

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班 分担研究報告

Boucher-Neuhäuser 症候群の原因遺伝子探索

研究分担者 瀧山嘉久（山梨大学大学院医学工学総合研究部神経内科学講座）
共同研究者 高 紀信、小林史和、三輪道然、新藤和雅
（山梨大学大学院医学工学総合研究部神経内科学講座）

研究要旨

小脳失調症をきたす症例の一部に低ゴナドトロピン性性腺機能低下症を合併することが知られており、Gordon Holmes 症候群（GHS）と呼ばれている。GHS は網脈絡膜変性症、認知症、精神発達遅滞、末梢神経障害、てんかん、難聴を合併することが知られている。2013 年に GHS に認知症を合併する例において、疾患遺伝子 *RNF216* と *OTUD4* が同定された。GHS に網脈絡膜変性症を伴った一群は Boucher-Neuhäuser 症候群（BNS）と呼ばれており、今回我々はこの疾患遺伝子の同定を試みた。BNS は過去の報告から常染色体劣性遺伝性の疾患と考えられている。我々は BNS の 1 家系においてエクソーム解析を用いて候補遺伝子を抽出した。経過中ごく最近、Synofzik らによって BNS, GHS, SPG39 の原因遺伝子が *PNPLA6* であることが報告され、本患者においても *PNPLA6* の複合ヘテロ接合性変異を認めた。*PNPLA6* は性腺機能異常、痙性対麻痺、小脳失調といった種々の症状をきたす広いスペクトラムを呈することが示唆された。

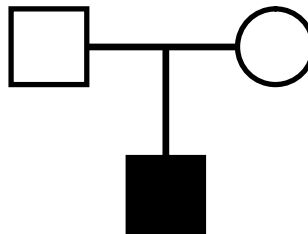
A. 研究目的

小脳失調をきたす疾患は多岐にわたっている。そのうち性腺機能低下症をきたす一群が知られており GHS と呼ばれている。GHS においては網脈絡膜変性症、認知症、精神発達遅滞、末梢神経障害、てんかん、難聴などの多くの合併症をきたすことが報告されている。2013 年に Margolin らによって、認知症を伴う一群において疾患遺伝子 *RNF216* と *OTUD4* が同定された。GHS に網脈絡膜変性症を伴う群は BNS と呼ばれており、今回我々は BNS の一家系の解析により、その原因遺伝子の同定を試みた。BNS は過去の報告から常

染色体劣性遺伝性の疾患と考えられている。

B. 研究方法

BNS 患者およびその両親から DNA の抽出を行った。家系図を次に示す。



(2) 解析方法

親子 3 名においてエクソーム解析を行

った。エクソンキャプチャーは Agilent の SureSelect Human All Exon V4 Kit を使用し、シークエンスは illumina の HiSeq2000 の 100bp の paired end を使用した。マッピングには BWA を用い、variation のコールには GATK を使用した。BNS は常染色体劣性遺伝が想定されているため、ホモ接合性または複合ヘテロ接合性の変異のうち新規のものを抽出することとした。

(倫理面への配慮)

研究への参加について、患者と両親から文書にて同意を得た。なお、本研究は山梨大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

(1) 変異の検出

エクソーム解析の結果、新規のホモ接合性変異を 4 か所 3 遺伝子、複合ヘテロ接合性変異を 8 遺伝子において認めた。

(2) 検出した変異の検証

ホモ接合性の 4 か所の遺伝子を Human Genetic Variation Database において確認したところ 0.3~12.4% の頻度で日本人に存在していることが確認された。BNS は、これまで世界中で 11 家系の報告があるのみの極めてまれな疾患であるので、これが原因とは考えにくかった。また複合ヘテロ接合性変異を示す 8 遺伝子のうち 7 遺伝子においては両親のどちらかにおいて複合ヘテロ接合性変異をきたしている可能性があった。結局、発端者において初めて複合ヘテロ接合性変異をきたしたのは *PNPLA6* 遺伝子のみであった。

(3) *PNPLA6* の変異の確認

PNPLA6 遺伝子に対して Sanger 法を用いて変異の確認を行った。その結果発端者は、父親からエクソン 30 の c.3517insTGTCCG (p.1173insCP) 変異を、母親からエクソン 25 の c.2923A>G (p.T795A) 変異を受け継いでいることを確認した。

