

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

患者家族を対象とした第5回市民公開セミナーの実施

出口貴美子<sup>2</sup>、小坂 仁<sup>3</sup>、黒澤健司<sup>4</sup>、西川智子<sup>4</sup>、井上 健<sup>1</sup>

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二部

2 出口小児科医院、慶應義塾大学 解剖学

3 自治医科大学 小児科

4 神奈川県立こども医療センター 遺伝科

研究要旨

先天性大脳白質形成不全症市民公開セミナーは、平成21年7月に第1回会合を神奈川県立こども医療センターで開催して以来、本年まで毎年1回、継続して開催されてきた。平成25年には第5回のセミナーを開催した。日程は、例年通り7月の「海の日」週末であった。今年は、横浜市の障害者研修保養センター横浜あゆみ荘において実施した。「つながることで生まれる力」というテーマで、研究班と患者家族会の共同作業としての運営を目指した。今年も、例年同様に多数の参加者に恵まれ、26家族、ボランティアやスタッフを含め総勢90名の参加者数であった。班員の講演以外に、特別講演として特別支援学校教諭の福島 勇氏にiPadなどのiデバイスを利用した障害者の社会参加への先進的な取り組みに関する講演を依頼した。本講演会では、班員関係者以外に大学生や医療機関職員などがボランティアスタッフとして、参加するなど少しずつではあるが、地に根付いた活動になりつつある。また患者家族会の総会も同日実施された。患者家族会の結束が固くなって来ていることが確認された。このセミナーは、疾患に関する情報提供の場、専門家と直接相談が出来る場としての役割のみならず、疾患が稀少であるために、普段顔をあわせて話をすることが出来ない家族同士のコミュニケーションを育てる有意義な機会となっている。来年度以降も、継続してこのセミナーを開催する予定である。

1. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、非常に希少な遺伝性の難治性疾患であり、患者の家族のみならず、主治医も疾患に関する詳細な情報を持ち合わせていないことが多く、患者家族は診療現場で不安を抱くことが少なくない。また、

多くの患者家族が、相談や疾患に関する話題を共有したいと思っても、稀少疾患であるため、他の家族との交流を持つことが困難で、地域に孤立してしまう。また、疾患に関する知識も一般的には入手することが困難であることから、患者の疾患の原因や治療法、ケ

アの方法や予後、遺伝カウンセリングなどについて知るための機会がなく、不安の多い生活を送らざるを得ないのが実情である。

そこで、我々は平成21年度に前身となる研究班を立ち上げるにあたり、孤立している家族のコミュニティー形成の場として、またこの疾患の医療の現状や研究の進歩の状況について知ることが出来る場として、患者家族やゲアスタッフを対象とした市民公開セミナーを開催することを計画した。そして平成21年度に第1回市民公開セミナーを神奈川県立こども医療センターにおいて開催した。この会は、予想を大きく上回る30家族70人に及ぶ参加者があり、会議室が満員になる盛会であった。この際に、継続してこの会の開催を希望する声が大きかったため、それ以降も、毎年市民公開セミナーを開催しており、今年度は第5回目の開催を迎えた。

今回は、日程調整と会場の選定段階から患者家族会との連携を密にとり、家族会のメンバーが積極的にセミナーの運営に関与する形で準備を行った。また外部からの招待講演者の選定に関しても、家族会との連携をとりつつ実施することにより、家族の希望を活かした講演者の選定を行うことが出来た。こういった動きは、研究班と家族会の連携を維持・強化していくために、非常に重要な機会となっている。今年も多くの参加者に恵まれ、26家族が参加し、また、たくさんのボランティアの方にお手伝い頂き、総勢90名の参加者により円滑に会を運営することが出来た。

## 2. 研究方法

【実施日】平成25年7月14日(日)

【会場】今年の会場は、横浜市の障害者研修保養センター横浜あゆみ荘にて

行った。当初、池袋サンシャインの会議室の使用を予定していたが、実際に家族会のメンバーが足を運び、車いすやバギーを使用しての移動は困難であることを見出し、会場を変更することになった。例年より小さめの会議室であったが、隣の遊戯室に講演の様子をビデオ中継することにより、こどもたちを寝転ばせながら講演を視聴できるように工夫した。また、健常なこどもたち(患児の同胞)は、ボランティア参加の学生が体育館で遊ばせてくれ、退屈せずに、セミナーの進行に合わせて楽しく過ごすことが出来た。駐車場も施設のものを無料で使用することができ、自家用車で来場する家族には、非常にありがたいことであった。

## 3. 研究結果

【参加者】セミナーに関する周知は、例年通り、親の会のネットワークと小児神経学会での発表やチラシ配布(資料2)になどにより行った。また新規患者の遺伝子解析の依頼時に、主治医を通じて本セミナーに関する情報を提供した。その結果、本年度は26家族、70名の参加を得た。他に作業療法士と訪問看護師各1名の医療従事者が参加した。本セミナーでは、毎年、ボランティアスタッフとともに充実した託児サービスを併設していることもあり、本年も多くのこども達が参加した。班員4名に加え、神奈川県立こども医療センターから4名、国立精神・神経医療研究センターから3名、他に津田塾大学の学生さん3名、島田療育園の看護師さん3名が、有志のボランティアスタッフとして参加し、特別講演の福島氏を含め、総勢90名の参加者であった。参加した患者さんご家族は、関東近県在住者が中心である一方で、北は北海道から、西は兵庫県まで、遠方か

