

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）
運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究 分担研究報告

常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺の新規原因遺伝子探索

研究協力者 嶋崎晴雄（自治医科大学内科学講座神経内科学部門）
共同研究者 本多純子、直井為任、滑川道人、松浦 徹
（自治医科大学内科学講座神経内科学部門）
石浦浩之、三井 純、後藤 順、辻 省次
（東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学）
吉村 淳、土井晃一郎、森下真一
（東京大学大学院新領域創成科学）
瀧山嘉久（山梨大学医学工学総合研究部神経内科学講座）

研究要旨

純粋型常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺 2 家系（家系 1, 2）の原因遺伝子変異検索を行った。血族婚のある患者と健常者の末梢血 DNA を用いて連鎖解析を行い、家系 1 で 4 つの、家系 2 で 11 の染色体の一部に候補領域を特定した。発端者のエクソーム解析で候補領域内に、家系 1 で遺伝子 A の、家系 2 で遺伝子 B のアミノ酸変化を伴う新規ミスセンス変異をホモ接合体で同定した。各変異は同胞患者にはホモ接合体で存在し、家系内で共分離していた。また、正常コントロールには認められず、原因遺伝子変異である可能性が高いと考えられた。現在、これらが真の病的変異であるか検証するため、モデル動物にて候補遺伝子 A, B の相同遺伝子を破壊し、機能解析が進行中である。

A. 研究目的

遺伝性痙性対麻痺（HSP）は、臨床的に緩徐進行性の両下肢の痙性対麻痺を中核症状とし、その他様々な症状を合併しうる症候群である。現在までの所、その遺伝子座はSPG1～57まで染色体上にマッピングされており、そのうち約40個の原因遺伝子が単離されている。遺伝形式は常染色体優性（AD）遺伝性のは、多くの例で原因遺伝子変異が同定されるが、常染色体劣性（AR）遺伝性は原

因遺伝子やその変異が不明のものが多い。

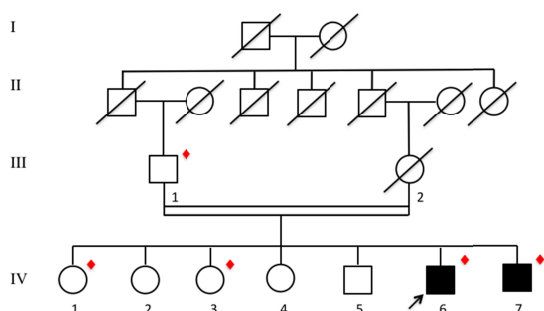
今回我々は、AR遺伝と考えられる、痙性対麻痺のみ呈する純粋型HSP 2家系について、原因遺伝子とその変異同定を試みた。

B. 研究方法

両親が血族婚で、同胞発症者が存在する純粋型 AR-HSP 2 家系（家系 1, 2）について、それぞれの家系で協力が得られた方々の検体を用いて一塩基多型を用

いた連鎖解析を行い、各家系の発症者1名のエクソーム解析を施行した。

A



B

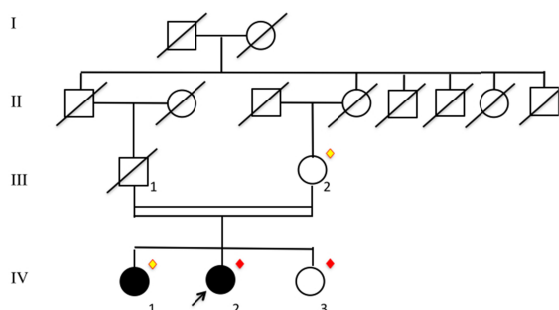


図 1. 家系 1 (A) と家系 2 (B) の家系図。矢印は発端者、点は採血に同意と協力が得られた方々。

(倫理面への配慮)

本研究の遂行にあたり、科学技術会議生命倫理委員会「ヒトゲノム研究に関する基本原則について」、文部科学省・厚生労働省・経済産業省「遺伝子解析に関する倫理問題」を遵守した。

自治医科大学の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する取扱規程」を遵守し、遺伝子解析研究許可申請書と研究計画書を作成し、生命倫理委員会に申請し、認可されている。

ヒト DNA の提供者には、インフォーム

ドコンセントを受ける手続きとして、十分な理解を得られるように文章を用いて説明し、人権および利益の保護の取扱いについても十分に配慮した。

C. 研究結果

家系 1 の発症者の臨床症状を表の A に示す。発症年齢が 42 歳と 2 歳で差があり、下肢の痙性や病的反射は共通だが、IV-7 では ATR 減弱、下腿筋萎縮や MRI で軽度脊髄萎縮を認めた。

家系 2 の発症者の臨床症状を表の B にまとめた。発症年齢が 40 歳代で、下肢の痙性や病的反射陽性、下腿筋萎縮は共通だが、IV-2 では下肢振動覚低下や MRI で軽度脊髄萎縮を認めた。尚、IV-1 は 7 年前に脳出血を合併した。

