生命理工学研究科
長谷川 一子 国立病院機構相模原病院神経内科

研究要旨

遺伝子解析の承諾が得られた PKAN 疑い患者について、PKAN 原因遺伝子の解析を行った。これまでに、5 例の症例について問い合わせがあった。解析した 1 例の PKAN 疑い患者に PLA2G6 遺伝子の 3' 非翻訳領域の 5 塩基欠失をみつけた。また、1 例の無セルロプラスミン血症の患者において、セルロプラスミン遺伝子の変異を検索したが、タンパク質コード領域にアミノ酸置換を伴うような変異を見つけることはできなかった。今後さらに継続して PKAN 原因遺伝子の遺伝子解析を進めていく。

A. 研究目的

脳内の鉄沈着は、パーキンソン病やハンチントン病、フリードライヒ失調症など多くの神経変性疾患に共通にみられる特徴の一つである。PKAN (Pantothenate kinase-associated neurodegeneration) は、NBIA (Neurodegeneration with brain iron accumulation) と呼ばれ、脳内（特に大脳基底核）に特徴的な鉄の沈着が認められる一群の神経変性疾患である。遺伝学的には、複数の原因遺伝子が同定されており、臨床症状にも違いがある。PANK2 遺伝子、PLA2G6 遺伝子、セルロプラスミン遺伝子、フェリチン遺伝子、FA2H 遺伝子の変異が NBIA 原因遺伝子として報告されている。

最近 Hartig らにより新たな原因遺伝子が同定された [Am J Hum Genet 89, 543-550 (2011)]。彼らは、上記 PKAN 原因遺伝子に遺伝子変異がみつからない NBIA 患者に対して Homozygosity

Mapping の手法を用いて責任遺伝子の染色体位置を決め、その染色体部位にある候補遺伝子の遺伝子変異を検索することにより、C19orf12 遺伝子が NBIA の原因遺伝子であることを突き止めた。この遺伝子に変異がみつかった患者は、PANK2 遺伝子変異による NBIA 患者と比較すると、精神症状や網膜色素変性症、視神経萎縮などの症状は共通であるが、発症年齢は遅く、進行が遅い傾向を示した。また、C19orf12 の遺伝子変異が確認された剖検脳では、レビー小体、神経原線維変化、軸索スフェロイドなど他の NBIA 患者と同様の病理学的所見を示した。C19orf12 遺伝子産物の機能は明らかとなっていないが、ミトコンドリアに局在することが示されており、PANK2 遺伝子と共通の遺伝子変性機構があると考えられる。

当研究班で行われた PKAN (NBIA) 患者の実態調査へのアンケートから明らかになった患者の

中で、遺伝子解析の同意が得られた患者について遺伝子変異の検索を行った。

B. 研究方法

PKAN (NBIA) に関する全国調査の中で、PKAN であると診断され遺伝子解析の同意が得られた症例について、同意書を取得した後に遺伝子解析を実施した。臨床症状や画像データ、生化学的検査結果から想定される原因遺伝子について、患者ゲノム DNA からエキソン領域を PCR で増幅し、PCR 産物の塩基配列をダイレクト・シーケンシング法により解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析の実施に際しては、患者主治医の所属する医療機関、国立病院機構相模原病院、および、東京工業大学において、ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針に則った倫理委員会の審査による研究実施の認可を受け、ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針に則って研究を実施した。

C. 研究結果

これまでに、5 症例について遺伝子検査に関する問い合わせを受け、2 例について遺伝子解析を実施した。

1 例は無セルロプラスミン血症を呈した兄弟例である。生化学的にセルロプラスミンがないことが確認されていたため、セルロプラスミン遺伝子のエキソンを 16 対のプライマーペアを作製して遺伝子解析した。しかし、セルロプラスミン遺伝子の全タンパク質コード領域に変異を見つけることはできなかった。今回用いた方法は PCR による各エキソンの増幅であるため、患者がエキソンをまたぐような欠失をヘテロに有している場合には検出ができない可能性がある。

また、遺伝子発現制御領域の変異の可能性もあり、患者がどのような変異を有していることにより発症しているのかについては、さらなる解析が必要である。

別の 1 例は、atypical PKAN が臨床症状や画像データから推定されたので、PANK2 および PLA2G6 遺伝子について解析した。その結果、PLA2G6 遺伝子の片側アリルに 3' 非翻訳領域の 5 塩基欠失があることをみつけた。3' 非翻訳領域であるため、PLA2G6 タンパク質そのものに影響はないので病気の発症原因となっているかについては、今後さらなる解析が必要である。しかし、3' 非翻訳領域の変異が、mRNA の安定性を変化させる例も知られているので病因性である可能性は残されている。

5 例のうち 1 例は患者が既に死亡していた。患者家族から遺伝子解析の同意を得ることはできたが、ホルマリン溶液中に保存されていた脳組織しかないため、遺伝子解析が困難であった。今後、プレパラート状態の組織切片から DNA を回収して遺伝子解析する予定である。

他の 2 例については、これから患者 DNA が届く予定であるため、届き次第解析を始める。

D. 考察

今回の全国規模の調査を契機として、これまでに 5 例の PKAN 疑い症例について遺伝子解析の問い合わせを受けた。本疾患は直接神経変性機構と結びついており、パーキンソン病を初めとする他の神経変性疾患の病因解明のために重要な疾患であると位置づけられる。今後さらに遺伝子解析を進めて本邦における PKAN 患者がどのような遺伝子変異を有しているかを明らかにし、遺伝子変異から確定診断された患者の臨床症状や画像データをまとめていき、変異遺伝子の種

類や、変異の違いによりどのような病態の違いが生まれるか詳細に検討していく。

E. 結論

PKAN 疑い患者について、変異遺伝子の解析を行い、1例のPKAN疑い患者にPLA2G6遺伝子の3'非翻訳領域の5塩基欠失をみつけた。また、1例の無セルロプラスミン血症の患者において、セルロプラスミン遺伝子の変異を検索したが、タンパク質コード領域にアミノ酸置換を伴うような変異を見つけることはできなかった。

今後さらにPKAN原因遺伝子の遺伝子解析を進めていく。

F. 研究発表

特になし

G. 知的所有権の出願・取得状況

特になし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表