

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））  
総括研究報告書

「先天性GPI欠損症の疾患概念の確立と診断基準の制定：  
発達障害・てんかんを主症状とする新しい疾患」に関する研究

研究代表者 村上良子 大阪大学微生物病研究所 准教授

### 研究要旨

原因不明の精神発達障害や難治性てんかん患者の中から先天性 GPI 欠損症 (Inherited GPI Deficiency, IGD) がみついている。診断が確定すればビタミン B<sub>6</sub> (ピリドキシン) による治療が奏効する可能性があるため、早期の的確な診断が重要である。末梢血のフローサイトメトリー検査でのスクリーニングと GPI 生合成に関連する遺伝子のターゲットシーケンスや全エクソーム解析による IGD の診断システムを確立し、診療ガイドラインを完成させて日本小児神経学会のホームページに公開している。疾患ホームページの日本語版、英語版が完成したので、国内外で疾患の周知に努めたいと考えている。さらに REDCap を使った疾患データベースが完成し、さらなる症例の集積と患者情報の収集を進め、より鋭敏な疾患マーカーを見つけて的確な診断に役立てることを目指している。

### 研究分担者

井上徳光 地方独立行政法人大阪府立病院機構  
大阪府立成人病センター研究所腫瘍免疫学部門  
長

高橋幸利 独立行政法人国立病院機構静岡てん  
かん・神経医療センター 副院長

### A．研究目的

GPI (Glycosylphosphatidylinositol) アンカーは 150 種以上の蛋白質を細胞膜に繋ぐ糖脂質でその生合成と修飾に 27 個の遺伝子が必要である。これらの遺伝子に変異があると重要な機能を担う種々の GPI アンカー型蛋白質 (GPI-AP) の細胞膜上の発現が低下、あるいはアンカーの構造が異常となり、精神発達障害やてんかん、時に高アルカリホスファターゼ (ALP) 血症を来す。また重症例では脳の形成異常、聴覚障害等の神経症状、顔貌異常、四肢、心臓、腎・尿路系の奇形、鎖肛・ヒルシュスプルング病等の腸管奇形、

魚鱗癬等広範な症状を示す。本研究班ではまず、このように新しい疾患である先天性 GPI 欠損症 (IGD) の疾患概念を確立し診断基準・診療ガイドラインを作成する。また効率的な診断システムを確立し、診断が確定すれば、匿名化した上で疾患データベースに患者情報を集積して情報を共有し、今後の診断に役立てる。ビタミン B<sub>6</sub> (ピリドキシン) の投与が難治性てんかんに著効する症例があるので早期の的確な診断が重要である

### B．研究方法

#### (1) 患者の診断と患者情報の収集

精神発達障害、てんかんと特徴的な奇形や高 ALP 血症を伴う患者の末梢血を正常コントロール血とともに送付してもらい、フローサイトメトリー検査で顆粒球における GPI アンカー型タンパク質の発現を確認する。CD16b の発現低下が見られれば、IGD の診断は確定する。責任遺伝子同定

の為に末梢血から抽出したゲノムを用いて GPI 関連遺伝子のターゲットエクソームシーケンス、あるいは横浜市立大学の遺伝子解析拠点班と連携して全エクソームシーケンスを行った。さらに患者情報の集積の為に現在大阪大学未来医療開発センターと共同して、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を使ったデータベースの構築を前年度から開始している。

## (2) 診療ガイドライン、疾患ホームページの作成、患者会の設立

国内患者の詳細な観察をもとに昨年度の班会議で診療ガイドラインの草稿を作成したが、それをもとに今年度完成させ、日本小児神経学会のホームページに掲載している。また昨年度日本語版が完成した疾患ホームページに新たに英語版を加えて公開しており、メールで問い合わせてくる海外の研究者や IGD 患者の保護者などに周知を努めている。ホームページには診療ガイドラインを掲載し、今までに明らかになったことを一般向けと医療関係者向けに分けてわかりやすく紹介し、新しい疾患である IGD を特に一般臨床医に広く周知するため正確な情報を発信している。昨年 10 月には第 1 回患者会を開催した。

## (倫理面への配慮)

診断に遺伝子解析を伴うので、大阪大学におけるヒトゲノム倫理委員会に申請し承認されている。遺伝子診断に伴う利益、不利益などにつき書面提示し、患者の保護者に対して説明し同意を得た。また、診断や結果に対して、不安が生じた場合は、遺伝カウンセリングを提供できる体制を整えており、いつでも相談できる旨を併せて説明した。動物実験についても研究機関に計画書を提出し承認されている。

## C. 研究結果

### (1) 患者の診断と患者情報の集積

今年度は国内から 61 例のフローサイトメトリ解析を行い、5 人で CD16 の明らかな低下を認め、IGD と診断した。現在横浜市立大学にて全エクソーム解析を施行中であるが、まだ責任遺伝子が判明していない。また日本の症例を含めた海外との共同研究により世界で初めて PIGG 欠損症を報告した。PIGG 欠損症は早期発症型てんかん性脳症の症例から見ついている。PIGG は GPI アンカーの 2 番目のマンノースにエタノールアミンを付加する酵素であるが、このエタノールアミンがなくても反応が進み、後にこのエタノールアミンが除かれるステップがあるため PIGG ノックアウトの培養細胞では GPI アンカー型タンパク質は細胞表面に正常量、かつ正常の構造で発現することがわかっている。そのため今まで PIGG が担うステップの役割が不明であった。しかし患者が発見されたことで、この遺伝子に変異が起こると重篤な発達異常やけいれんがおこることが明らかになり、神経発達に重要な働きをしていることがわかった。また最近では GPI pathway 以外の遺伝子変異による IGD も見つかっており、他の疾患とオーバーラップする症例も今後見つかると思われる。多くの症例を集積してその特徴を詳細に観察することが重要である。患者情報の集積については大阪大学未来医療開発センターと共同して、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を使ったデータベースが完成し、運用を始めている。現在英語版を作製中で、海外症例も含める予定である。

