

神経有棘赤血球症の診療の手引の作成に関する研究

研究分担者 佐野 輝 鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 精神機能病学分野・教授

研究要旨

神経有棘赤血球症とは神経症候と有棘赤血球症を併せ持つ病態に対して包括的に使用される用語である。神経有棘赤血球症は臨床的な神経症候において舞踏運動などのいわゆる movement disorder を呈する中核群と呈さない2群に大別される。現在まで本邦には神経有棘赤血球症の中核群の診療に関するガイドライン等は存在しない。今回、中核群の中で頻度の高い有棘赤血球舞踏病 (ChAc) と McLeod 症候群 (MLS) の分子診断法について検討し、日本人に頻度が高いと言われている ChAc の日本における遺伝子変異分布を解析し、両疾患に対する診療の手引きの作成を行った。今後は今回作成した診療の手引きを通して、正確な診断、治療や介護方針の決定、将来の疫学調査などへの応用が期待される。

A. 研究目的

神経有棘赤血球症とは神経症候と有棘赤血球症を併せ持つ病態に対して包括的に使用される用語である。神経有棘赤血球症は臨床的な神経症候において舞踏運動などのいわゆる movement disorder を呈する中核群と呈さない2群に大別される。中核群の多くは有棘赤血球舞踏病 (chorea-acanthocytosis; ChAc) と McLeod 症候群 (McLeod syndrome; MLS) で占められ、少数例として Huntington disease-like 2 (HDL2) やパントテン酸キナーゼ関連神経変性 (pantothenate kinase associated neurodegeneration; PKAN) もこの群に含まれる。分子遺伝学的研究の進歩により、これらの疾患の病因遺伝子がいずれも明らかにされ、遺伝子診断により確定診断が可能となっているが、現在まで本邦には神経有棘赤血球症の中核群の診療に関する手引書等は存在しない。今回、両疾患に対する分子診断法の検討を行い、ChAc の日本人における遺伝子分布解析を行った。また、中核群の中で頻度の高い ChAc と MLS に

関して診療の手引書の作成を行った。

B. 研究方法

有棘赤血球舞踏病が疑われる症例に対し、文書による同意を得た後に血液サンプルの採取を行った。末梢血白血球から gDNA と RNA を抽出し、RNA から cDNA 合成を行い、gDNA と cDNA を遺伝子解析の鋳型とした。それらを用いて直接シーケンシング法による VPS13A 遺伝子の変異解析を行い、直接シーケンシング法では同定できない VPS13A 遺伝子変異の解析に定量的 PCR 法による CNV 解析を行った。赤血球膜分画が入手できた検体に対してはウエスタンブロット法による VPS13A 遺伝子産物である chorein タンパク質の検出解析を行った。

精神神経症候が類似しており、治療や療養方針が共通する項目を含むハンチントン病の療養手帳の項目を参照にし、診療の手引の作成を行った。ハンチントン病療養手帳の項目から必要項目を抜粋し、共同研究者との間で分担を決め、それぞれの項目について記載し、ハンチントン病の診療ガイドライン作成グループ、NIBA

の診療ガイドライン作成グループとも協議し策定した。

(倫理面への配慮)

本研究は鹿児島大学大学院医歯学総合研究科遺伝子研究倫理委員会および鹿児島大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

日本人 ChAc 疑い患者に対して変異の分布を解析したところ、新たに 13 例の日本人 ChAc 症例の分子的診断を行った。前回の報告と合わせて 33 例について変異アレルの頻度を表に示す。VPS13A 遺伝子 c.4411C>T 変異アレルや exon60_61 欠失変異アレルは比較的頻度高く、それぞれ 34.8% および 27.3% であった。その他の変異は 19 種類におよび、1.5% もしくは 3% の頻度であった。

変異	頻度
Exon 37 4411C>T R1471X	23 (34.8%)
Exon 60_61 EX60_EX61del	18 (27.3%)
Exon 9 622C>T R208X	2 (3.0%)
Intron 26 2324+1G>T splice-site	2 (3.0%)
Exon 34 3889C>T R1297X	2 (3.0%)
Exon 39 4775 A>G_E1572G	2 (3.0%)
Exon 55 7675_7676del fs	2 (3.0%)
Exon 60 8325G>A splice-site	2 (3.0%)
Exon 3 EX3del	1 (1.5%)
Exon 12 928C>T Q310X	1 (1.5%)
Exon 15 1287del 429GfsX29	1 (1.5%)
Exon 15 1305G>A W435X	1 (1.5%)
Intron 20 2037+2T>G splice-site	1 (1.5%)
Exon 24_45 EX24_EX45dup	1 (1.5%)
Exon 25 2593C>T R865X	1 (1.5%)
Exon 32 3418_3419del 1140TfsX5	1 (1.5%)
Exon 35 3970_3973del 1324SfsX3	1 (1.5%)
Exon 53 7411C>T Q2471X	1 (1.5%)
Exon 57 8035G>A splice-site	1 (1.5%)
Exon 65 8848_8860del 2950NfsX13	1 (1.5%)
Exon 72 9403C>T R3134X	1 (1.5%)
計	66