らはるばる参加された方もいた。

【運営スタッフ】本年度のセミナーは、厚生労働科学研究費（難治性疾患等克服研究費）による研究班の活動の一部として実施された。研究班の班員は、研究代表者を含む4名が参加した。他に第1回セミナーから参加している神奈川県立こども医療センターの遺伝カウンセラーを筆頭に、7名が研究班施設より運営スタッフとして参加した。また、例年実施している託児サービスへのボランティアスタッフとして6名が昨年に引き続いて参加した。これに加えて、今年は親の会のスタッフがセミナーの趣致のみならず、会場の選定や使用する機材などの会場の段取り、さらに懇親会の計画と運営に至るまで参画し、実質的に運営のかなりの部分を担うことになった。これまでどちらと言えば受け身的な立場での参加であったのが、今回はかなり能動的な形でセミナーの運営と実施に関与した事は、今後のこの会の発展に関連して、非常に意義深いと考えられる。また、医療者・研究者と親の会の連携も深まったことは、今回のセミナーで成功した点のうちの1つである。

【講演】今回は3題の講演を企画した。まず、研究分担者で神奈川県立こども医療センター神経内科部長の小坂仁医師が、「先天性大脳白質形成不全症の治療研究の最前線」についての講演を行った。小坂医師はこの講演の中で、まず先天性大脳白質形成不全症という疾患についての概要を分かりやすく説明し、次に先天性大脳白質形成不全症の代表疾患 Pelizaeus-Merzbacher病(PMD)における治療法開発研究の成果について、内外の報告に加え、自らの研究の知見を含めて噛み砕いて講演

を行った。次に、研究代表者の国立精神・神経医療研究センター神経研究所の井上健医師は、「厚生労働省研究班の現状：本邦の難病政策の転換期」と題し、本年度で5年目を迎える研究班での研究活動の成果について、特に昨年度から1年間の進展について説明した。当初、来年度から大きく変わることになっている難病政策に関して、厚生労働省から発表されている資料をもとに概説する予定であったが、これらについては簡潔に述べるにとどまった。休憩を挟み、福岡市立南福岡特別支援学校教諭の福島勇氏により「Assistive Technology がもたらす重度障がい児の自立と社会参加～暮らしや活動への参加をサポートするには～」と題した特別講演が行われた。この中で福島氏は、assistive technology とは何か、その活用の目的と実用例などについて、分かりやすく説明し、PMD を含む肢体不自由児の日々の療育に活かすことができるたくさんのアイデアを供与した。特に iPad などの iDevice を用いた最新の assistive technology の紹介やこの技術によって生み出されるこどもたちの自立感や社会参加についての話は、非常に興味深いものであった。講演後には、講演内容に関わらず聞きたいことを聞ける質問コーナーを設けた。日頃の医療や世話の中で生じる素朴な疑問についての質問があり、其々講演者が答える形で対応した。

#### 【体育館等での託児】

セミナーは長時間に渡るため、どうしてもこども達が退屈してしまう。そうすると両親はセミナーに集中することが出来ない。またこどもたちが楽しく過ごすことが出来れば、次年度再び参加するモチベーションにもなる。そこで、前回に引き続き、今回もボランティ

アの託児スタッフがこども達を施設の体育館に連れ出し、保護観察下にボール遊びや卓球などで遊んだ。監督として、研究班員の出口医師がボランティアのメンバーを統括し、臨機応変に対応を指示したため、円滑に託児を行うことが出来た。託児に関しては、申込書を作成し、これに各児に関する注意点や万一の際の連絡先も記載して頂いた。託児に参加したこどもは健常児・患児合わせて10名であった。一方、重度の障害があるこどもたちは、講演会場となった会議室隣のプレイルームで、島田療育園の看護師らが面倒をみて下さった。専門家であり安心してこどもを預けてセミナーに集中できたと、家族からも非常に好評であった。こどもたちは総じて楽しい時を過ごすことが出来たようである。この託児企画は例年実施しているが、参加する家族からも非常に好評であり、ボランティアの学生や若手研究者などにも意義深い機会となっているので、次回以降も可能な限り公開セミナーの際の企画として継続していきたい。

【親の会総会・懇親会】講演終了後に、恒例となっている親の会に総会を実施した。この市民公開講座を基盤に発足した親の会は、複数の世話役も決まり、連絡のためのネットワークも広がっており、確実に組織としての基盤が固まって来ていることが確認された。特筆すべきは、今回の市民公開セミナーの運営に対し、親の会がかなり積極的に関わったということであり、これは親の会がその組織の活動に「意志」を持ち始めた証と考えられる。稀少性難治性疾患の克服という目的には、医療・研究者と患者家族という両輪での取り組みが必須になる。親の会の成長は、先天性大脳白質形成不全症の克服への大きな一歩となるに違いない。

総会の後、市民公開セミナーは一旦終了し、会場の片付けを行った後に、希望者は会場内の食堂で懇親会を実施した。前回のセミナー後のアンケートで、本セミナーに参加する最も大きな目的が、全国から集まる家族との交流であったため、今回初めて懇親会という場を設けた。会場となった食堂は、もともと障がい者の利用を前提としているため、特殊な食事の内容（キザミなどの食事形態やアレルギー対応など）にも柔軟に対応してもらえた。懇親会では、スタッフ・ボランティアを含め、10家族以上が参加し、夕食をとりながら楽しいひとときを過ごした。参加者からは、貴重な機会であったとの声があった。また、改めて障がい児同伴ではなかなか一般の飲食店での交流会は困難であることを痛切に感じ、真の意味でのバリアフリー社会にはほど遠い現状を再確認した。

#### 4. 考察

今回も例年通り、多くの患者さんとご家族の皆様に参加頂き、班員ともども疾患について勉強をする場を持てたことは、非常に有意義であった。また、家族同士、あるいは医療研究者と、実際に会って生の声を聴き、交流するという本セミナーの目的は、達成することが出来た。また今回、懇親会を実施し、スタッフやボランティア、患児を含め家族会のメンバーと親交を深めることが出来たことは、非常に有意義であった。こういった人の輪、目に見える人間関係を介したネットワーク作りに大きな進歩が見られたことも、本年度のセミナーの有意義な点の1つであった。

