

201231084A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

マリネスコ-シェーグレン症候群におけるシャペロン機能と病態との関連

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 林 由起子

平成25（2013）年 3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

マリネスコ-シェーグレン症候群におけるシャペロン機能と病態との関連

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 林 由起子

平成25（2013）年 3月

目次

I. 総括研究報告

| | |
|-----------------------------------|---|
| マリネスコ-シェーグレン症候群におけるシャペロン機能と病態との関連 | 1 |
|-----------------------------------|---|

林 由起子【(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 室長】

(資料1) マリネスコ-シェーグレン症候群の診断基準

(資料2) Marinesco-Sjögren 症候群が疑われた 36 例のまとめ

II. 分担研究報告

| | |
|--|----|
| 1. 本邦におけるマリネスコ-シェーグレン症候群 (MSS) の臨床医学的特徴の解明 | 11 |
|--|----|

小牧 宏文【(独)国立精神・神経医療研究センター 病院小児神経科 医長】

林 由起子【(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 室長】

後藤 昌英【常陸大宮済生会病院小児科 医員】

清水 玲子【(独)国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナルメディカルセンター
臨床研究支援部 流動研究員】

(Table 1) Clinicopathological and genetic features of MSS suspected patients

(Table 2) Haplotype analysis of *SIL1* gene

| | |
|--------------------------------|----|
| 2. マリネスコ-シェーグレン症候群の疾患モデルメダカの作成 | 19 |
|--------------------------------|----|

大久 敬【(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 流動研究員】

林 由起子【(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 室長】

| | |
|---------------------|----|
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 23 |
|---------------------|----|

| | |
|-----------------|----|
| IV. 研究成果の刊行物・別刷 | 25 |
|-----------------|----|

I. 総括研究報告

「マリネスコ-シェーグレン症候群におけるシャペロン機能と病態との関連」

研究代表者 林 由起子

(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 室長

研究要旨

*SIL1*遺伝子変異を原因とするマリネスコ-シェーグレン症候群は、常染色体劣性の遺伝形式をとる希な疾患である。本研究では、本邦における本疾患の特徴を明らかにすることを目的に、全国アンケート調査結果に基づいた臨床遺伝学的解析を行った。また、病態解明ならびに治療法開発のツールとしてメダカ変異体の作製を試みた。

アンケート調査の結果、36例のマリネスコ-シェーグレン症候群（疑い例も含む）の臨床遺伝学情報を得ることができた。*SIL1*遺伝子変異を同定しえた24例の臨床症状を詳細に分析し、本疾患が乳児期発症であるが、ある程度の発達は認められ、また生命予後が比較的良好なこと、白内障が幼児期に急速に進行することから、早期に発見し、視機能の維持を図ることが重要であることが示唆された。以上の結果から、臨床的特徴に基づいた診断基準の作成を行うとともに、変異の同定されなかった例についても、臨床的には*SIL1*変異同定例と同様で有り、両者の鑑別は困難であった。本疾患の遺伝的多様性や、本邦における創始者変異の存在についても明らかにした。

メダカ変異体スクリーニングにより、エクソン10にストップコドンをもつ *sill1*機能欠損変異系統を樹立した。現在までに、発生から孵化期までに顕著な表現型は認められていないが、経過を追って詳細な表現型の解析等を行っているところである。

研究分担者

小牧 宏文・(独) 国立精神・神経医療研究センター 病院 小児神経科 医長

大久 敬・(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 流動研究員

研究協力者

後藤 昌英・常陸大宮済生会病院 小児科 医員

埜中 征哉・(独) 国立精神・神経医療研究センター 病院 名誉院長

西野 一三・(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 部長

野口 悟・(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 室長

梶野 幸子・(独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部 研究生

清水 玲子・(独) 国立精神・神経医療研究センタートランスレーショナルメディカルセンター 臨床研究支援部流動研究員

A. 研究目的

マリネスコ-シェーグレン症候群は、常染色体劣性遺伝形式をとる希な疾患で、中枢神経系、眼、骨格筋の障害の他、性腺機能低下や低身長、骨格異常など多彩な症状を呈する難治性疾患である。筋病理学的には自己貪食空胞である縁取り空胞の存在を特徴とする。患者数が少ないことから、本邦における発症頻度や臨床的問題点、疾患自然歴など明らかでない点が多い。

マリネスコ-シェーグレン症候群の原因遺伝子 *SIL1* は *SIL1* という小胞体シャペロン分子である BiP (HSPA5) の ATP-ADP 交換因子として働くタンパク質をコードしていることから、小胞体におけるタンパク質の再折りたたみ (refolding) に関っていると考えられている。