神経有棘赤血球症の診療の手引については、合計 11 の大項目と、それぞれの項目について計 46 の小項目からなる神経有棘赤血球症の診療の手引を作成した。

D. 考察

33 名の日本人 ChAc 疑い患者に対する総合的

分子診断の結果、全例ホモ接合性もしくは複合ヘテロ接合性に変異を有していた。4411C>T 変異アレルや exon60_61 欠失変異は比較的頻度高く、あわせて約 6 割を占めるが、それら以外の 4 割ほどの変異は VPS13A 遺伝子の翻訳領域に広く分布し、変異の種類も多岐にわたっていた。サンガー法による配列解析を VPS13A 遺伝子全エクソンに行っても変異を同定できないことがあり、その場合は CNV 解析や chorein 検出解析を加える必要があった。このように ChAc の分子診断の際にはシーケンシング法に CNV 解析や chorein 検出解析を加えた総合的な解析が必要である。

ChAc や MLS は神経有棘赤血球症の中核群であり、原因遺伝子も同定されている。しかし、両疾患とも希少疾患でいてエビデンスは未だに乏しいの現状である。このため、エビデンスレベルの高いガイドラインの作成には至らず、現在までの知見に基づく診療の手引の作成にとどまっている。今後はさらなるエビデンスの蓄積とともに、より精度の高いガイドライン作成が望まれる。

E. 結論

神経有棘赤血球症の中核群である ChAc と MLS に関する診療の手引を作成した。今後は本手引書をもとに更なる疫学調査等を行うとともに、両疾患について臨床的および基礎医学的な病態生理を含めたエビデンスを蓄積する必要がある。

F. 健康危険情報

無

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

1. Benninger F, Afawi Z, Korczyn AD, Oliver KL, Pendziwiat M, Nakamura M, Sano A, Helbig

- I, Berkovic SF, Blatt I: Seizures as presenting and prominent symptom in 6Chorea-Acanthocytosis with c.2343del VPS13A gene mutation. *Epilepsia*, 57: 549-556, 2016
2. Sakimoto H, Nakamura M, Nagata O, Yokoyama I, Sano A: Phenotypic abnormalities in a chorea-acanthocytosis mouse model are modulated by strain background. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 472: 118-124, 2016
 3. Sasaki N, Nakamura M, Kodama A, Urata Y, Shiokawa N, Hayashi T, Sano A: Chorein interacts with α -tubulin and HDAC6, and overexpression preserves cell viability during nutrient deprivation in HEK293 cells. *FASEB J.*, 30: 3726-3732, 2016
 4. Narumi S, Natori T, Miyazawa H, Kato T, Yonezawa H, Nishino I, Nakamura M, Sano A, Terayama Y: A case of McLeod syndrome with novel genetic mutation. *Neurology and Clinical Neuroscience*, 4: 115-117, 2016
 5. 吉田健二, 森松暁史, 飯國洋一郎, 白田明子, 中村雅之, 佐野輝, 山根清美. Chorea-acanthocytosis の 1 例, *運動障害*, 24; 7-12, 2014
 6. 中村雅之、佐野輝: 神経症候群(第2版)-その他の神経疾患を含めて- II 章 III 変性疾患 錐体外路系疾患 不随意運動を主とする疾患 舞蹈運動症候群 「有棘赤血球舞蹈病(Chorea-acanthocytosis)」, 別冊日本臨床新領域別症候群シリーズ No.27、173-177、2014
2. Hitoshi Sakimoto, Omi Nagata, Masayuki Nakamura and Akira Sano: Modifiers for symptoms of chorea-acanthocytosis-Effect of genetic background on ChAc model mouse- 第 36 回生物学的精神医学会 2014 (奈良)
 3. 佐々木 なつき, 崎元 仁志, 横塚 紗永子, 濱村 尚子, 福田 恭哉, 石塚 貴周, 春日井 基文, 中村 雅之, 溝淵 雅広, 佐野輝. 有棘赤血球舞蹈病の一卵性双生姉妹例の臨床表現型解析, 第 37 回日本生物学的精神医学会, 2015
 4. Nakamura M, Sasaki N, Kodama A, Shiokawa N, Sano A. Chorein /HDAC6 interaction confers resistance to nutrient deprivation in chorein-overexpressing HEK293 cells, *Neuroscience 2015 Chicago USA*, 2015
 5. Sakimoto H, Nagata O, Yokotsuka S, Arai K, Nakamura M, Sano A. Effect of genetic background on the phenotype of chorea-acanthocytosis model mouse, *Neuroscience 2015 Chicago USA*, 2015
 6. Nagata O, Sakimoto H, Yokotsuka S, Arai K, Nakamura M, Sano A. Behavioral and sperm motility analyses of male infertility in Chorea-acanthocytosis model mouse, *Neuroscience 2015 Chicago USA*, 2015

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

2. 学会発表

1. Natsuki Sasaki, Masayuki Nakamura, Nari Shiokawa, Akiko Kodama, Akira Sano: Chorein interacts with α -tubulin and HDAC6, and its overexpression preserves cell viability from nutrient starvation. 第 57 回日本神経化学会 2014 (奈良)