#### 5. 結語

先天性大脳白質形成不全症の患者

家族を対象とした市民公開セミナーを実施し、疾患に関する医療や研究の進歩についての情報を提供するとともに、患者家族同士、患者と医療・研究者との交流を深めることが出来た。

## 6. 研究発表

### A. 論文発表

1. 井上 健, 岩城明子, 黒澤健司, 高梨潤一, 出口貴美子, 山本俊至, 小坂 仁 先天性大脳白質形成

不全症：ゲノム解析から診断、治療への取り組み *脳と発達*  
2013;45(2);122-126

### B. 学会発表

該当無し

## 7. 健康危険情報

特記事項無し

## 8. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療  
小坂仁<sup>1,4</sup>、新保裕子<sup>1</sup>、永井淳一<sup>2</sup>、黒澤健司<sup>3</sup>

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター  
<sup>1</sup>神経内科、<sup>2</sup>同検査科、<sup>3</sup>同遺伝科  
<sup>4</sup>自治医科大学小児科

研究要旨

2009年4月から2013年12月に、当院で Pelizaeus-Merzbacher 病(PMD)が疑われた42例について、*PLP1* 遺伝子の定量的PCR、FISH、シーケンスを行った。量的異常は11例（重複；9例、3倍；1例、エクソン2-7の欠失；1例）で認めた。点突然変異は17例で認め、ATG>AGG (initiation codon)(exon1), Leu31Pro (exon2), Phe32Val(exon2), Gly36Arg (exon2), Ala39Val(exon2), Gln99\*(exon3), Ileu176Asn (exon4), Asp203His(exon4), Arg205Lys (exon4), Ala214Asp (exon5), Gly217Asp (exon5) Ala248Glu(exon6) IVS2;-1G > A (intron1), IVS4;-2A > C (intron3) はそれぞれ1例に、Phe240Leu (exon6) および Ala247Val (exon6),は血縁関係のない2例に認めた。PMD患者における*PLP1* 異常の占める割合は、報告例で30%~70%と幅が広いが、臨床所見と画像所見を加味した診断基準を適応した今回の解析では28/42例(67%)と高率に変異を見出すことが可能であった。また点突然変異が、全変異の61%の割合を占めており、従来の報告(20~30%)より、高率であった。

### 1. 研究目的

現在当院では Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) の診断を保険診療として、行っている。従来は臨床的に PMD が疑われる症例で、proteolipid protein 1 (PLP1) 遺伝子異常を見いだす症例は約半数であった。近年、PLP1 以外の中枢ミエリン形成不全遺伝子として *GJC2*, *POLHIA*, *POLHIB* 等が見いだされている。GJC2 異常による白質形成不全症は、劣勢遺伝形式をとり、乳幼

児期の発達は、典型的な PMD より軽度であるが、途中から急速に運動機能を失うことがわかっている。また *POLHIA*, *POLHIB* 異常では痙性が目立たず、小脳症状を主症状とし、画像上の小脳萎縮を特徴としている。このように他の遺伝子変異と比較した歳の *PLP1* 遺伝子変異の特徴が明らかになってきたため、*PLP1* 変異検索を最初に行わない症例も出てきている。この5年における、当院での *PLP1* 変異

解析にて報告する。

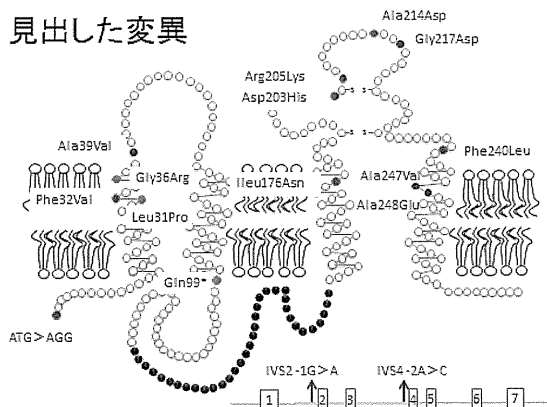
## 2. 研究方法

2009年4月から2013年12月に当院にPLP1解析依頼のあった症例のうち、臨床所見より、PMDが除外できる患者および女子例をのぞいた42例を対象とした。PMDの診断は、参考文献により、診断基準を満たさない患者は、他検索を優先するよう主治医に伝え、今回の症例からは除外している。患者白血球から抽出された全ゲノムDNAを鋳型とし、PLP遺伝子の定量的PCRを行い、異常の認められない患者においては、全てのエクソン(1~7番)、およびプロモーター領域のシーケンスを施行した。

## 3. 研究結果

42例の内、28例でPLP1異常を認めた。量的異常としては、重複が9例、3倍が1例、エクソン2-7の欠失が1例であった。点突然変異は17例で認め、ATG>AGG (initiation codon) (exon1), Leu31Pro (exon2), Phe32Val(exon2), Gly36Arg (exon2), Ala39Val(exon2), Gln99\*(exon3), Ileu176Asn (exon4), Asp203His (exon4), Arg205Lys (exon4), Ala214Asp (exon5), Gly217Asp (exon5) Ala248Glu(exon6) IVS2;-1G>A (intron1), IVS4;-2A>C (intron3) はそれぞれ1例に、Phe240Leu (exon6) およびAla247Val (exon6)は血縁関係のない2例に認めた。

表1；今回認めたPLP1変異



## 4. 考察

PMD患者におけるPLP1異常の占める割合は、報告例では30%~70%と非常に幅が広いが、臨床所見と画像所見を加味した診断基準(参考文献)を適応した今回の解析では28/42例(67%)と高率に変異を見出すことが可能であった。診断基準を適応することにより、大多数の患者においてはPLP1異常を見出すことが可能であると考えられる。また点突然変異が、全変異の28/42例(67%)の割合を占め、従来の報告(20-30%)より高率であった、この傾向は本邦の症例の特徴なのか、あるいは重複の検査が別の検査機関で行われているためのバイアスかは今後の検討が必要である。