今年度、本研究では、これまでに実施した全国アンケート調査の結果を詳細に分析し、本邦におけるマリネスコ-シェーグレン症候群の自然経過、臨床医学上の問題点を明らかにすることを目的とするともにメダカの疾患モデルの作製・解析を行った。

B. 研究方法

昨年度の本研究において、小児神経専門医・神経内科専門医および専門医療機関を対象にマリネスコ-シェーグレン症候群の診療経験を問う一次・二次アンケート調査を行い、その結果から診断基準を作成した。今年度は、アンケート調査結果を詳細に分析し、併せて *SIL1* 遺伝子解析、ハプロタイプ解析を実施した。

メダカ *sil1* 機能欠損突然変異体を得るため、大阪大学医学系研究科・藤堂研究室との共同研究により、TILLING法を用いて作製した変異体 5760 個体について、メダカ *sil1* 内に変異を持つ個体をスクリーニングした。

(倫理面への配慮)

本研究で用いた全国アンケート調査は、(独) 国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された、個人の特定できない様式を用いて行った。すべての動物実験は、(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所動物実験に関する倫理指針に従い行い、(独) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所動物実験管理委員会ならびに組み換え DNA 実験安全委員会の審査・承認を得ている。

C. 研究結果

アンケート調査の結果、36 名 (男性 17 名、女性 19 名) の患者の臨床情報を得ることができた。同意の得られた 27 例に対して遺伝子解析を実施し、24 例に *SIL1* 変異を同定した。

SIL1 変異の確認された 24 例について臨床症状の特徴を Table 1 にまとめた。調査時の患者年齢は 1~52 才 (中央値 9 才)、男: 女=13:10。白内障は 2~6 才 (中央値 3 才) で全例両側に認められ、かつ急激に増悪しており、全例で手術が施行されていた。斜視も 57% と高頻度に認められた。小脳症状は筋緊張低下 96% (22/23 例) の他、体幹失調を含めた運動失調が多く、67% (14/21 例) に認められた。また、頭部画像所見では全例 (19/19 例) で小脳萎縮が認められ、3 例は虫部に優位であった。一方、精神発達面では 91% (20/22 例) で軽度から重度の精神発達遅滞が認められ、IQ (DQ) は平均 60.2 ± 19.8 であり、多くは特別支援学校に通っていた。有意語は全例獲得しているが、独語を獲得する時期が 1~3 才 (中央値 2 才) と乳児期からの発達の遅れが認められた。筋力低下は 8 歳の患者 1 例でのみ「低下なし」であったが、それ以外の患者ではいずれも近位筋優位あるいは全身性の筋力低下

が認められ、頸定 4~18 か月(中央値 7.8 カ月)、座位 10~36 か月(中央値 1.7 歳)、つかまり立ち獲得 16/20 例(80%) (中央値 2.6 才)、独歩獲得は 6/20 例(35%) (中央値 7 才)であった。血清 CK 値は正常から軽度高値を示し、平均 389 ± 464 (28-2000) IU/l であった。筋病理所見では施行した 16 例全例で縁取り空胞の存在が認められ、本疾患に特徴的な所見であると考えられた。その他の症状として、低身長が 67% (12/18 例) (平均標準偏差-3.6SD) に認められ、脊柱変形 36% (8/22 例)、外反扁平足 32% (7/22 例)、足の変形なども合併していた。本症では 52 才例でも呼吸機能、心機能、嚥下機能は保たれており、生命予後は比較的良好であると考えられた。

SIL1 遺伝子変異は、Exon 9 c.937dupG (p.L313fs) が最も多く、21 例にホモ接合変異を、1 例に Exon 6 c.617_618TC>AA (p.Leu206Gln) と Exon 9 c.937dupG (p.L313fs) の複合ヘテロ接合変異を認めた。また、Exon 4 c.331C>T (p.R111X) のホモ接合変異が 1 例、Exon 6 c.603-607del (p.E201fs) のホモ接合変異が 1 例認められた。遺伝子変異部位と臨床症状との間に明らかな関連は認められなかった。

c.937dupG が本邦の founder mutation である可能性が疑われたため、*SIL1* 遺伝子近傍の 11 か所の SNV を利用し、14 例のハプロタイプ解析を施行した。その結果 1 例を除いて共通のハプロタイプを有していた (Table 2)。

以上の結果をもとにマリネスコ-シェーグレン症候群の診断基準を作製した (別添資料 1)。

マリネスコ-シェーグレン症候群が疑われるも *SIL1* 変異の認められなかった 3 例 (3 才、6 才、29 才いずれも女性) は変異を有する例と同様、小脳症状、精神発達遅滞、白内障、筋力低下 (運動発達遅