A

	IV-6	IV-7
診察時年齢	54 歳	52 歳
発症	42 歳頃	2 歳頃
下肢腱反射	亢進	PTR 亢進, ATR 減弱
Babinski 反射	陽性	陽性
下腿筋萎縮	なし	あり
感覚障害	軽度下肢低下	明らかなものなし
頭部・脊髄 MRI	異常なし	軽度脊髄萎縮

B

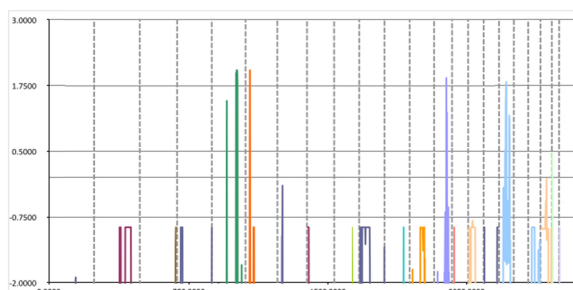
	IV-1	IV-2
診察時年齢	64 歳	61 歳
発症	40 歳頃	42 歳頃
下肢腱反射	亢進	亢進
Babinski 反射	陽性	陽性
下腿筋萎縮	あり	あり
感覚障害	明らかなものなし	下肢振動覚低下
頭部・脊髄 MRI	脳 CT: 陳旧性脳出血	脳: 異常なし 脊髄: 軽度胸髄萎縮

表 家系 1 (A) と家系 2 (B) の臨床所見

家系 1 では、発症者 2 名と非発症者 3 名での連鎖解析の結果、4 つの染色体に連鎖部位を同定した(図 2 A)。患者 1 名のエクソーム解析により、その領域内の 2 つの遺伝子にそれぞれホモ接合体の新規の非同義一塩基置換 (nsSNV) を同定した。そのうち 1 つ遺伝子 A は中枢神経系に発現しており、その nsSNV は機能予測プログラム (SIFT, Polyphen2, Mutation Taster) で病的と予想され、家系内で共分離していた。また、それは正常コントロール 208 名に存在しなかった。さらに AR が疑われる HSP 家系患者 89 例には遺伝子 A の変異は存在しなかった。

家系 2 では、発症者 1 名と非発症者 1 名で連鎖解析の結果、11 の染色体に弱い連鎖部位を認めた(図 2 B)。患者 1 名のエクソーム解析により候補領域内の 3 つに遺伝子にホモ接合体の新規の nsSNV を同定した。それらの変異は、機能予測プログラムで病的と予想されたが、家系内で共分離を検討したところ、遺伝子 B の nsSNV に絞られた。この変異はコントロール 326 名には存在せず、AR が疑われる HSP 家系患者 89 例と 13 例の近親婚のある HSP 家系にも遺伝子 B に病的変異は同定されなかった。

A



B

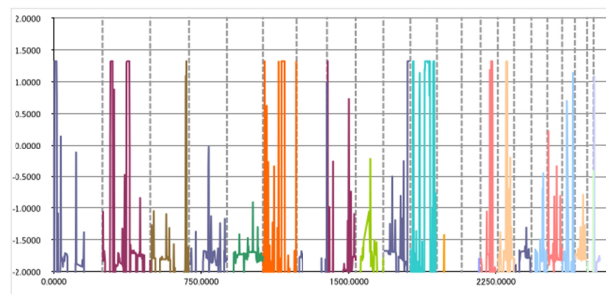


図 2 . 家系 1 (A) と家系 2 (B) の SNP を用いた連鎖解析。家系 1 では 4 つの、家系 2 では 11 の染色体の一部に弱い連鎖を認めた。

D . 結論と今後の展望

純粋型 AR-HSP 2 家系で、それぞれ異なる原因遺伝子とその変異と考えられる新規 nsSNV を同定した。これらが真の病的変異であるか検証するため、ネットイツイメガエルなどのモデル動物にて、transcription activator-like effector nucleases (TALEN) を利用した遺伝子編集技術を用いて遺伝子 A, B の相同遺伝子をそれぞれ破壊し、表現形を観察するなどの機能解析を現在行っている。(広島大学理学部 高橋先生、佐久間先生、山本先生との共同研究)

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Shimazaki H, Takiyama Y, Honda J, Sakoe K, Namekawa M, Tsugawa J, Tsuboi Y, Suzuki C, Baba M, Nakano I: Middle cerebellar peduncles and