## 参考文献

井上 健、岩城 明子、黒澤 健司、高梨 潤一、出口 貴美子、山本 俊至、小坂 仁、先天性大脳白質形成不全症：Pelizaeus-Merzbacher病とその類縁疾患、脳と発達 2011；43：435-442

## 5. 論文発表

1. Takanashi J, Osaka H, Saitsu H, et al. Different patterns of hypomyelination and cerebellar abnormality between POLR3A and POLR3B mutations. *Brain Dev* in press.
2. Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Et al. Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. *Am J Hum Genet* 2013; 93: 6-18.
3. Anselm I, Azzouz H, Bratkovic D, et al. Phenotype and

- genotype in 101 males with X-linked creatine transporter deficiency. *J Med Genet* 2013; 50:463-472.
4. Mitani T, Aida N, Tomiyasu M, Wada T, Osaka H. Transient ischemic attack-like episodes without stroke-like lesions in MELAS. *Pediatr Radiol* 2013; 43: 1400-1403.
  5. Kato H, Miyake F, Shimbo H, Ohya M, Sugawara H, Aida N, Anzai R, Takagi M, Okuda M, Takano K, Wada T, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Urine screening for patients with developmental disabilities detected a patient with creatine transporter deficiency due to a novel missense mutation in SLC6A8. *Brain Dev* in press.
  6. Nakamura K, Kato M, Osaka H, et al. Clinical spectrum of SCN2A mutations expanding to Ohtahara syndrome. *Neurology* 2013; 81: 992-998.
  7. Nakamura K, Koder H, Akita T, et al. De Novo Mutations in GNAO1, Encoding a Galphao Subunit of Heterotrimeric G Proteins, Cause Epileptic Encephalopathy. *Am J Hum Genet* 2013;93: 496-505.
  8. Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, Matsumoto N, Miyake N. A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? *Hum Genet* in press.
  9. Ohba C, Osaka H, Iai M, Yamashita S, Suzuki Y, Aida N, Shimozawa N, Takamura A, Doi H, Tomita-Katsumoto A, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Eto Y, Tanaka F, Matsumoto N, Saitsu H. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. *Neurogenetics* 2013; 14: 225-232.
  10. Koder H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitsu H. De novo mutations in SLC35A2 encoding a UDP-galactose transporter cause early-onset epileptic encephalopathy. *Hum Mutat.* 2013;34: 1708-1714.
  11. Ohshiro-Sasaki A, Shimbo H, Takano K, Wada T, Osaka H. A Three-Year-Old Boy With Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome Presenting With Episodic Ataxia. *Pediatr Neurol* in press.
  12. Matsufuji M, Osaka H, Gotoh L, Shimbo H, Takashima S, Inoue K. Partial PLP1 Deletion Causing X-Linked Dominant Spastic Paraplegia Type 2. *Pediatr Neurol.* 2013; 49: 477-481.
  13. Akiyama T, Osaka H, Shimbo H,



Nakajiri T, Kobayashi K, Oka M, Endoh F, Yoshinaga H. A Japanese Adult Case of Guanidinoacetate Methyltransferase Deficiency. *JIMD Rep.* 2013 Jul 12.

## 6. 学会発表

1. 先天性大脳白質形成不全症の臨床症状と分子病態；シンポジウム 小坂仁, 井上健, 才津浩智 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
2. 先天性大脳白質形成不全症：ゲノム解析から診断，治療への取り組み；シンポジウム 井上健, 岩城明子, 黒澤健司, 高梨潤一, 出口貴美子, 山本俊至, 小坂仁 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
3. POLR3B 遺伝子異常の判明した小脳萎縮と脳梁低形成を伴ったび慢性白質形成不全(HCAHC)の姉弟例 戸田壮一郎, 高梨潤一, 湯浅正太, 小坂仁, 植松貢, 才津浩智 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
4. 難聴を合併した Duane 症候群の二例 高野亨子, 奥田美津子, 和田敬仁, 井合瑞江, 山下純正, 小坂仁 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
5. γ グロブリン療法が著効した抗 NMDA 受容体脳炎の 1 例 秋庭真理子, 奥田美津子, 高野亨子, 渡辺好宏, 辻恵, 和田敬仁, 井合瑞江, 山下純正, 小坂仁 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
6. 小児病院におけるマイクロアレイ CGH 染色体検査の問題点 黒澤健司, 富永牧子, 和田敬仁, 鮫島希代子, 石川亜貴, 高野亨子, 井合瑞江, 小坂仁, 山下純正 第 54 回日本小児神経学会総会平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
7. PLP1 部分欠失による X 連鎖性不完全優性痙性対麻痺の 1 家系：PLP1null 変異の臨床的特異性について 松藤まゆみ, 中村紀子, 友納優子, 井上貴仁, 井上健, 小坂仁, 黒澤健司, 宇都宮英鋼, 高嶋幸男 第 54 回日本小児神経学会総会 平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
8. 呼吸障害に対して非侵襲的陽圧換気療法が有効であった新規 PLP1 遺伝子変異による Pelizaeus-Merzbacher 病の 1 例 松井秀司, 難波由喜子, 奈須康子, 松田光展, 牧野道子, 和田恵子, 赤星恵子, 椎木俊秀, 舟橋満寿子, 鈴木康之, 小坂仁 第 54 回日本小児神経学会総会 平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌
9. PLP 遺伝子の重複と ABCD1 遺伝子変異を持つ Pelizaeus-Merzbacher Disease の 1 例 永光信一郎, 渡辺順子, 芳野信, 澁谷郁彦, 大矢崇志, 山下裕史朗, 岩城明子, 黒澤健司, 小坂仁, 下澤伸行, 松石豊次郎 第 54 回日本小児神経学会総会 平成 24 年 5 月 17-19 日 札幌