滞) を認め、画像上も虫部優位の小脳萎縮が認められた。29 才女性のみ筋生検を施行しているが、筋原性変化はあるが縁取り空胞は認められなかった。

また、遺伝子解析未実施の 9 例も変異同定患者と似た臨床症状を示し、白内障 100%、小脳症状 100%、精神発達遅滞 100%、筋力低下 100%、低身長 38%、何らかの骨格異常 14~43%、斜視 71% が認められ、また小脳萎縮も 100% に認められたが、生検筋の縁取り空胞の存在は生検を施行した 6 例中 2 例であった。全 36 名のマリネスコ-シェーグレン症候群症候群疑い例の臨床症状をまとめた (別添資料 2)。

メダカ *sil1* 突然変異体のスクリーニングを行い、第 2 エクソンの変異体探索の結果、68 番目のロイシンがグルタミンに置換しているミスセンス変異個体を同定した。また第 9、第 10 エクソンの変異体探索の結果、第 10 エクソン内でストップコドンをもつ個体を見出した。ストップコドンを同定した個体由来の精子を用い、人工授精を行い、変異体の発生期~孵化までの表現型を実態顕微鏡下で観察したが、少なくとも孵化までの胚発生および器官形成期においては顕著な表現型の変化は認められなかった。

D. 考察

マリネスコ-シェーグレン症候群の主要徴候である白内障は、3 才頃に発症し、手術が必要になるほど急激に増悪する傾向にあった。小脳症状は全例に出現するが、乳幼児期は筋緊張低下が主であり、運動発達の獲得により徐々に運動失調が表面化してくるものと推測された。画像上からも小脳虫部優位の萎縮が多いことから、体幹・運動失調優位に出現することが多いと考えられる。

SIL1 に変異が認められないにもかかわらず臨床的に鑑別困難な症例も存在したことから、マリネスコ-シェーグレン症候群の遺伝的多様性が示唆されるとともに、マリネスコ-シェーグレン症候群が疑われる症例は *SIL1* 変異スクリーニングを行い、確定診断を行う必要があると考えられた。また骨格筋の縁取り空胞の存在も診断に非常に有用であると考えられる。*SIL1* 変異例 14 例中 13 例が共通のハプロタイプを有しており、c.937dupG は本邦の founder mutation である可能性が示唆された。

一方、モデルメダカの解析では、*sill* ナンセンス変異体は少なくとも孵化までの発生は正常に行われることが明らかとなった。過去に報告されたマウス *Sill* 変異系統 *woozy* においても神経変性等の表現型は生後 3 カ月程度で認められることから、メダカにおける *sill* 欠損による生体への影響も、経過を追って調べていく必要があると考えられる。

E. 結論

SIL1 変異によるマリネスコ-シェーグレン症候群の具体的な臨床像を明らかにし、診断基準を作成した。発症は乳幼児期からと早期であるが、生命予後は比較的保たれていることが明らかとなった。本邦のマリネスコ-シェーグレン症候群には好発変異が存在し、founder effect が示唆された。診断には臨床症状のみならず、遺伝子解析や病理所見が重要であると考えられた。

メダカ *sill* ナンセンス変異体の作製に成功し、解析を進めるとともに、今後の治療法の開発に向けたシャペロン機能を改善する低分子化合物の探索に向けた取り組みを進めていく。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tsuburaya RS, Monma K, Oya Y, Nakayama T, Fukuda T, Sugie H, Hayashi YK, Nonaka I, Nishino I: Acid phosphatase-positive globular inclusions is a good diagnostic marker for two patients with adult-onset Pompe disease lacking disease specific pathology. *Neuromuscul Disord.* 22 (5): 389-393, 2012.

Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I: Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. *Arch Neurol.* 69 (6): 728-732, 2012.

Mori-Yoshimura M, Monma K, Suzuki N, Aoki M, Kumamoto T, Tanaka K, Tomimitsu H, Nakano S, Sonoo M, Shimizu J, Sugie K, Nakamura H, Oya Y, Hayashi YK, Malicdan MC, Noguchi S, Murata M, Nishino I: Heterozygous UDP-GlcNAc 2-epimerase and N-acetylmannosamine kinase domain mutations in the *GNE* gene result in a less severe *GNE* myopathy phenotype compared to homozygous N-acetylmannosamine kinase domain mutations. *J Neurol Sci.* 318 (2012): 100-105, 2012.

Mori-Yoshimura M, Okuma A, Oya Y, Fujimura-Kiyono C, Nakajima H, Matsuura K, Takemura A, Malicdan MC, Hayashi YK, Nonaka I, Murata M, Nishino I: Clinicopathological features of centronuclear myopathy in Japanese

populations harboring mutations in dynamin 2. Clin Neurol Neurosurg. 114(6): 678-683. 2012.

