

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）  
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究班  
分担研究報告書

## 遺伝性神経筋疾患におけるゲノム解析研究

研究分担者 齋藤加代子<sup>1)2)</sup>

研究協力者 北村裕梨<sup>1)2)</sup>, 近藤恵里<sup>1)</sup>, 青木亮子<sup>1)</sup> 浦野真理<sup>1)</sup>

- 1) 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター  
2) 東京女子医科大学大学院先端生命医科学系専攻遺伝子医学分野

### 研究要旨

Genetic heterogeneity が存在する遺伝性神経筋疾患に対して、次世代シーケンサー (SOLiD, Ion Torrent ; ABI 社) を用いたターゲット遺伝子群の網羅的な解析により、従来の遺伝子解析にて原因遺伝子が未確定の症例 31

これらのターゲット遺伝子の網羅的解析にて遺伝子変

### A. 研究目的

先天性ミオパチー、先天性筋ジストロフィーなど、Genetic heterogeneity が存在する遺伝性神経筋疾患に対して、次世代シーケンサーを用いたターゲット遺伝子群の迅速かつ網羅的な解析により、効果的に原因遺伝子を同定し、確定診断を実現する。

### B. 研究方法

対象)

従来の遺伝子解析検査にて原因遺伝子が未確定、あるいは候補病型が多数のため解析に時間を要し、確定診断が滞っている症例、計 31 症例。

(先天性ミオパチー ; 7 例、SMA ; 6 例、FCMD ; 5 例、CMD ; 5 例、メロシン欠損症 2 例、BMD/LGMD ; 5 例、Pena Shokeir 症候群 ; 1 例)

方法)

次世代シーケンサー (ABI 社 ; SOLiD) によるターゲット遺伝子 (筋ジストロフィー関連 : 4 種類、先天性筋ジストロフィー : 10 種類、肢帯型筋ジストロフィー関連 : 10 種類、脊髄性筋萎縮症 : 1 種類、先天性ミオパチー関連 : 17 種類) 計 42 種類、さらにこ

異が検出されなかった症例のうち、floppy infant の臨床症状を示す 8 例において、新たに 15 種類の floppy infant を呈する遺伝子群 (筋ジストロフィー : 1 種類、先天性筋ジストロフィー 関連 : 5 種類、先天性ミオパチー関連 : 4 種類、脊髄性筋萎縮症関連 : 2 種類、先天性筋無力症 : 2 種類、CMT : 1 種類) について、次世代シーケンサー (ABI 社 ; Ion Torrent) を用いて網羅的解析を行った。

### C. 研究結果

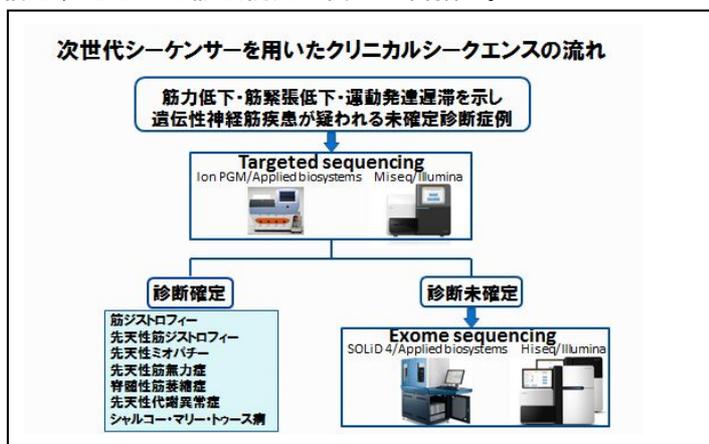
case	age	sex	clinical diagnosis	sequence results			genetic diagnosis
				gene	mutation	mutation	
1	0y9m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	c.647+2084G>T	(SVA)	FCMD
3	3y0m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	p.R47X	(SVA)	FCMD
5	6y6m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	p.H172R	(SVA)	FCMD
6	4y7m	F	メロシン欠損症	<i>LAMA2</i>	p.R1350X	p.R1350X (homo)	MDC1A
7	13y7m	M	メロシン欠損症	<i>LAMA2</i>	p.R1549X		MDC1A
12	16y11m	F	CMD	<i>POMT2</i>	p.Y141S	p.L187F	LGMD2N (MDDGC2)
13	2y9m	M	BMD/LGMD	<i>POMT2</i>	p.D380A	p.H416Q	LGMD
14	5y5m	M	BMD+FCMD?	<i>FKTN</i>	R47X, splicing mosaic	mRNAで124bp挿入 + BMD exon45-53欠失	BMD+FCMD
15	9y9m	M	BMD/LGMD	<i>DMD</i>	p.R3345X, somatic mosaic		DMD somatic mosaic
18	2y1m	M	ネマリンミオパチー	<i>RYR1</i>	p.1573 P>L	p.2529 D>N	*NEM by <i>RYR1</i> mutations
19	13y0m	M	ネマリンミオパチー	<i>NEB</i>	p.D497R fs X2	?	NEM2
21	2y6m	M	先天性ミオパチー	<i>CCDC78</i>	p.R103X		CNM4
29	1y6m	M	SMA-like	<i>ISPD</i>	p.L407S	?	MDDG A7
31	3y1m	M	Pena Shokeir 症候群	<i>RAPSN</i>	p.A246V	p.I335S	CMS

SOLiD により 11 例 (*FKTN* ; 3 例、*DMD* ; 1 例、*LAMA2* ; 2 例、*POMT2* ; 2 例、*RYR1* ; 1 例、*DMD+FKTN* ; 1 例、

NEB ; 1 例)、Ion Torrent により 3 例 (RAPSN ; 1 例、CCDC78 ; 1 例、ISPD ; 1 例) 合計 14 例において変異を同定し、臨床情報と併せて診断を確定、あるいはインシリコ解析により原因遺伝子である可能性が高いと判断した。

#### D. 考察

臨床的・病理学的に共通性を有する遺伝性神経筋疾患において、次世代シーケンサーを用いたターゲット遺伝子解析により、迅速に遺伝子変異同定が可能になってきた。今回の解析で原因遺伝子が同定されなかった症例においては、エクソーム解析の検討、候補遺伝子群の新たなプラットフォームの構築も検討し、さらなる診断能力の向上を目指す。



#### E. 結論

Genetic heterogeneity を示す遺伝性神経筋疾患において、従来の遺伝子解析にて原因遺伝子が未確定の症例 31 例中 14 例 (45%) で、次世代シーケンサーを用いた原因遺伝子の網羅的解析を行うことにより、迅速かつ効率的に原因遺伝子を確定できた。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kondo E, Nishimura T, Kosho T, Inaba Y, Matsushashi S, Ishida T, Baba A, Koike K, Nishino I, Nonaka I, Furukawa T, Saito K. Recessive RYR1 Mutations in a Patient With Severe Congenital

Nemaline Myopathy With Ophthalmoplegia Identified Through Massively Parallel Sequencing. Am J Med Genet A 2012;158(A): 772-778.

#### H. 知的所有権の取得状況 (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