## 先天性大脳白質形成不全症の遺伝カウンセリング

黒澤 健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川立こども医療センター遺伝科

### 研究要旨

Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) は、X 連鎖劣性遺伝形式を呈する先天性大脳白質形成不全症の代表的疾患の一つである。PMD を含め先天性大脳白質形成不全症の多くは遺伝病で、診断の確定は遺伝学的検査による。したがって遺伝カウンセリングが診療上不可欠である。遺伝カウンセリングにおいては、疾患の概要は勿論、症状と変異の関係や、出生前診断の可能性なども情報提供の一つに挙げられる。今回、PMD の遺伝カウンセリングの要点をマニュアルとしてまとめた。次世代シーケンスが診療に応用される今後は、遺伝カウンセリングの需要の増大は明らかである。多くが遺伝病に分類される先天性大脳白質形成不全症全体の遺伝診療マニュアルが今後の課題と考えられた。

#### 1. 研究目的

遺伝カウンセリングは、疾患の特性、遺伝様式、疾患がもつ意味を患者とその家族に伝え、理解を促し、医学的かつ個人的な決断が下せるように援助するプロセスを意味する。疾患がもつ意味は、それぞれの個人により捉え方が異なり、また、文化や宗教の影響も受ける。わが国においては、臨床遺伝専門医および認定遺伝カウンセラーが専門職として遺伝カウンセリングに関わっている。中枢神経ミエリンを構成する主要タンパクの一つであるプロテオリピドプロテインをコードする *PLP1* 遺伝子の異常は、先天性大脳白質形成不全症の代表である Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) から 2 型痙性対麻痺 (SPG2) まで、臨床的に幅広い臨床像をもたらす。これらは、*PLP1* 遺伝子が X 染色体

上にあることから、X 連鎖劣性遺伝形式をとる。Pelizaeus-Merzbacher 病も含め先天性大脳白質形成不全症の多くは遺伝性疾患に分類され、多くの場合診断の確定は遺伝学的検査による。発端者の診断が家系内の保因者の存在を示唆することもあり、遺伝カウンセリングが診療の一環として不可欠である。本稿では、Pelizaeus-Merzbacher 病および 2 型痙性対麻痺を含めた *PLP1* 関連先天性大脳白質形成不全症の遺伝カウンセリングを進める際に役立つと思われる情報をガイドラインとしてまとめた。

#### 2. 研究方法

*PLP1* 関連先天性大脳白質形成不全症の遺伝カウンセリングを進める際に役立つと思われる情報を種々の情報リソースから収集した。具体的に

は、疾患の概要については GeneReviews

( <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/> ) の中の PLP1-related disorders、PLP1 の遺伝子多型に関しては、Human Gene Mutation Database (HGMD, <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>)、NHLBI Exome Sequencing Project (ESP) Exome Variant Server (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>)、日本人データベース Human Genetic Variation Browser (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>)、遺伝学的検査の倫理的問題への対応については、「遺伝学的検査に関するガイドライン」(遺伝医学関連学会、平成 15 年 8 月)、「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」(日本医学会、2011 年 2 月)、を参照した。

### 3. 研究結果と考察 (別添資料)

「PLP1 関連先天性大脳白質形成不全症 (Pelizaeus-Merzbacher 病、2 型痙性対麻痺) の遺伝カウンセリングガイドライン」として、遺伝学的検査の適応・選択や、検査を進める上で必須となる遺伝カウンセリングの在り方をまとめた。内容は、前回平成 21 年度報告でまとめた版の改訂版に相当する。しかし、この間にマイクロアレイ染色体の普及や、種々のデータベースの整備が進み、遺伝学的解析の臨床的意義判定がより明確になったと考えられた。新たに、着床前診断や次世代シーケンサーによる網羅的疾患遺伝子スクリーニングなどの可能性が今後の課題と思われた。

### 4. 結論

「PLP1 関連先天性大脳白質形成不全症 (Pelizaeus-Merzbacher 病、2 型痙性対麻痺) の遺伝カウンセリングガイドライン」として、遺伝学的検査の適応・選択や、検査を進める上で必須となる遺伝カウンセリングの在り方をまとめた。先天性大脳白質変性症の多くは遺伝性であり、しかも遺伝的異質性が高い。このことは、遺伝学的検査を進める上での困難さの理由にもなっている。したがって、診断を進める際に遺伝カウンセリングは極めて重要であり、先天性大脳白質変性症の医療から切り離して議論することはできない。新しい医療技術の登場に合わせたガイドラインも必要となるかもしれない。今後は、先天性大脳白質形成不全症全般に関する遺伝カウンセリングガイドラインの整備が課題である。

### 5. 研究発表

#### 1) 国内

##### 口頭発表

田中学、浜野晋一郎、黒澤健司、才津浩智、井上健二郎、菊地健二郎、松浦隆樹、大場温子、南谷幹之 先天性大脳白質形成不全症の 3 亜型における臨床経過と ABR 所見の特徴、第 55 回日本小児神経学会学術集会 2013.5.30-6.1 大分

##### 原著論文

1) Mori T, Mori K, Ito H, Goji A, Miyazaki M, Harada M, Kurosawa K, Kagami S. Age-Related Changes in a Patient With Pelizaeus-Merzbacher Disease Determined by Repeated 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy. J Child Neurol

2013 Sep 20. [Epub ahead of print]

- 2) Ueda H, Sugiura T, Takeshita S, Ito K, Kakita H, Nagasaki R, Kurosawa K, Saitoh S. Combination of Miller-Dieker syndrome and VACTERL association causes extremely severe clinical presentation. Eur J Pediatr. 2013 Aug 11. [Epub ahead of print]