D. 考察

本研究において BNS の原因遺伝子の候補として *PNPLA6* を抽出した。*PNPLA6* はすでに遺伝性痙性対麻痺 SPG39 の原因遺伝子であるとの報告がされていた。SPG39 は上下肢末梢の筋委縮を伴う常染色体劣性遺伝性の痙性対麻痺である。また、今回の研究と時期を同じくして Synofzik らによって *PNPLA6* が GHS, BNS, SPG39 の共通の原因遺伝子であることが報告された (Brain 2013 Dec 19, Epub ahead of print)。この報告においては BNS 4 家系、GHS 1 家系、HSP 1 家系、痙性失調症 1 家系において *PNPLA6* 遺伝子変異を検出した。また SPG39 としては過去に 3 家系が報告されている。今回の我々の症例は、*PNPLA6* 遺伝子変異を認めた 11 家系目であり、本邦では初めての家系である。これら 11 家系においてホモ接合性の変異を持つのは 2 家系のみであり、また共通の変異も 1 種類のみであったため、19 種類の変異が検出されている。この 19 種類の変異のうち 15 か所が phospholipid esterase domain に集積しており、この部位が機能的に重要な機能を果たしている可能性が示唆される。我々の症例における 2 つの変異もこの領域に存在していた。今後、本邦において BNS に限らず、小

脳失調や痙性対麻痺、性腺機能異常といった幅広い症例において *PNPLA6* 遺伝子変異を持つ症例のスクリーニングが必要である。

E. 結論

今回、BNS 家系においてエクソーム解析を用いて疾患遺伝子の同定を行った。解析の結果、疾患の候補遺伝子として *PNPLA6* を抽出した。また *PNPLA6* は海外においても GHS, BNS, SPG39 を引き起こすことが報告された。

以上の結果から我々の BNS 家系は *PNPLA6* の複合ヘテロ接合性変異により疾患をきたしたと考えられた。

今後、小脳失調症や痙性対麻痺、性腺機能異常症といった幅広い疾患において *PNPLA6* 遺伝子異常の検索を行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koh K, Ishiura H, Miwa M, Doi K, Yoshimura J, Mitsui J, Goto J, Morishita S, Tsuji S, Takiyama Y: Exome sequencing reveals a novel de novo mutation in ATL1. *Neurology and Clinical Neuroscience* (in press)
- 2) Shimazaki H, Takiyama Y, Honda J, Sakoe K, Namekawa M, Tsugawa Tsuboi Y, Suzuki C, Baba M, Nakano I: Middle cerebellar peduncles and pontine T2 hypointensities in ARSACS. *J*

Neuroimaging 2013; 23: 82-85

- 3) Shimazaki H, Honda J, Naoi T, Namekawa M, Nakano I, Yazaki Y, Nakamura K, Yoshida K, Ikeda S, Ishiura H, Fukuda Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, and Takiyama Y: Autosomal recessive complicated spastic paraplegia with lysosomal trafficking regulator gene mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press)

2. 学会発表

- 1) Shimazaki H, Takiyama Y, Ishiura H, Tsuji S, Yazaki M, Nakano I: Chediak-Higashi syndrome presenting as spastic paraplegia, cerebellar ataxia and neuropathy. The 65th Annual Meeting of the American Academy of Neurology, 2013.3.21, 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、末梢神経障害を伴った劣性遺伝性痙性対麻痺家系の遺伝子解析. 第 54 回日本神経学会学術大会, 2013 年 5 月 31 日, 東京
- 3) 高 紀信, 石浦浩之, 三井 純, 森下真一, 後藤 順, 辻 省次, 瀧山嘉久: トリオのエクソーム解析により ATL1 の新規 de novo 変異を見いだした家族性痙性対麻痺家系. 第 54 回日本神経学会学術大会, 2013 年 5 月 31 日, 東京

- 4) 高木竜助, 三輪道然, 長坂高村, 新藤和雅, 瀧山嘉久: 頭部 MRI で hot cross bun sign を認めた優性遺伝性脊髄小脳失調症の 68 歳女性例. 第 205 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2013 年 6 月 8 日, 東京
- 5) 新藤和雅, 土屋 舞, 一瀬佑太, 小野原亜希子, 福元 恵, 高 紀信, 高木隆助, 山城亘央, 新村浩透, 小林史和, 三輪道然, 長坂高村, 瀧山嘉久: 多系統萎縮症における四肢冷感の病態. 第 26 回日本マイクロニューログラフイー学会, 2013 年 10 月 26 日, 愛知
- 6) 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 21 日, 仙台

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

Boucher-Neuhäuser症候群の原因遺伝子探索