- pontine T2 hypointensities in ARSACS. J Neuro-imaging 2013; 23 (1): 82-85
- 2) Buchert R, Uebe S, Radwan F, Tawamie H, Issa S, Shimazaki H, Henneke M, Ekici AB, Reis A, Abou Jamra R: Mutations in the mitochondrial gene *C12ORF65* lead to syndromic autosomal recessive intellectual disability and show genotype phenotype correlation. Eur J Med Genet 2013; 56 (11): 599-602
 - 3) Shimazaki H, Honda J, Naoi T, Namekawa M, Nakano I, Yazaki M, Nakamura K, Yoshida K, Ikeda S, Ishiura H, Fukuda Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, Takiyama Y: Autosomal recessive complicated spastic paraplegia with a novel *lysosomal trafficking regulator* gene mutation. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014 (in press)
 - 4) 嶋崎晴雄: 視神経萎縮, 末梢神経障害を伴う常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺 (SPG55). 特集/ 脊髄小脳変性症の研究の進歩. 神経内科 2013; 78(3): 283-289
 - 5) 嶋崎晴雄: 常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺. 日本臨床 別冊: 神経症候群 II-その他の神経疾患を含めて-第2版, 2014 (印刷中)
- Chediak-Higashi syndrome presenting as spastic paraplegia, cerebellar ataxia and neuropathy. American Academy of Neurology 65th Annual Meeting, Mar 21, 2013, San Diego
- 2) 嶋崎晴雄, 本多純子, 直井為任, 滑川道人, 石浦浩之, 福田陽子, 高橋祐二, 後藤順, 辻省次, 矢崎正英, 中村勝哉, 吉田邦広, 池田修一, 瀧山嘉久, 中野今治: 小脳失調, 末梢神経障害を呈した常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺家系の遺伝子解析. 第54回日本神経学会総会, 2013年5月31日, 東京
 - 3) Shimazaki H, Sugaya R, Honda J, Meguro A, Nakano I: Novel *ATM* mutation in autosomal recessive late-onset cerebellar ataxia with neuropathy. American Society of Human Genetics 2013 Annual Meeting, Oct 24, 2013, Boston
 - 4) 石浦浩之, 高紀信, 嶋崎晴雄, 三井純, 高橋祐二, 吉村淳, 土井晃一郎, 森下真一, 後藤順, 瀧山嘉久, 辻省次, JASPAC: 常染色体劣性遺伝が疑われた遺伝性痙性対麻痺症例の exome 解析. 日本人類遺伝学会第58回大会, 2013年11月22日, 仙台

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)

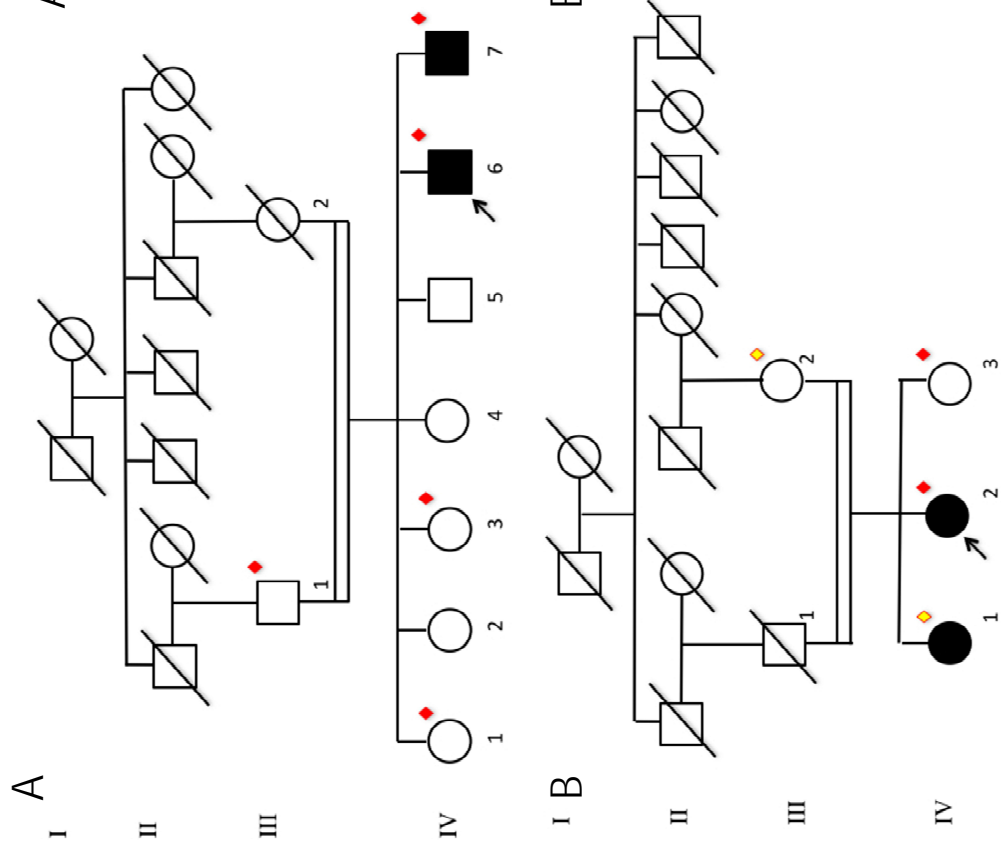
なし

2. 学会発表

- 1) Shimazaki H, Takiyama Y, Ishiura H, Tsuji S, Yazaki M, Nakano I: Adult

純粋型常染色体劣性遺伝性痲痺2家系(A,B)の遺伝子解析 (連鎖解析とエクソーム解析)で、新規候補遺伝子を同定

家系図



連鎖解析