その他の発表

なし

2) 海外

なし

6. 知的所有権の出願・取得状況

なし。

## 先天性大脳白質形成不全症における脳画像研究

分担研究者：高梨潤一 亀田メディカルセンター小児科・部長

### 研究要旨

POLR3A, POLR3B は RNA Polymerase III (Pol III) の主要な subunit であり、その異常は先天性大脳白質形成不全症、具体的には peripheral and central hypomyelination with hypogonadotropic hypogonadism and hypodontia (4H) syndrome ならびに diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum (HCAHC) を呈する。POLR3A/3B 遺伝子異常症患者（各 3 例）における脳 MRI 所見を検討した。小脳虫部の萎縮は POLR3B 異常症でより高度であり、POLR3B 異常症を強く疑う画像所見と考えられた。白質低形成 (hypomyelination) は POLR3A 異常症で POLR3B 異常症に比してより重篤であり、臨床症状 (POLR3A 異常症でより重篤) と合致する所見であった。一方、HCAHC の画像所見を呈しながら POLR3A/3B 遺伝子異常を見いだせなかった 1 例に対し、エクソーム解析を施行し TUBB4A 遺伝子異常を見いだした。HCAHC に合致する症例に TUBB4A 遺伝子異常が含まれることが示された。

### 1 研究目的

先天性大脳白質形成不全症の診断には大脳白質の MRI 所見、すなわち白質の広範、軽度の T2 高信号が肝要である。我々は新たな先天性大脳白質形成不全症 diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum (HCAHC) (Sasaki, Takanashi et al., Brain Dev 2009) を提唱し、POLR3A/3B が疾患遺伝子であることを明らかにした (Saitsu, Takanashi, et al. AJHG 2011)。本研究はさらに画像所見から POLR3A/3B の鑑別を可能とすること、POLR3A/3B 異常を見出せない症例から新たな疾患遺伝子を見出すことを目的とした。

### 2 対象、方法

1) POLR3A 異常症 3 例 (15-44 歳)、POLR3B 異常症 3 例 (16-31 歳) の頭部 MRI 所見 (特に髄鞘化、小脳萎縮) を比較検討した。MRI 画像の一部は、国立精神・神経医療センター脳病態

統合イメージングセンター (IBIC) の Integrative Brain Imaging Support System (IBISS) を用いて集積した。

2) HCAHC に合致する画像所見を呈しながら POLR3A/3B 異常の見出せなかった 1 症例についてエクソーム解析を施行した。

(倫理面への配慮)

画像研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会、亀田メディカルセンター臨床研究審査委員会の承認を得た上で施行した。遺伝子解析は施行施設の倫理委員会の承認を得た上で、患者ないし保護者から書面での承諾を得た上で施行した。

### 3 結果

1) 6 例ともに大脳白質は白質形成不全症 (hypomyelination) に合致する均一な T2 高信号を呈した。大脳白質の T1 信号は POLR3A 異常症で主に等信号、POLR3B 異常症では主に高信号であった。小脳白質は POLR3A 異常症で T2 高信号・T1 等ないし高信号、POLR3B 異常

症では T2 低信号・T1 高信号であった。6例ともに小脳半球・虫部の萎縮を認め、小脳虫部の萎縮は *POLR3B* 異常症でより高度であった。

2) エクソーム解析の結果 *TUBB4A* 遺伝子異常が明らかとなった。

#### 4 考察

白質低形成 (hypomyelination) は *POLR3A* 異常症で *POLR3B* 異常症に比してより重篤であり、臨床症状(*POLR3A* 異常症でより重篤) と合致する所見であった。小脳虫部の高度萎縮は *POLR3B* 異常症を強く疑う画像所見と考えられた。HCAHC に合致する症例に *TUBB4A* 遺伝子異常が含まれることが示された。*TUBB4A* 遺伝子は *DYT4*, *H-ABC* の原因遺伝子として知られており、ジストニアを呈する HCAHC 症例では *TUBB4A* 遺伝子異常を考慮する必要がある。

#### 5 評価

##### 1) 達成度について

当初の研究目的はほぼ達成された。

##### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

先天性大脳白質形成不全症は約 50%で診断不能とされている。臨床・画像所見の詳細な解析から先天性大脳白質形成不全症の新たな疾患を確立し診断可能とした。本結果は国際的ジャーナルに受理ないし修正後投稿中である。

##### 3) 今後の展望について

IBISS により集積した先天性大脳白質形成不全症 未診断症例の検討を通じて新たな疾患の確立を図る。診断確立のみならず、疾患の病態解明・治療方法の確立が期待される。

##### 4) 研究内容の効率性について

国内の先天性大脳白質形成不全症症例を IBISS により効率的に集積することが可能であった。

#### 6 結論

臨床・画像所見の検討から HCAHC 疾患遺伝子 (*POLR3A/3B*, *TUBB4A*) を見出し、その遺伝子異常と臨床画像所見の関係を明らかにした。

#### 7 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表 5 件

原著論文による発表 0 件

それ以外 (レビュー等) の発表 5 件

そのうち主なもの

##### 論文発表

1. 井上健、岩城明子、黒澤健司、高梨潤一、出口貴美子、山本俊至、小坂仁. 先天性大脳白質形成不全症ーゲノム解析から診断、治療への取り組み. 脳と発達 2013; 45: 122-126.

2. 高梨潤一. MRI, MR spectroscopy による先天性大脳白質形成不全症の診断、病態解明. 脳と発達 2013; 45: 132-136.

