

GNE ミオパチー患者の CNV 解析

研究分担者:西野一三¹⁾²⁾

共同研究者:ZHU Wenhua¹⁾

- 1) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部
- 2) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター メディカル・ゲノムセンター ゲノム診療開発部

研究要旨

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー) は GNE 遺伝子の両アレル性変異を原因とする。大半の患者はミスセンス変異を原因とする。これまでに臨床病理学的に GNE ミオパチーが強く疑われるにも拘わらず、片側アレルにしか変異が見いだされない症例が一定数存在する。そこでこれらの例について診断を確定させるべく、次世代シーケンサーを用いた copy number variation (CNV)解析を行い、対側アレルの欠失や重複の有無を検討した。その結果、11 家系 13 例で 1 つ以上のエクソンを含む欠失または重複を認めた。特にエクソン 2 が欠失している例が 7 家系 8 例を占めていた。凍結筋が保存されていた 6 例での検討では、全例で、欠失側アレルの GNE 遺伝子発現を認めなかった。エクソン 2 は、2 つの主要な GNE トランスクリプトのうち短い方の hGNE1 の第 1 エクソンであるが、長い方の hGNE2 には含まれない。このエクソン 2 は GNE の短いトランスクリプト hGNE1 の第 1 エクソンであり、アミノ酸をコードしてないが、この部分の配列が hGNE1 の発現に必須であることを強く示唆している。また片側アレルに CNV を有していた日本人患者 8 家系のうち、6 家系が対側アレルに D207V 変異を有していた。シアル酸補充療法の承認が現実的なものとなる可能性が高まっている現在、このような CNV 変異を見逃さず、正確な診断を下すことが極めて重要と考えられる。

A: 研究目的

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (GNE ミオパチー) は GNE 遺伝子の両アレル性変異を原因とする。大半の患者はミスセンス変異を原因とする。これまでに臨床病理学的に GNE ミオパチー

ーが強く疑われるにも拘わらず、片側アレルにしか変異が見いだされない症例が一定数存在する事が明らかとなってきた。これらの患者について対側アレルに大欠失や重複などの copy number variation (CNV)解析が存在する可能

性を検討することを目的とした。

B: 研究方法

患者血液から抽出した DNA を用い、GNE 遺伝子各エクソン領域をカバーするようにプライマーを設計し、Ion PGM を用いて次世代シーケンス解析を行った。得られたデータに対して、depth of coverage 解析を行った。欠失または重複が見いだされた例については、別途プライマーを設計し、断端部のシーケンス解析を行った。また、CNV 変異が認められた例で凍結骨格筋が保存されている例については、mRNA の発現を RT-PCR によって確認した。

(倫理面への配慮)

本研究で用いる全ての検体ならびに臨床情報は全例採取時に国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認された「診断と検体の研究使用に関する承諾書」をもとにインフォームド・コンセントを得ており、「神経・筋疾患の病態解明と治療法開発」を目的とした研究への使用が許可されている。

C: 研究結果

11 家系 13 例で 1 つ以上のエクソンを含む欠失または重複を認めた。特にエクソン 2 が欠失している例が 7 家系 8 例を占めていた。凍結筋が保存されていた 6 例での RT-PCR 解析からは、何れの例でも欠失側アレルの GNE 遺伝子発現を認めなかった。また片側アレルに CNV を有していた日本人患者 8 家系のうち、6 家系が対側アレルに D207V 変異を有していた。

D: 考察

GNE には 2 つの主要トランスクリプトがある。短い方の hGNE1 はエクソン 2 が第 1 エクソンで

あるが、開始コドンはエクソン 3 に存在する。従って、エクソン 2 はアミノ酸をコードしていない。一方、長い方の hGNE2 はエクソン 1 に開始コドンがあるが、エクソン 2 は読み飛ばされる。これまでにエクソン 2 変異を原因とする GNE ミオパチが一例も見いだされていないことも合わせて、エクソン 2 は GNE 遺伝子にとって重要ではないとの考え方もあった。

今回の検討で 11 家系中 7 家系でエクソン 2 欠失を認めた。更に、凍結筋が入手可能であった 6 例全例で欠失側アレルの GNE 遺伝子発現を認めなかった。このことは、このエクソン 2 の配列が hGNE1 の発現に必須であることを強く示唆している。

D207V 変異はホモ接合で変異を有していても GNE ミオパチを発症しない人が存在する事が知られている弱い変異である。このような弱い変異が null 変異である病原性の強い CNV 変異と組み合わせられているという事実は、GNE ミオパチ発症には強すぎず、弱すぎない適度な病原性強度となる組み合わせの変異が必要であることを強く示唆している。シアル酸補充療法の承認が現実的なものとなる可能性が高まっている現在、このような CNV 変異を見逃さず、正確な診断を下すことが極めて重要と考えられる。

E: 結論

一部の GNE ミオパチ患者は CNV 変異を片側アレルに有している。一見ヘテロ接合型に見えても対側アレルに CNV 変異を有していることがあり、注意が必要である。

F: 健康危険情報

なし

G: 研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1: 論文発表

Suzuki N, Mori-Yoshimura M,
Yamashita S, Nakano S, Murata KY,
Inamori Y, Matsui N, Kimura E,
Kusaka H, Kondo T, Higuchi I, Kaji R,
Tateyama M, Izumi R, Ono H, Kato M,
Warita H, Takahashi T, Nishino I, Aoki
M: Multicenter questionnaire survey
for sporadic inclusion body myositis in
Japan. Orphanet J Rare Dis. 11(1):
146, Nov, 2016 PMID: 27821140 DOI
10.1186/s13023-016-0524-x

Preethish-Kumar V, Pogoryelova O,
Polavarapu K, Gayathri N, Seená V,
Hudson J, Nishino I, Prasad C,
Lochmuller H, Nalini A: Beevor's sign:
a potential clinical marker for GNE
myopathy. Eur J Neurol. 23(8): e46-8,
Aug, 2016
doi: 10.1111/ene.13041. PMID: 7431025

2: 学会発表

なし

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