### (2) 診療ガイドライン、疾患ホームページの作成

診療ガイドラインが完成し、日本小児神経学会のホームページに掲載している。また昨年度日本語版が完成した疾患ホームページに新たに英

語版を加えて公開している。

(<http://igd.biken.osaka-u.ac.jp/>)

#### D . 考察

疾患ホームページを作成したので、そこで多くの臨床医に IGD の診療ガイドラインを示すことにより、多くの原因不明の疾患からスクリーニングにより IGD を抽出することが可能になる。さらには遺伝子解析に至る前にベッドサイドでより正確に診断する為に新規の疾患マーカーを検索する必要がある。リン酸化のないビタミン B<sub>6</sub>(ピリドキシン) の投与がけいれん発作に著効する症例があり、神経発達にも効果がある可能性がある。IGD の神経症状は生後も進行性で早期治療により症状の軽減が期待されるので、早期の的確な診断が重要である。

#### E . 結論

先天性 GPI 欠損症 (IGD) は新しい疾患であるが最近原因不明の運動発達障害や難治性てんかんの症例の中から次々と見つかった。末梢血のフローサイトメトリーでスクリーニングが可能であり、遺伝子解析で変異遺伝子を同定し、機能解析で確認できる系がある。またビタミン B<sub>6</sub>(ピリドキシン) の投与がけいれん発作に著効する症例がある。早期診断・早期治療を実現する為にベッドサイドでの鋭敏な疾患マーカーの検索と、新たな治療法の開発が重要である。

#### F . 健康危険情報

特記すべきことなし

#### G . 研究発表

##### 1. 論文発表

- Makrythanasis P, Kato M, Zaki MS, Saitsu H, Nakamura K, Santoni FA, Miyatake S, Nakashima M, Issa MY, Guipponi M, Letourneau A, Logan CV, Roberts N, Parry DA, Johnson CA, Matsumoto N, Hamamy H, Sheridan E, Kinoshita T, Antonarakis SE,

Murakami Y. Pathogenic Variants in PIGG Cause Intellectual Disability with Seizures and Hypotonia. *Am J Hum Genet*. 2016 Apr 7;98(4):615-26

- Nakagawa T, Taniguchi-Ikeda M<sup>1</sup>, Murakami Y<sup>1</sup>, Nakamura S, Motooka D, Emoto T, Satake W, Nishiyama M, Toyoshima D, Morisada N, Takada S, Tairaku S, Okamoto N, Morioka I, Kurahashi H, Toda T, Kinoshita T, Iijima K. A novel *PIGN* mutation and prenatal diagnosis of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. *Am J Med Genet A*. 2016 Jan;170(1):183-8.<sup>1</sup>Correspondence
- Ilkovski B, Pagnamenta AT, O'Grady GL, Kinoshita T, Howard MF, Lek M, Thomas B, Turner A, Christodoulou J, Sillence D, Knight SJ, Popitsch N, Keays DA, Anzilotti C, Goriely A, Waddell LB, Brilot F, North KN, Kanzawa N, Macarthur DG, Taylor JC, Kini U, Murakami Y, Clarke NF. Mutations in PIGY: expanding the phenotype of inherited glycosylphosphatidylinositol deficiencies. *Hum Mol Genet*. 2015 Nov 1;24(21):6146-59.
- Hirata T, Fujita M, Nakamura S, Gotoh K, Motooka D, Murakami Y, Maeda Y, Kinoshita T. Post-Golgi anterograde transport requires GARP-dependent endosome-to-TGN retrograde transport. *Mol Biol Cell*. 2015 Sep 1;26(17):3071-84.
- Bosch DG, Boonstra FN, Kinoshita T, Jhangiani S, de Ligt J, Cremers FP, Lupski JR, Murakami Y, de Vries BB. Cerebral visual impairment and intellectual disability caused by PGAP1 variants. *Eur J Hum Genet*. 2015 Dec;23(12):1689-93.
- Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kanno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N,

Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita T, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in PIGL in a patient with Mabry syndrome. Am J Med Genet A. 2015 Apr;167A(4):777-85.

## 2. 学会発表

- 第43回日本小児神経学会東海地方会  
特別講演 2015年8月1日  
「先天性 GPI アンカー欠損症－精神運動発達遅滞とてんかんを主症状とする新しい疾患－」
- FASEB Summer Research Conference  
“Protein Lipidation, Signaling, and Membrane Domains” 「Inherited GPI deficiency」 Saxtons River, Vermont, USA, July 21, 2015
- 第57回日本小児神経学会学術集会  
特別企画 2015年5月29日  
「先天性 GPI 欠損症：てんかん・知的障害を主症状とする新しい疾患」
- 第118回日本小児科学会学術集会 教育講演 2015年4月17日  
「先天性 GPI 欠損症：知的障害・てんかんを呈する新しい疾患」
- 第52回日本補体学会学術集会 優秀賞  
2015年8月16年間延べ121回にわたる反復性無菌性髄膜炎にPIGT変異によるPNHを合併しEculizumabが著効した一例 その2 分子メカニズム

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当無し
3. その他  
該当無し