3. 高梨潤一: 小児神経疾患・Proton MRS の臨床有用性コンセンサスガイド 2013 年度版 日本磁気共鳴医学会 Proton MRS の臨床有用性検討会編 36-48, 2013

4. 高梨潤一. 急性壊死性脳症. 青木茂樹、阿部修、増谷佳孝、高原太郎 編集. これでわかる拡散 MRI 第 3 版. 秀潤社 2013, 288-289. 高梨潤一: 脳の MRS 小児脳、発達. 磁気共鳴スペクトルの医学応用 インナービジョン 成瀬昭二、梅田雅宏、

##### 学会発表

3. 高梨潤一: 白質病変の新しい病態解析と MR マーカー: hypomyelination の MR を用いた neurochemistry. 第 41 回日本磁気共鳴医学会大会; 2013.9.19-21.

4. 高梨潤一: MRI, MR spectroscopy

による先天性大脳白質形成不全症の診断、病態解明. 第54回日本小児神経学会 2012.5.17-19.

5. 高梨潤一: POLR3A/3B 遺伝子異常における画像所見の相違. 第42回日本神経放射線学会 2013.2.15-16.

2) 海外

口頭発表 2件

原著論文による発表 8件

それ以外(レビュー等)の発表 0件

そのうち主なもの

論文発表

6. Takanashi J, Osaka H, Saitsu H, Sasaki M, Mori H, Shibayama H, Tanaka M, Nomura Y, Terao Y, Matsumoto N, Barkovich AJ. Different patterns of hypomyelination and cerebellar abnormality between *POLR3A* and *POLR3B* mutations. *Brain Dev* in press.

7. Takanashi J, Nitta N, Iwasaki N, Saito S, Tanaka R, Barkovich AJ, Aoki I. Neurochemistry in Shiverer mouse depicted on MR spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* in press.

8. Tada H, Takanashi J. MR spectroscopy in 18q- syndrome suggesting other than hypomyelination. *Brain Dev* in press.

9. Takanashi J, Saito S, Aoki I, Barkovich AJ, Ito Y, Ken Inoue K. Increased *N*-acetylaspartate in model mouse of Pelizaeus-Merzbacher disease. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35; 418-425.

10. Takanashi J, Somazawa F, Maruyama K, Terada H, Xu D, A.

Barkovich AJ. Metabolic changes in early childhood using LCMoel with corrected water scaling method. *J Magn Reson Imaging* 2012; 35: 174-180

11. Takanashi J, Hayashi M, Yuasa S, Satoh H, Terada H. Hypomyelination in I-cell disease; MRI, MR spectroscopy and neuropathological correlation. *Brain Dev* 2012; 34: 780-783.

学会発表

- 1 Takanashi J. H-MRS in neurodegeneration. 12<sup>th</sup> International Child Neurology Congress 2012.5.27-6.1.

- 8 知的所有権の取得状況 なし。

## 先天性大脳白質形成不全症のゲノム診断

研究分担者 山本 俊至 東京女子医科大学統合医科学研究所・准教授

### 研究要旨

新規の大脳白質形成不全症患者の遺伝子解析により、2例の患者において診断が得られた。進行性の経過を辿る成人女性例において、*GJC2* の新規ミスセンス変異がホモ接合で認められた。母親はこの変異のヘテロ接合であり保因者と考えられたが、父親はすでに他界しており、解析できなかった。*GJC2* の位置する1番染色体領域のヘテロ欠失や loss-of-heterozygosity (LOH) の可能性を疑い、SNP タイピングを搭載した comparative genomic hybridization (CGH) 解析を行ったところ、*GJC2* 領域の欠失はないものの、LOH を示していた。さらに1番染色体のハプロタイプは全て母親由来であることから、母親由来の片親性ダイソミー(uniparental disomy; UPD)により、LOH を生じたものと考えられた。本症例において、非常に稀な *GJC2* ホモ接合変異を認め、発症機構として UPD が関わっていることを明らかにした。常染色体劣性遺伝性によって発症する遺伝子のホモ接合が認められた場合には、CGH+SNP 解析を行うことが有用であることが示唆された。一方、典型的な PMD 症例と考えられた男児において、*PLP1*、*GJC2*、*POLR3A*、*POLR3B* の解析を行ったが、これらの既知の遺伝子に変異は認められなかった。一方で、近年、基底核および小脳萎縮を伴う髄鞘形成不全症 (H-ABC) の原因遺伝子として同定された *TUBB4A* を解析したところ、新規ミスセンス変異が同定された。*TUBB4A* の変異は、H-ABC の特徴を呈さない典型的な PMD 症例においても候補遺伝子として考慮する必要があると思われた。

### 1 研究目的

先天性大脳白質形成不全症においては、主な責任遺伝子である *PLP1* 以外にも関連遺伝子が複数関わっており、診断を進めていくにあたって戦略的な対応が必要となる。我々はこれまでに診断の進め方に関するフローチャートを作成してきたが、それに則り新規例の解析を行うとともに、新たな責任遺伝子の解析も行った。

### 2 研究方法

#### (1) 実施計画と経過

臨床的に先天性大脳白質形成不全症を疑わせる臨床症状や頭部 MRI 所見を示す患者2例（男性1例、女性1例）を対象とした。最初に最も変異頻度の高い *PLP1* の解析を行った。重複、点変異ともに認められなければ次に頻度の高い *GJC2* の

解析を行った。

1例目は現在21歳の女性。健康な兄がいる。両親は血族婚ではない。父親は糖尿病合併症のため54歳で死亡。患者は出生2ヵ月時に水平性眼振に気付かれた。1歳5ヵ月時に自力で座位をとることができ、支え立ちが可能であったが、独立はできなかった。その当時の診察によれば発達指数は78であり、境界領域と診断されていた。神経学的所見として深部腱反射の減弱が認められていた。患者の運動機能はその後徐々に退行し始め、13歳で自力で食事ができなくなり、寝たきりとなった。14歳時に胃食道逆流が診断され、胃瘻が造設された。顔をひきつけ、全身の筋緊張が亢進するてんかん発作が認められたが、抗てんかん剤で抑制された。第二次性徴や歯牙の萌出に遅