Mori-Yoshimura M, Oya Y, Hayashi YK, Noguchi S, Nishino I, Murata M: Respiratory dysfunction in patients severely affected by GNE myopathy (distal myopathy with rimmed vacuoles). Neuromuscul Disord. 23(1):84-88. 2013.

圓谷理恵：オートファジー関連筋疾患. 神経内科. 75: 176-184, 2011.

林由起子：超希少疾病・筋ジストロフィーの病因・病態解明と治療法開発に向けて. MEDICAMENT NEWS. 第2096号, 8. 15, 2012.

小牧宏文. 小児の診療手技 100. 筋生検 小児科診療. 75, 276-278, 2012.

小牧宏文. 症候・疾患と検査・診断 神経筋疾患の診断 小児神経学の進歩. 41, 69-77, 2012.

2. 学会発表

後藤昌英, 小牧宏文, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 佐々木征行, 岡田麻里, 林由起子, 埜中征哉, 西野一三: 本邦における Marinesco-Sjögren 症候群の実態調査. 第54回日本小児神経学会総会, 札幌. 5. 18, 2012.

Goto M, Okada M, Komaki H, Sugai K, Sasaki M, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I, Hayashi YK. A nationwide survey of Marinesco-Sjögren syndrome in Japan. 17th International Congress of the World Muscle Society. Perth 9-13 October, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (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

マリネスコ-シェーグレン症候群の診断基準 (Marinesco-Shögren syndrome; MSS)

MIM #248800

常染色体劣性遺伝形式あるいは孤発性

遺伝子座：5q31

原因遺伝子 *SIL1* (Gene ID:64374)

診断に有用な特徴

A. 臨床症状

【主要項目】

1. 白内障：幼児期に発症，両側性，急速進行性
2. 精神運動発達遅滞
3. 筋緊張低下
4. 小脳症状：運動失調が目立つ
5. 全身性あるいは近位筋優位の筋力低下

【補助項目】

6. 低身長
7. 骨格異常（脊柱変形，外反扁平足，短趾症）
8. 斜視
9. 性腺機能低下

B. 頭部画像所見：小脳萎縮

C. 筋生検：縁取り空胞の存在

D. 遺伝子検査

SIL1 にホモ接合性または複合ヘテロ接合性変異
(ただし *SIL1* 変異の認められない例もある)

診断カテゴリー

確実例 A（主要項目のうち 3 項目以上）+D をみたすもの

疑い例 A（主要項目のうち 3 項目以上）+B をみたすもの

A（主要項目のうち 3 項目以上）+C をみたすもの

類縁疾患

- Congenital cataracts, facial dysmorphism, and neuropathy (CCFDN)
- Ataxia-microcephaly-cataract syndrome
- Cataract-ataxia-deafness-retardation syndrome
- VLDLR-associated cerebellar hypoplasia
- Familial Danish dementia

Marinesco-Sjögren 症候群が疑われた 36 例のまとめ

| <i>SIL1</i> 変異 | | あり (n=24) | なし (n=3) | 未解析 (n=9) | |
|----------------|----------------|--|----------------------|------------------------|-----------------------|
| ① 眼 | 白内障 | 24/24 (100%) 2歳~6歳 両側性, 急速進行性で手術を要する | 3/3 (100%) | 9/9 (100%) | |
| | 斜視 | 10/18 (56%) | 1/3 (33%) | 5/7 (71%) | |
| ② 運動 | 筋力低下 | 21/22 (95%) 2~52歳 | 3/3 (100%) | 9/9 (100%) | |
| | 発達 | 頸定 | 21/21 (100%) 4~18か月 | 5~8か月 | 4~7か月 |
| | | 座位 | 20/20 (100%) 10~36ヶ月 | 12~18か月 | 12~36か月 |
| | | つかまり立ち | 16/20 (80%) 1~4歳 | 15, 24か月 | 15か月~6歳 |
| | | 介助歩行 | 16/20 (80%) 2~22歳 | 2/2 (100%) 15, 24ヶ月 | 3/3 (100%) 15ヶ月~6歳 |
| 歩行機能喪失 | 5/16 (13~28歳) | | | | |
| ③ 小脳 | 筋緊張低下 | 21/24 (88%) | 3/3 (100%) | 9/9 (100%) | |
| | 運動失調 | 16/24 (67%) 2~52歳 | 2/3 (100%) | 6/8 (75%) | |
| | 眼振 | 11/24 (46%) 2~45歳 | 0/3 | 5/8 (63%) | |
| | 構音障害 | 8/24 (33%) 2~48歳 | 2/3 (67%) | 4/9 (44%) | |
| ④ 精神発達遅滞 | | 20/22 (91%) IQ (DQ) : 24~100 | 3/3 (100%) | 9/9 (100%) | |
| 性腺機能低下 | | 3/8 (38%) | 0/1 | 2/3 (67%) | |
| 骨格系 | 低身長 | 12/18 (67%) (平均-3.6SD) | 1/3 (33%) | 3/8 (38%) | |
| | 脊柱変形 | 8/22 (36%) | 1/3 (33%) | 3/7 (43%) | |
| | 外反扁平足 | 7/22 (32%) | 0/3 | 1/7 (14%) | |
| | 短趾症 | 5/22 (23%) | 0/3 | 2/8 (25%) | |
| 検査 | 血清 CK 値 (IU/L) | 28~2000 | 144~3010 | 95~600 | |
| | 小脳萎縮 | 19/19 (100%) 虫部優位 | 3/3 (100%) | 9/9 (100%) | |
| | 縁取り空胞 | 16/16 (100%) | 0/1 | 2/6 (33%) | |
| | <i>SIL1</i> 変異 | Homozygous c. 937dupG (p. Leu313fs) 21/24 例 (88%) | なし | 未解析 | |

II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「本邦におけるマリネスコ-シェーグレン症候群 (MSS) の臨床医学的特徴の解明」

研究分担者 小牧 宏文 (独) 国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科
医長
研究代表者 林 由起子 (独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
疾病研究第一部 室長
研究協力者 後藤 昌英 常陸大宮済生会病院 小児科医員
研究協力者 清水 玲子 (独) 国立精神・神経医療研究センタートランスレーショ
ナルメディカルセンター臨床研究支援部 流動研究員

研究要旨

SIL1 遺伝子変異を原因とするマリネスコ-シェーグレン症候群は、希な小児遺伝性疾患である。本研究では、本邦におけるマリネスコ-シェーグレン症候群の特徴を明らかにすることを目的に、全国アンケート調査の結果をもとに臨床遺伝学的解析を行った。

その結果、36例のマリネスコ-シェーグレン症候群（疑い例も含む）の臨床遺伝学情報を検討した。*SIL1* 遺伝子変異の確定しえた24例（1～52歳）はいずれも、乳児期から発達の遅れで発症し、小脳萎縮、白内障が全例で認められ、精神発達遅滞が91%、筋力低下95.5%、低身長や骨格変形も高頻度に認められた。*SIL1* 変異部位と臨床症状の関連は認められなかった。ハプロタイプ解析の結果、*SIL1* c. 937dupG 変異は本邦の founder mutation である可能性が示唆された。*SIL1* 変異の認められなかった3例および変異未解析例でも臨床的には極めてよく似た症状を呈しており、臨床症状のみからは *SIL1* 変異の有無を推測することは困難であったが、筋病理所見上の縁取り空胞の存在は、有変異例では全例に認められており、診断上、重要な所見であることが示唆された。

マリネスコ-シェーグレン症候群は、乳児期発症であるが、ある程度の発達は認められ、また生命予後が比較的良いことが明らかとなった。白内障が幼児期に急速に進行することから、早期に発見し、視機能の維持を図ることの重要性が示唆された。

A. 研究目的

マリネスコ-シェーグレン症候群は、小胞体シャペロンタンパク質であるBiPの

ATP-ADP交換因子*SIL1*をコードする遺伝子（*SIL1*）変異による常染色体劣性遺伝形式をとる疾患である。中枢神経系、眼、骨格筋の障害の他、性腺機能低下や低身長、骨格

異常など多彩な症状を呈する難治性疾患である。筋病理学的には自己貪食空胞である縁取り空胞の存在を特徴とする。頻度の少ない疾患であり、本邦における発症頻度や臨床的問題点、疾患自然歴など明らかでない点が多い。

本研究ではこれまでに本研究で実施した全国アンケート調査の結果を詳細に分析し、本邦におけるマリネスコ-シェーグレン症候群の自然経過、臨床医学上の問題点を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

昨年度の研究において、小児神経専門医・神経内科専門医および専門医療機関を対象にマリネスコ-シェーグレン症候群の診療経験を問う一次・二次アンケート調査を行い、その結果から診断基準を作成した。今年度は、アンケート調査結果を詳細に分析し、併せて*SIL1*遺伝子解析、ハプロタイプ解析を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究で用いた全国アンケート調査は、(独)国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された、個人の特定できない様式を用いて行った。