れはなかった。白内障も認められていない。20歳時に行われた頭部MRIではT2-撮像で深部白質の高信号と全体的な萎縮が認められ、hypomyelinationと診断された。ABRではIII波以降の消失が認められた。現在、寝返りができない状況で重度の運動機能障害を示しており、錐体路徴候と四肢の拘縮を示し、痙性四肢麻痺と診断された。この患者は発語は不能であるが簡単な会話は理解でき、簡単なジョークに対して笑うことがある。

2例目は現在4歳の男性。出生後早期よりの眼振、四肢麻痺、発達の遅れなどが認められ、頭部MRI画像で典型的なhypomyelinationの所見が認められた。ABRではIII波以降の消失が認められた。臨床症状、経過とも典型的なPelizaeus-Merzbacher病と考えられた。

## (2) 倫理面への配慮

本研究においては患者情報に基づく遺伝子解析を行うことから、個人情報に配慮する必要があるため、東京女子医科大学の倫理委員会の承認を得て、書面に基づく説明と書面によるインフォームド・コンセントを得て実施した。収集される検体には、二重連結可能匿名化番号を付与し、匿名化番号、同意書のコピー1部、および患者情報票のコピー1部について個人情報管理者が管理した。個人情報と匿名化後のIDを連結する対応表はコンピュータの外部記憶装置に保存し、鍵のかかるキャビネット内で個人情報管理者が保管した。試料等に関するデータベースをコンピュータを用いて取り扱う場合は、インターネットや他のコンピュータから切り離れた状態で取り扱った。

## 3 研究結果

1例目の患者においては*PLP1*の重複や塩基置換は認められなかったため、*GJC2*

の全翻訳領域を解析したところ、新規ミスセンス変異がホモ接合で認められた。母親はこの変異のヘテロ接合であり保因者と考えられたが、父親はすでに他界しており、解析できなかった。*GJC2*の位置する1番染色体領域のヘテロ欠失やloss-of-heterozygosity (LOH)の可能性を疑い、SNPタイピングを搭載したcomparative genomic hybridization (CGH)解析を行ったところ、*GJC2*領域の欠失はないものの、LOHを示していた。さらに1番染色体のハプロタイプは全て母親由来であることから、母親由来の片親性ダイソミー (uniparental disomy; UPD)により、LOHを生じたものと考えられた。

2例目の患者においても*PLP1*の異常が認められなかった。フローチャートに従い、他の候補遺伝子である*GJC2*、*POLR3A*、*POLR3B*などの解析を行ったが変異を認めることができなかった。そこで2013年に初めて報告のあった*TUBB4A*を解析したところ、新規ミスセンス変異が同定された。

## 4 考察

今回女児例において、非常に稀な*GJC2*ホモ接合変異を認め、発症機構としてUPDが関わっていることを明らかにした。常染色体劣性遺伝性によって発症する遺伝子のホモ接合が認められた場合には、CGH+SNP解析を行うことが有用であることが示唆された。

また、新たに見つかった責任遺伝子である*TUBB4A*は比較的高い頻度で疾患に関連している可能性が示唆された。

## 5 結論

*GJC2*の片親由来新規変異がUPDのためにホモ接合となって発症した先天性大脳白質形成不全症の女性例を経験した。UPDの診断にはCGH+SNP解析が有用

であり、常染色体劣性遺伝性によって発症する遺伝子のホモ接合が認められた場合には、CGH+SNP解析を行うことが推奨される。

また、2013年に報告された新規候補遺伝子 *TUBB4A* は比較的高い頻度で疾患発症に関わっている可能性があり、今後のさらなる調査が必要である。

## 6 研究発表

1. Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
2. Shimojima K, Inoue T, Imai Y, Arai Y, Komoike Y, Sugawara M, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Kanno H, Hirose S, Yamamoto T: Reduced PLP1 expression in induced pluripotent stem cells derived from a Pelizaeus-Merzbacher disease patient with a partial PLP1 duplication. *J Hum Genet* 57: 580-586, 2012.
3. Shimojima K, Mano T, Kashiwagi M, Tanabe T, Sugawara M, Okamoto N, Arai H, Yamamoto T: Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a duplication-inverted triplication-duplication in chromosomal segments including the PLP1 region. *Eur J Med Genet* 55: 400-403, 2012.
4. Shimada S, Miya K, Oda N, Watanabe Y, Kumada T, Sugawara M, Shimojima K, Yamamoto T: An unmasked mutation of EIF2B2 due to submicroscopic deletion of 14q24.3 in a patient with vanishing white matter disease. *Am J Med Genet A* 158A: 1771-1777, 2012.

5. Yamamoto T, Shimada S, Shimojima K: Fiber-FISH analyses as a diagnostic application for orientation of the microduplications. *World J Med Genet* 3; 5-8, 2013.
6. Shimojima K, Tanaka R, Shimada S, Sangu N, Nakayama J, Iwasaki N, Yamamoto T: A novel homozygous mutation of GJC2 derived from maternal uniparental disomy in a female patient with Pelizaeus-Merzbacher-like disease. *J Neurol Sci* 330: 123-126, 2013.
7. Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T: Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination. *Brain Dev* (in press)

## 7 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

# 資料

## 資料1

平成25年度  
厚生労働省難治性疾患等克服研究事業

先天性大脳白質形成不全症の診断と治療を目指した研究  
班会議

平成25年2月11日  
13～16時

東京女子医科大学  
心臓血圧研究所 会議室  
〒162-0054  
東京都新宿区河田町8-1

井上 健  
小坂 仁  
黒澤健司  
出口貴美子  
山本俊至  
高梨潤一