C. 研究結果

一次アンケートでは全国の計 5,452 名の神経内科専門医および小児神経科専門医に郵送した。そのうち 1,875 名 (34.4%) から返信が得られ、37 名のマリネスコ-シェーグレン症候群疑いの患者が把握できた。二次アンケート調査を依頼し 36 名 (男性 17 名、女性 19 名) の患者の臨床情報を得ることができた。同意の得られた 27 例に対して *SIL1* 変異解析を実施し、24 例に *SIL1* 変異を同定した。

SIL1 変異の確認された 24 例について臨床症状の特徴をプロファイリングした (Table 1)。

年齢は 1~52 才 (中央値 9 才)、男:女 =13:10。臨床症状の中核の 1 つである白内障は 2~6 才 (中央値 3 才) で全例両側に認められ、かつ急激に増悪しており、全例で手術が施行されていた。斜視も 57% と高頻度に認められた。小脳症状は筋緊張低下 96% (22/23 例) の他、体幹失調を含めた運動失調が多く、67% (14/21 例) に認められた。また、頭部画像所見では全例 (19/19 例) で小脳萎縮が認められ、3 例は虫部に優位であった。一方、精神発達面では 91% (20/22 例) で軽度から重度の精神発達遅滞が認められ、IQ (DQ) は平均 60.2 ± 19.8 であった。就学状況を見ると、多くは特別支援学校であった。有意語は全例獲得しているが、独語を獲得する時期が 1~3 才 (中央値 2 才) と乳児期からの発達の遅れが認められた。筋力低下は 8 歳の患者 1 例でのみ「低下なし」であったが、それ以外の患者ではいずれも近位筋優位あるいは全身性の筋力低下が認められ、頸定 4~18 か月 (中央値 7.8 か月)、座位 10~36 か月 (中央値 1.7 歳)、つかまり立ち獲得 16/20 例 (80%) (中央値 2.6 才)、独歩獲得は 6/20 例 (35%) (中央値 7 才) であった。血清 CK 値は正常から軽度高値を示し、平均 389 ± 464 (28-2000) IU/l であった。筋病理所見では施行した 16 例全例で縁取り空胞の存在が認められ、本疾患に特徴的な所見であると考えられた。その他の症状として、低身長が 67% (12/18 例) (平均標準偏差 -3.6SD) に認められ、脊柱変形 36% (8/22 例)、外反扁平足 32% (7/22 例)、足の変形なども合併していた。本症では 52 才例でも呼吸機能、心機能、嚥下機能は保たれており、生命予後は比較的良好であると考えられた。

SIL1 遺伝子変異は、Exon 9 c.937dupG

(p. L313fs) が最も多く、21 例にホモ接合変異を、1 例に Exon 6 c. 617_618TC>AA (p. Leu206Gln) と Exon 9 c. 937dupG (p. L313fs) の複合ヘテロ接合変異を認めた。また、Exon 4 c. 331C>T (p. R111X) のホモ接合変異が 1 例、Exon 6 c. 603-607del (p. E201fs) のホモ接合変異が 1 例認められた。遺伝子変異部位と臨床症状との間に明らかな関連は認められなかった。

c. 937dupG が本邦の founder mutation である可能性が疑われたため、*SIL1* 遺伝子近傍の 11 か所の SNP を利用し、14 例のハプロタイプ解析を施行した。その結果 1 例を除いて共通のハプロタイプを有していた (Table 2)。

マリネスコ-シェーグレン症候群が疑われるも *SIL1* 変異の認められなかった 3 例 (3 才、6 才、29 才いずれも女性) は変異を有する例と同様、小脳症状、精神発達遅滞、白内障、筋力低下 (運動発達遅滞) を認め、画像上も虫部優位の小脳萎縮が認められた。29 才女性のみ筋生検を施行しているが、筋原性変化ではあるが縁取り空胞は認められなかった。

また、遺伝子解析未実施の 9 例も変異同定患者と似た臨床症状を示し、白内障 100%、小脳症状 100%、精神発達遅滞 100%、筋力低下 100%、低身長 38%、何らかの骨格異常 14~43%、斜視 71% が認められ、また小脳萎縮も 100% に認められたが、生検筋の縁取り空胞の存在は生検を施行した 6 例中 2 例であった。

D. 考察

マリネスコ-シェーグレン症候群の主要徴候である白内障は、3 才頃に発症し、手術が必要になるほど急激に増悪する傾向にあった。小脳症状は全例に出現するが、乳幼児期は筋緊張低下が主であり、運動発達の獲得により徐々に運動失調が表面化して

くるものと推測された。画像上からも小脳虫部優位の萎縮が多いことから、体幹・運動失調優位に出現することが多いと考えられる。

SIL1 に変異が認められないにもかかわらず臨床的に鑑別困難な症例も存在したことから、マリネスコ-シェーグレン症候群の遺伝的多様性が示唆されるとともに、マリネスコ-シェーグレン症候群が疑われる症例は *SIL1* 変異スクリーニングを行い、確定診断を行う必要があると考えられた。また骨格筋の縁取り空胞の存在も診断に非常に有用であると考えられる。*SIL1* 変異例 14 例中 13 例が共通のハプロタイプを有しており、c. 937dupG は本邦の founder mutation である可能性が示唆された。

E. 結論

SIL1 変異によるマリネスコ-シェーグレン症候群症候群の具体的臨床像を明らかにした。発症は乳幼児期からと早期であるが、生命予後は比較的保たれていることが明らかとなった。本邦のマリネスコ-シェーグレン症候群には好発変異が存在し、founder effect が示唆された。診断には臨床症状のみならず、遺伝子解析や病理所見が重要であると考えられた。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表

小牧宏文. 小児の診療手技 100 筋生検 小児科診療 75, 276-278, 2012.

小牧宏文. 症候・疾患と検査・診断 神経筋疾患の診断 小児神経学の進歩 41, 69-77, 2012.

2. 学会発表

後藤昌英, 小牧宏文, 齋藤貴志, 齋藤義朗,
中川栄二, 須貝研司, 佐々木征行, 岡田麻
里, 林由起子, 埜中征哉, 西野一三: 本邦
における Marinesco-Sjögren 症候群の実態
調査. 第 54 回日本小児神経学会総会, 札幌,
5. 18, 2012.

Goto-M, Okada-M, Komaki-H, Sugai-K,
Sasaki-M, Noguchi-S, Nonaka-I, Ni-
shino-I, Hayashi-YK. A nationwide
survey of Marinesco-Sjögren syndrome
in Japan. 17th International Congress
of the World Muscle Society. Perth
9-13 October, 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (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

Table1. Clinicopathological and genetic features of MSS suspected patients

| Patient | Age (years) | Sex | Nucleotide change | Predicted consequence | Zygoty | Cataracts (years) | Muscle weakness | Walk with support | Cerebellar symptom | Cerebellar atrophy | Mental retardation | Serum CK* | Rimmed vacuole |
|---------|----------------|-----|-----------------------------|--------------------------|----------------|----------------------|--------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|-------------------|
| 1 | 2 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 2 | Y | 2 | h, a, n, s | Y | normal | 407 | Y |
| 2 | 3 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 2.8 | Y | NA | h | Y | DQ 64 | 95 | Y |
| 3 | 3 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | NY | h | Y | DQ 67 | 203 | Y |
| 4 | 3 | F | c.603_607del5 | p.E201fs | homo | Y | Y | NY | h, a | Y | DQ 49 | NA | Y |
| 5 | 4 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 2.5 | Y | NA | h, a | Y | NA | 123 | Y |
| 6 | 4 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 5 | Y | 3.8 | h | Y | decline | 117 | Y |
| 7 | 5 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 2 | Y | 2 | h, a, n, s | Y(vermis) | DQ 60 | 1,000 | Y |
| 8 | 5 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 4.3 | Y | 2.4 | h, a, n | Y | DQ 50 | 281 | ND |
| 9 | 6 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 6 | Y | N | a | NA | normal | 198 | ND |
| 10 | 8 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | Y | Y | NA | h | NA | NA | high | ND |
| 11 | 8 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | N | h | Y | decline | 365 | Y |
| 12 | 11 | M | c.331C>T | p.R111X | homo | Y | Y | Y | h | NA | decline | 2,000 | Y |
| 13 | 12 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | 7 | h, a | Y | decline | 326 | Y |
| 14 | 20 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 6 | Y | 2 | h, a, n, s | Y | IQ 24 | 776 | Y |
| 15 | 23 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 4 | Y | Y | h, a | Y | IQ 57 | 974 | Y |
| 16 | 23 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 2 | Y | 3 | h, a, n, s | Y | decline | 320 | Y |
| 17 | 28 | F | c.937dupG c.617_618TC>AA | p.L313fs p.Leu206Glu | Comp hetero | 3 | Y | 4 | a, n | Y | IQ 60 | NA | ND |

| | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|---|-------------|----------|------|---|---|-----|------------|-----------|---------|-------|----|
| 18 | 30 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | 5 | a, n | Y | IQ 48 | 186 | Y |
| 19 | 42 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | 5 | h, a, n, s | Y(vermis) | decline | 410 | ND |
| 20 | 45 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | Y | Y | Y | h, a, n, s | Y | IQ 60 | 46 | ND |
| 21 | 45 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | 10 | h, n | NA | IQ 50 | 129 | Y |
| 22 | 48 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | Y | Y | NA | h, s | Y | decline | 120 | ND |
| 23 | 52 | F | c.937dupG | p.L313fs | homo | 3 | Y | 10 | h, a | Y | decline | 28 | ND |
| 24 | 52 | M | c.937dupG | p.L313fs | homo | Y | Y | 6 | h, a, n, s | NA | IQ 54 | 67 | Y |
| 25 | 3 | F | no mutation | - | - | 0 | Y | 1.3 | N | Y(vermis) | decline | 371 | ND |
| 26 | 6 | F | no mutation | - | - | 6 | Y | NY | a | Y | DQ 65 | 3,010 | ND |
| 27 | 29 | F | no mutation | - | - | 1 | Y | 2 | a, s | Y(vermis) | IQ 27 | 144 | N |

Homo, homozygous; Comp hetero, compound heterozygous; F, female; M, male; Y, yes; N, no; NA, not available; NY, not yet; Walk with support, (years); h, hypotonia; a, ataxia; n, nystagmus; s, cerebellar speech; DQ, developmental quotient; IQ, intelligence quotient; CK, creatine kinase; *Normal value 51 to 197 U/L,

patient No.1-24 were MSS with *SIL1* mutation; patient No.25-27 had no mutation in *SIL1* gene.

Table2. Haplotype analysis of *SIL1* gene

| SNPs (rs No) | JPT | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 10 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 18 | 20 | 21 |
|------------------------|---------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| rs929775 | G:0.178 | T/G ^b | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | | T |
| rs11748097 | A:0.242 | C/A ^b | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C | C |
| rs10045761 | A:0.145 | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G |
| rs1433008 | C:0.145 | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T |
| rs11958050 | A:0.756 | A/G ^b | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| rs7717375 | A:0.82 | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | | A |
| others | | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G | G |
| c.937dupG ^a | | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG | dupG |
| rs7722413 | C:0.108 | T/C ^b | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T | T |
| rs3763016 | G:0.111 | C/G ^b | C | C | C | C | | C | C | C | C | C | C | | C |
| rs6596456 | A:0.134 | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |
| rs700629 | A:0.136 | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A | A |

Patient No.1-21 : c.937dupG homozygous mutation; JPT, Japanese frequency; ^a homozygous; ^b heterozygous

「マリネスコ-シェーグレン症候群の疾患モデルメダカの作成」

研究分担者 大久 敬 (独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
疾病研究第一部 流動研究員

研究代表者 林 由起子 (独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
疾病研究第一部 室長

研究要旨

マリネスコ-シェーグレン症候群の病態形成機序の解明、治療法の開発に向け、TILLING法によるメダカ*sill*機能欠損突然変異体の確立を試みた。変異体のスクリーニングの結果、第10エクソン内においてナンセンス変異を有する個体を見出した。この個体由来の精子を用いて人工授精を行い、*sill*機能欠損変異系統を樹立した。現在までに、発生から孵化期までに顕著な表現型は認められていないが、経過を追って詳細な表現型の解析等を行い、分子病態を明らかにする必要がある。また現在、シャペロン機能の治療効果のある低分子化合物のスクリーニングに適した条件設定について検討を進めている。

A. 研究目的

マリネスコ-シェーグレン症候群は、小脳失調、精神発達遅滞、先天性白内障、ミオパチーを主症状とする乳幼児期発症のまれな難治性多臓器障害性疾患である。常染色体劣性遺伝形式をとり、その原因遺伝子として *SIL1* が同定されている。 *SIL1* は小胞体シャペロン蛋白質 HSPA5 の ATP-ADP 交換因子として働き、小胞体におけるタンパク質の再折りたたみ (refolding) に関わることが分かっている。しかし、病態に至る詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。本研究では、メダカ *Sill* 機能欠損突然変異体系統を確立することにより、マリネスコ-シェーグレン症候群の分子メカニズムの解明、ならびに治療法の開発に向けたシャペロン機能を改善する低分子化合物の探索を行うことを目的とする。

B. 研究方法

メダカ *Sill* 機能欠損突然変異体を得るための手法として、TILLING法を用いた。TILLING法とは、雄成魚にENU 処理を行い、その後、F1 雄のから採取した精子のゲノム DNA をライブラリー化し、そのDNA を網羅的に解析することでターゲット遺伝子に偶然入った変異を検出し、その個体の精子から変異体を得る手法である。約6,000個体からなる変異体ライブラリーを所有する大阪大学医学系研究科・藤堂研究室との共同研究により、5,760個体について、メダカ *sill* 内に変異を持つ個体をスクリーニングした。具体的には、*sill* 第2エクソンおよび第9、第10エクソンをPCR法にて増幅し、High Resolution Melt (HRM) 法により、変異を有する可能性のある個体を抽出後、シーケンス解析を行い、変異を同定した。変異